



الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية الزراعة
قسم التقانات الحيوية

تأثير الفريسة في بعض الخصائص الحياتية للمفترس
Hippodamia variegata وتحديد درجة القرابة الوراثية لبعض طرزه

Effect of prey in some biological characteristics of predator *Hippodamia variegata* and determine genetic similarity for some of its biotypes

رسالة علمية أعدت لنيل درجة الماجستير في الهندسة الزراعية "قسم التقانات الحيوية"

إعداد

علاء رمضان محمد

الإشراف

الدكتور عبد النبي بشير

المشرف الرئيسي

قسم وقاية النبات

كلية الزراعة - جامعة دمشق

الدكتورة سلام لاوند

المشرف المشارك

قسم المحاصيل الحقلية

كلية الزراعة - جامعة دمشق

القبول

عنوان الرسالة: "تأثير الفريسة في بعض الخصائص الحياتية للمفترس *Hippodamia variegata* وتحديد درجة القرابة الوراثية لبعض طرزه"

الدرجة العلمية: ماجستير في الهندسة الزراعية / تقانات حيوية

اسم المرشح: علاء رمضان محمد

نُوقشت هذه الرسالة في الجلسة العلنية في تمام الساعة العاشرة صباحاً من يوم الخميس الواقع في

11-11-2021 أمام لجنة الحكم المؤلفة من السادة الأساتذة:

الأستاذ الدكتور عبد النبي بشير		عضواً مشرفاً
الأستاذ الدكتور هشام الرز		عضواً
الدكتورة عايدة جلول		عضواً

تصريح

أصرح بأن العمل المُقدم في هذه الرسالة تحت عنوان:

"تأثير الفريسة في بعض الخصائص الحياتية للمفترس *Hippodamia variegata* وتحديد درجة

القرباة الوراثية لبعض طرزه"

لم يسبق أن قُبل للحصول على شهادة، ولا هو مُقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المُرشح

علاء رمضان محمد

DECLARATION

I hereby declared that, this work:

**Effect of prey in some biological characteristics of predator
Hippodamia variegata and determine genetic similarity for some of its
biotypes**

has not been used previously or submitted now for any other degree.

Candidate

Alaa Ramadan Mohamad

شهادة

نشهد بأنَّ العمل الموصوف في هذه الرسالة:

"تأثير الفريسة في بعض الخصائص الحياتية للمفترس *Hippodamia variegata* وتحديد درجة

القرباة الوراثية لبعض طرزه"

هو نتيجة بحث علمي قام به المرشح علاء رمضان محمد بإشراف الدكتور عبد النبي بشير الأستاذ في قسم وقاية النبات – كلية الزراعة / جامعة دمشق، والدكتورة سلام لاوند الأستاذ المساعد في قسم المحاصيل الحقلية – كلية الزراعة / جامعة دمشق، وأن أي مرجع ورد في هذه العمل موثق في نص هذه الرسالة.

المشرف المشارك

د. سلام لاوند

المشرف الرئيسي

أ.د. عبد النبي بشير

المرشح

علاء رمضان محمد

We witness that the described work in this thesis:

Effect of prey in some biological characteristics of predator

***Hippodamia variegata* and determine genetic similarity for some of its biotypes**

Is the result of scientific research conducted by the candidate Alaa Ramadan Mohamad, under supervision of Dr. Abdul Nabi Basheer at the department of Protection Plant, Faculty of Agriculture – Damascus University, and Assistant Prof. Dr. Salam Lawand at the department of Field Crops, Faculty of Agriculture – Damascus University. Any other references have been mentioned in this work are documented in the text of the thesis.

Candidate

Alaa mohamad

Principal supervisor

Abdul Nabi Basheer

Co-supervisor

Salam Lawand

شكر وتقدير

لا يسعني في نهاية هذه المرحلة إلا أن أتوجه بخالص معاني الشكر والعرفان بالجميل لكل من مدّ لي يد العون في إكمال وإنجاز هذا العمل كي يرى النور، وأخص بالشكر:

- **المشرفين** على هذا البحث الأستاذ الدكتور **عبد النبي بشير**، والدكتورة **سلام لاوند** الذين قاما بالدور الأكبر في توجيه خطوات البحث، وأمطرا عليّ بوافر خبرتهم وجزيل عونهم.
- **لجنة الحكم** الممثلة بالأستاذ الدكتور **هشام الرز**، والدكتورة **عايدة جلول**، على مراجعة الأطروحة وملاحظاتهم الغنية في تقييم الأطروحة لتظهر بالشكل الأمثل.
- **مركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية** ممثلاً بالأستاذ الدكتور **غسان ابراهيم** - مدير المركز على الدعم الحافز وتوفيره كافة المستلزمات والأجهزة لإتمام هذا البحث على أحسن وجه.
- كل من قدم لي الدعم لإكمال وإتمام هذا العمل، ولم يبخل في أي مساعدة علمية وعملية، وأخص زملائي في مركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية، وأخص منهم الدكتور **همام برهوم** والدكتورة **رشا أسعد** والدكتور **علاء صالح**.
- وفي نهاية هذا الطريق أتقدم بخالص معاني العرفان بالجميل **لأسرتي** التي أحاطتني بوافر المحبة والحنان ولم تبخل عليّ بالدعم المعنوي (**أبي - أُمي - أخوتي - أخواتي**)، وأخص بالذكر زوجتي الكريمة التي كانت وما زالت العون والسند لي في كل الأوقات والظروف، وابنتي (**نايا ويليان**) مما أسهم في تحقيق الهدف من هذا البحث كخطوة أولى في مجال التحصيل للدرجات العلمية العليا.

فهرس المحتويات

المخلص 1

الجزء التمهيدي

المقدمة 3

الإشكالية البحثية 6

تساؤلات البحث 7

فرضيات البحث 8

أهداف البحث 8

أهمية البحث 8

مبررات البحث 9

الفصل الأول: الدراسة المرجعية

1. الدراسة المرجعية 12

1.1. الموقع التصنيفي للمفترس *Hippodamia variegata* (Goeze) 12

2.1. الاسم العلمي الشائع 12

3.1. الأسماء العلمية المرادفة 12

4.1. الأسماء الشائعة 12

5.1. الانتشار الجغرافي 13

6.1. المدى العوائل 14

7.1. الوصف الشكلي لمختلف أطوار المفترس 15

1.7.1. البيضة 15

2.7.1. اليرقة 16

3.7.1. العذراء 17

18.....	4.7.1. الحشرة الكاملة
20.....	8.1. بيولوجيا المفترس
22.....	9.1. الغذاء
23.....	10.1. تأثير نوع الفريسة المستخدمة في التربية في الخصائص الحيوية للمفترس
23.....	1.10.1. تأثير نوع الفريسة في تطور المفترس
24.....	2.10.1. تأثير نوع الفريسة في الخصوبة
24.....	3.10.1. تأثير نوع الفريسة في الكفاءة الافتراضية للمفترس
25.....	11.1. التعددية الشكلية للمفترس <i>H. variegata</i>
27.....	12.1. التوصيف الجزيئي

الفصل الثاني: مواد طرائق العمل

35.....	2. مواد وطرائق العمل
35.....	1.2. إعداد مستعمرات الفريستين المستخدمتين في الدراسة
37.....	2.2. تربية المفترس
38.....	3.2. دراسة مدة تطور المفترس ومعدل بقاء أطواره غير الكاملة عند التربية على الفريستين
41.....	4.2. دراسة مراحل حياة الحشرة الكاملة (الأنثى) وقدرتها التكاثرية عند التربية على الفريستين
41.....	5.2. دراسة نسبة فقس البيض والخصوبة الحقيقية
41.....	6.2. دراسة المقدرة الافتراضية
42.....	1.6.2. دراسة المقدرة الافتراضية للطور اليرقي
42.....	2.6.2. دراسة المقدرة الافتراضية للحشرات الكاملة
43.....	7.2. دراسة التعددية الشكلية للمفترس <i>H. variegata</i>
43.....	8.2. الدراسة الجزيئية
43.....	1.8.2. جمع العينات الحشرية
45.....	2.8.2. استخلاص الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA

- 3.8.2. تقدير كمية ونقاوة الحمض النووي DNA 46
- 4.8.2. تضخيم الحمض النووي الريبى منقوص الأوكسجين DNA 47
- 5.8.2. فصل نواتج تضخيم DNA 49
- 9.2. التحليل الإحصائي 50

الفصل الثالث: النتائج والمناقشة

3. النتائج والمناقشة 52
- 1.3. مدّة تطور المفترس عند التربية على كل من الفريستين 52
- 2.3. معدل البقاء للأطوار غير الكاملة للمفترس عند التربية على الفريستين 53
- 3.3. مراحل حياة الحشرة الكاملة (الأنثى) وقدرتها التكاثرية عند التربية على الفريستين 55
- 4.3. المقدرة الافتراضية 57
- 1.4.3. تأثير العمر اليرقي في المقدرة الافتراضية 57
- 2.4.3. تأثير نوع الفريسة في المقدرة الافتراضية 62
- 1.2.4.3. تأثير نوع الفريسة في المقدرة الافتراضية للأعمار اليرقية 62
- 5.2.4.3. تأثير نوع الفريسة في المقدرة الافتراضية لطور اليرقي الكلي 62
- 6.2.4.3. تأثير نوع الفريسة في المقدرة الافتراضية للحشرات الكاملة للمفترس (الإناث والذكور) 63
- 7.2.4.3. مقارنة المقدرة الافتراضية بين الحشرات الكاملة للمفترس (الإناث والذكور) المرباة على كل نوع من الفرائس 64
- 5.3. التعددية الشكلية للمفترس *H. variegata* 65
- 6.3. شجرة القرابة المورفولوجية والفروقات المظهرية بين عينات المفترس *H. variegata* المجموعة من مناطق الدراسة 67
- 7.3. التوصيف الجزيئي للعينات الحشرية للمفترس *H. variegata* 69
- 1.7.3. استخلاص الحمض النووي DNA للمفترس *H. variegata* 69
- 2.7.3. التعددية الشكلية Polymorphism الناتجة عن تطبيق تقنية SRAP 71

73.....	3.7.3. تحديد درجة القرابة الوراثية بين العينات الحشرية المدروسة
74.....	4.7.3. التحليل العنقودي
76.....	5.7.3. المقارنة بين شجرة القرابة المورفولوجية وشجرة القرابة الوراثية لعينات المفترس المدروسة
78.....	الخاتمة
79.....	الاستنتاجات
80.....	المقترحات والتوصيات
81.....	المراجع
97.....	Abstract

فهرس الجداول

- جدول 1. الموقع التصنيفي للمفترس *Hippodamia variegata* (Goeze) 12
- جدول 2. مقارنة بين مزايا وعيوب بعض التقانات الحيوية الأكثر استخداماً 29
- جدول 3. البيانات الجغرافية لمواقع جمع العينات 44
- جدول 4. التسلسل النيكلوتيدي للبادئات المستخدمة في الدراسة الجزيئية 47
- جدول 5. رموز أزواج البادئات المستخدمة في الدراسة الجزيئية 48
- جدول 6. مكونات تفاعل البلمرة التسلسلي المستخدم في تقنية SRAP 49
- جدول 7. تطور المفترس *H. variegata* عند التربية على نوعين من المَن تحت الظروف المخبرية 53
- جدول 8. مراحل حياة الحشرة الكاملة (الأنثى) ومعدل خصوبتها اليومية والكلية والحقيقية ونسبة فقس البيض الناتج عند التربية على نوعين من المَن مخبرياً 57
- جدول 9. تأثير العمر اليرقي في المقدرة الافتراضية للطور اليرقي 58
- جدول 10. متوسط الفرائس المستهلكة خلال كل عمر يرقي وخلال كامل الطور اليرقي عند التربية على نوعين من الفرائس 59
- جدول 11. تأثير نوع الفريسة في المقدرة الافتراضية لأطوار المفترس المختلفة 64
- جدول 12. مقارنة المقدرة الافتراضية بين إناث وذكور المفترس المرباة على كل نوع من الفرائس 65
- جدول 13. قراءات جهاز المطياف الضوئي عند أطوال موجات 280/260 نانومتر وتحديد تركيز ونقاوة عينات الحمض النووي DNA المستخلصة مقدراً بالميكروغرام/الميكروليتر 70
- جدول 14. رموز أزواج البادئات المستخدمة، عدد الحزم المضخمة، عدد الحزم المتعددة شكلياً، النسبة المئوية للتعددية الشكلية %، قيمة معامل التعددية الشكلية 72
- جدول 15. مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق PDV 74

فهرس الأشكال

- شكل 1. الانتشار الجغرافي للمفترس *H. variegata* في العالم 14
- شكل 2. بيض المفترس *H. variegata* 16
- شكل 3. يرقة المفترس *H. variegata* بالعمر الرابع 17
- شكل 4. عذراء المفترس *H. variegata* 18
- شكل 5. منظر ظهري للمفترس *H. variegata* 19
- شكل 6. منظر بطني للمفترس *H. variegata* 19
- شكل 7. الأعضاء التناسلية الذكرية للمفترس *H. variegata* 20
- شكل 8. تصميم البادئ في تقنية SRAP 30
- شكل 9. زراعة نبات الفول في المزرعة البحثية 36
- شكل 10. زراعة نبات الفول ونبات الملفوف في الأصص 36
- شكل 11. وضع الأصص في غرفة التربية في مخبر بحوث المفترسات 37
- شكل 12. تربية المفترس ضمن صناديق التربية 38
- شكل 13. الأطوار المختلفة للمفترس الناتجة عن التربية 40
- شكل 14. مواقع الدراسة 44
- شكل 15. معدل البقاء للأطوار غير الكاملة للمفترس عند التربية على نوعين من المَنّ مخبرياً 55
- شكل 16. تطور المقدرة الافتراضية خلال كل عمر يرقى مع الزمن عند التربية على نوعين من الفرائس 61
- شكل 17. الأشكال المختلفة للمفترس *H. variegata* في محافظة دمشق - مزارع أبي جرش 66
- شكل 18. الأشكال المختلفة للمفترس *H. vareigata* في مناطق الدراسة 68
- شكل 19. شجرة القرابة المورفولوجية لعينات المفترس *H. vareigata* المجموعة من المناطق المدروسة 69
- شكل 20. هلامة الآغاروز بتركيز 0.8% لتحديد نوعية الحمض النووي DNA لعينات المفترس 70
- شكل 21. نواتج التضخيم باستخدام زوج البادئات (SRAP-6) لعينات المفترس *H. variegata* 73
- شكل 22. شجرة القرابة الوراثية للعينات المدروسة باستخدام تقنية SRAP وفق برنامج (1.32) POPGEN وبطريقة UPGAMA 75
- شكل 23. المقارنة بين شجرة القرابة المورفولوجية وشجرة القرابة الوراثية لعينات المفترس المدروسة 77

قائمة بالاختصارات العلمية المستخدمة

الاختصار	الاسم	Name
AFLPs	التعددية الشكلية لقطع الـ DNA المهضومة بأنزيمات التقييد والمضخمة	Amplified Fragment Length Polymorphic Dna
bp	زوج قاعدي	Base Pair
DNA	الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين	Deoxyribo Nucleic Acid
dNTPs	النكليوتيدات ثلاثية الفوسفات منقوصة الأكسجين	deoxyribo Nucleotide Triphosphate
DV	المقدرة الافتراضية اليومية	Daily Voracity
EDTA	ثنائي أمين الأثيلين - رباعي حمض الخل	Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid
fp	مدة الافتراض	Feeding Period
ISSR	بين تكراريات التسلسلات البسيطة	Inter Simple Sequence Repeats
mg	مليغرام	Milligram
ml	ملييلتر	Milliliter
na	العدد الكلي للفرائس المفترسة	Number of Consumed Aphid
ng	نانوغرام	Nanogram
µg	ميكروغرام	Microgram
µg	ميكروغرام	Microgram
OD	الكثافة الضوئية	Optical Density
ORF	إطار القراءة المفتوح	Open Reading Frame
PCR	تفاعل البلمرة التسلسلي	Polymerase Chain Reaction
PDV	مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق	Percent Disagreement Values
PIC	معامل التعددية الشكلية	Polymorphism Information Content
RAPD	التعددية الشكلية لـ DNA المضخم عشوائياً	Random Amplified Polymorphic Dna
SDS	كبريتات دودسيل الصوديوم	Sodium Dodecyl Sulfate
SSR	تكراريات التسلسلات البسيطة	Simple Sequence Repeats
TBE	محلول منظم	Tris- Borrat- Edta
TE	محلول منظم	Tris - EDTA
UPGMA	متوسطات المجموعات الزوجية غير المزنة	Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Averaging
µM	ميكرومولر	Micromolar

الملخص

أُجريت هذه الدراسة خلال المدّة بين عامي 2015 - 2020 بهدف تحديد تأثير نوع الفريسة المستخدمة في التربية المخبرية لمفترس حشرات المَنّ (Coleoptera: *Hippodamia variegata* (Goeze) Coccinellidae) في أهم المؤشرات الحيوية لهذا المفترس، وكانت الفرائس المستخدمة نوعين من حشرات المَنّ، حشرة مَنّ الفول *Aphis fabae* Scop. وحشرة مَنّ الملفوف *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae). نُفذت جميع التجارب في المخبر تحت شروط متحكم بها. أدت تربية المفترس على حشرة مَنّ الفول إلى انخفاض معنوي في مدّة الطور اليرقي 9.17 يوماً، ومدّة الجيل 16.19 يوماً، وارتفاع معنوي في معدل البقاء لمجمل الأطوار غير الكاملة 57.00% بالمقارنة مع حشرة مَنّ الملفوف، كذلك أدت التربية على حشرة مَنّ الفول إلى تفوق معنوي في معدل خصوبة الأنثى اليومي 25.13 بيضة ومتوسط خصوبتها الكلية 886.20 بيضة ومتوسط خصوبتها الحقيقية 713.63 بيضة مخصبة. أدت تربية المفترس على حشرة مَنّ الفول إلى ارتفاع معنوي في معدل المقدرة الافتراضية للطور اليرقي 30.16 حورية/ يرقة/ يوم، ومعدل المقدرة الافتراضية للحشرات الكاملة (الإناث) 56.80 حورية/ أنثى/ يوم بالمقارنة مع الأفراد المرباة على حشرة مَنّ الملفوف. كما هدف البحث إلى دراسة التعددية الشكلية لأفراد المفترس *H. variegata*، وأظهرت النتائج أن الأشكال المختلفة للعينات المجموعة انقسمت إلى 26 شكلاً مختلفاً يتميز كل منها بعدد محدد للبقع وموضع هذه البقع وشكلها على كل غمد. هدَفَ البحث أيضاً إلى دراسة درجة القرابة الوراثية لأفراد المفترس *H. variegata* في مناطق مختلفة من سورية باستخدام تقنية SRAP. بلغ عدد الحزم المضخمة 101 حزمة، منها 99 حزمة متعددة شكلياً بنسبة تعددية شكلية 97.77%. أظهرت نتائج دراسة درجة القرابة الوراثية لأفراد المفترس أن أعلى قيمة لمصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق كانت بين عينات دمشق وفديو (اللاذقية)، وبين عينات حمص وفديو (اللاذقية) 0.904، بينما كانت أقل قيمة لها بين عينات دمشق والسويداء 0.271. كما أظهرت شجرة القرابة الوراثية انقسام المجتمعات المدروسة إلى مجموعتين رئيسيتين تبعاً لتوزيعها الجغرافي.

كلمات مفتاحية: مَنّ، مفترس، تطور، افتراضية، تنوع، وراثي، SRAP.

الجزء التمهيدي

المقدمة

تُعد خنافس أبي العيد "الدعسوقيات" (Coccinellidae: Coleoptera) من المفترسات المهمة في الموائل الطبيعية والزراعية وتفترس العديد من الآفات المهمة اقتصادياً، بما في ذلك حشرات المَنّ، والبق الدقيقي، والحشرات القشرية، والتريس، ونطاطات الأوراق، والعث، وغيرها من الحشرات الرهيفة (Dixon، 2000؛ Khan وزملاؤه، 2009).

تتغذى الأنواع المفترسة إما على حشرات المَنّ أو الحشرات القشرية، وهناك بعض الأنواع تتغذى على كلا النوعين من الفرائس (Weber وLundgren، 2009)، ونظراً للترامن الموسمي لهذه الأنواع مع فريسة معينة، والأداء العالي في البحث عن الطعام، والكفاءة التكاثرية العالية، فإن الدعسوقيات Coccinellids تُستخدم بفعالية في برامج الإدارة المتكاملة للآفات (Lanzoni وزملاؤه، 2004). حيث يتم نقل الخنافس أو إنتاجها بكميات كبيرة وإطلاقها لمكافحة الآفات المختلفة (Singh، 2004). في الآونة الأخيرة تم الاعتراف بدور المفترسات مثل الدعسوقيات في مكافحة البيولوجية من خلال تقنيات الحفظ والتعزيز (Symondson وزملاؤه، 2002؛ Obrycki وزملاؤه، 2009).

تعتمد مؤشرات الحياة مثل معدل التطور والقدرة على التكاثر ومعدل البقاء وطول عمر الحشرات البالغة وغير ذلك من المؤشرات على عوامل بيئية حيوية وغير حيوية مختلفة، بالإضافة إلى تفاعل هذه العوامل مع العوامل الوراثية. من بين العوامل الحيوية قد يكون الغذاء (من حيث الجودة والوفرة) هو العامل الأكثر تأثيراً في هذه المؤشرات (Jervis وزملاؤه، 2005)، وبناءً على ما سبق يتم تصنيف فرائس خنافس أبي العيد إلى فرائس أساسية وبديلة ومرفوضة بالاعتماد على البيانات الكمية حول المؤشرات التطورية. أظهرت الدراسات التي أجريت على تأثير أنواع الفرائس في مؤشرات الحياة المختلفة لخنافس أبي العيد العديد من الجوانب المهمة في بيئتها الغذائية (Honek وHodek، 1996).

يُعد المفترس *Hippodamia (Adonia) variegata* (Goeze) من أنواع الدعسوقيات السائدة في نظم بيئية مختلفة، وهو مفترس للعديد من حشرات المَنّ في مناطق مختلفة من العالم (Franzmann، 2002)، ويعد من أهم الأعداء الطبيعية لحشرات المَنّ في العديد من البلدان، بما في ذلك بلغاريا وأوكرانيا وإيطاليا والهند وتركمانستان (Kontodimas و Stathas، 2005)، وفي الصين يعد من أكثر الأنواع شيوعاً في أنظمة القمح والتبغ والقطن والخضروات والبساتين (Yang وزملاؤه، 1997).

بيّن Hodek (1960) و Blackman (1967) أن حشرات المَنّ ليست جميعها مناسبة كفريسة لجميع أنواع مفترسات المَنّ من خنافس أبي العيد، ويجب التمييز بين الفريسة الأساسية (Essential Prey) التي تؤثر في مختلف المؤشرات الحيوية للمفترس، وبين الفريسة التي يستخدمها المفترس من أجل البقاء فقط، أي الفريسة البديلة (Alternative Prey)، وهناك أنواع من الفرائس تعد فرائس مرفوضة قد تكون سامة. هناك مستويات مختلفة من ملائمة الفرائس الأساسية (Hodek و Honek، 1996). أشارت دراسة Shah و Khan (2014) إلى أن كلا من مَنّ التفاح الأخضر *Aphis pomi* ومَنّ الملفوف *Brevicoryne brassicae* هما فريسة أساسية للمفترس *H. variegata*، وكانت الفريسة *B. brassicae* أكثر ملائمة للمفترس بالمقارنة مع *A. pomi*.

إن طول مدة الحياة ليرقات المفترس *H. variegata* تختلف اختلافاً كبيراً باختلاف الفريسة، مما يؤثر في المقدرة الافتراضية للمفترس، حيث بينت دراسة Shafiei وزملاؤه (2001) أن إطالة فترة النمو هي آلية تسمح للحشرات بالبقاء على قيد الحياة ضمن ظروف التغذية غير الكافية خلال مرحلة اليرقات، حيث تسمح للحشرات بتوسيع نشاطها الغذائي للحصول على موارد غذائية كافية لإكمال نموها. يمكن أن تُعزى الاستساغة المتنوعة لنوعين من فرائس المَنّ بالنسبة لمفترسات أبي العيد إلى الألكانات الخاصة بالأنواع الموجودة على سطح حشرات المَنّ (Liepert و Dettner، 1996) والاختلافات في أنماط الشمع الخاصة بحشرات المَنّ التي يمكن استخدامها في تعريف وتحديد نمط الاستساغة (Kosaki و Yamaoka، 1996). يُعزى انخفاض استهلاك بعض حشرات المَنّ إلى قلويدات ومواد كيميائية أخرى غير مناسبة لتطور خنافس أبي العيد (Okamoto،

(1966). قد يؤدي انخفاض الاستهلاك استجابةً للمكونات الكيميائية إلى الحفاظ على المواد الكيميائية غير المرغوب فيها دون المستويات الضارة مع إمكانية البقاء على قيد الحياة.

كما تتميز الحشرات الكاملة للمفترس *H. variegata* بتعدد الأشكال فيما بينها، حيث بينت الدراسات وجود مجموعة متنوعة من الأشكال تختلف عن بعضها البعض، فقد بينت الدراسة التي أجريت خلال الفترة بين 1937-2011 من قِبَل Honek وزملاؤه (2012) وجود 22 شكلاً للدعسوقة في الجزء الأوسط من أوروبا وسلوفاكيا، كما سُجلت ظاهرة التعددية الشكلية للدعسوقة *H. variegata* في أوروبا الوسطى، وأمريكا الشمالية، والجزء الأوسط من أفريقيا والهند (Honek، 1985؛ Nedved، 1999). أشار Khormizi وزملاؤه (2013) إلى وجود أربعة أشكال للمفترس في مقاطعة محرز (محافظة يزد في إيران).

في ظل التطور المتسارع في علم التقانات الحيوية، اكتُشفت معايير ومؤشرات أكثر دقة يمكن استخدامها في عملية التوصيف والتصنيف ودراسة الاختلافات بين وضمن النوع الواحد من جهة وبين الأنواع المختلفة من جهة أخرى، أهمها دراسة التنوع الوراثي باستخدام المعلامات الجزيئية Molecular Marker، ومن هذه المعلامات تقنية SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism)، تستهدف هذه التقنية المناطق المشفرة وغير المشفرة من الجينوم (Li و Quiros، 2001)، وبالمقارنة مع المعلامات الجزيئية الأخرى فإن التضخيم التفضيلي لإطارات القراءة المفتوحة (ORF) بواسطة تقنية SRAP يسمح بتحديد العلاقة بين التعددية الشكلية للحمض النووي DNA والصفات المورفولوجية للطرز المختلفة (Ferriol وزملاؤه، 2003). كما تتميز هذه التقنية بقدرتها على مضاعفة المناطق الفاصلة بين مورثات الكائن المستهدف والمناطق المحيطة بها غير المشفرة، بالإضافة إلى قدرتها على مضاعفة مورثات محددة تعطي معلومات وراثية أوسع عن الكائن المستهدف عند إجراء التسلسل النيكلوتيدي لها (Yu وزملاؤه، 2008)، وبعدم الحاجة لتوفر معلومات واسعة عن تسلسل جينوم الكائن الحي (Li وزملاؤه، 2014). إن استخدام تقنية SRAP في مجال دراسة التنوع الوراثي للحشرات يعد قليلاً، وقد قام Lin وزملاؤه عام 2009 بدراسة التنوع الوراثي لعشرة أنماط للمفترس *Harmonia axyridis* باستخدام تقنية SRAP حيث استخدم 72 زوجاً من البادئات، نجح منها عشرة أزواج، أعطت 175 حزمة

مضخمة منها 133 حزمة متعددة شكلياً وبلغت نسبة التعددية الشكلية 76.04 %. وأظهرت شجرة القرابة الوراثية ارتباطاً وثيقاً بين التوزع الجغرافي ولون وشكل البقع لبعض أنماط المفترس *H. axyridis* والتي تتوافق مع التصنيف المورفولوجي.

الإشكالية البحثية

تُعد حشرات المَنّ Aphids والتي تنتمي إلى فصيلة Aphididae رتبة Hemiptera من الآفات المهمة على الأشجار المثمرة والحراجية والنباتات المعمرة ونباتات الزينة والمحاصيل الحقلية (Alhmedi وزملاؤه، 2010)، إذ تسبب أضراراً مباشرة عن طريق امتصاص العصارة النباتية، وأضراراً غير مباشرة عن طريق إفراز الندوة العسلية التي تشجع نمو فطر العفن الأسود الذي يعيق عمليتي التنفس والتركيب الضوئي في النبات (Raboudi وزملاؤه، 2002)، ومن الأضرار غير المباشرة أيضاً نقل الفيروسات، حيث قام Blackman و Eastop عام 2000 بتوثيق الأضرار غير المباشرة للمَنّ الناجمة عن نقل أكثر من 100 نوع من الفيروسات النباتية، وتعود خطورة الإصابة بحشرات المَنّ إلى صعوبة السيطرة عليها بسبب خصوبتها العالية للغاية حيث يمكن أن تتكاثر الإناث لا جنسياً وتعطي من 50 إلى 100 حورية في حياتها، وكل حورية تتطور في غضون 6 إلى 8 أيام إلى حشرة كاملة لتتكاثر من جديد (Grigorov، 1977)، بالإضافة إلى انخفاض فعالية استخدام المبيدات الكيميائية بسبب ظهور السلالات المقاومة، حيث أدى الاستخدام المكثف لفئات معينة من المبيدات الحشرية إلى تطوير المقاومة في العديد من مجتمعات حشرات المَنّ (Margaritopoulos وزملاؤه، 2007)، ومن أمثلة المبيدات التي طورت حشرات المَنّ مقاومة لها مبيد Dinotefuran المستخدم لمكافحة مَنّ البقوليات *Aphis craccivora* (Mokbel و Mohamed، 2009)، والمبيدان Imidacloprid و Fenvalerate المستخدمان لمكافحة مَنّ القطن *Aphis gossypii* (Wang وزملاؤه، 2002).

من هنا تأتي أهمية الإدارة المتكاملة لهذه الآفات وبشكل خاص مكافحة الحيوية باستخدام المفترسات والمتطفلات المحلية أو المُدخلة، وقد أشارت الدراسات إلى أن المفترسات التابعة لفصيلة أبي العيد Coccinellidae استُخدمت بشكل كبير على المستوى التطبيقي في مكافحة الحيوية أو في برامج الإدارة

المتكاملة، ومن الأنواع المستخدمة في مناطق مختلفة من العالم أبي العيد *H. variegata* الذي يمكن من خلال التربية المخبرية لهذا المفترس من استخدامه كبديل عن المبيدات الكيميائية التي فشلت في الحد من انتشار حشرات المَن في الحقول والبساتين المختلفة، وعند التربية المخبرية لا بد من تحديد الفريسة المناسبة لهذا المفترس، لأن المؤشرات الحياتية للمفترس مثل معدل التطور والقدرة على التكاثر ومعدل البقاء وطول عمر الحشرات البالغة وغير ذلك من المؤشرات تعتمد على الفريسة التي يُربى عليها، ويُعد الغذاء (من حيث الجودة والوفرة) العامل الأكثر تأثيراً على فعالية المفترس وكفاءته في برامج مكافحة الحيوية لحشرات المَن (Jervis وزملاؤه، 2005).

يتميز هذا النوع من مفترسات أبي العيد بالتعددية الشكلية، والأشكال الموجودة من هذا النوع في سورية غير معروفة أو محددة، ونظراً لذلك تصعب عملية تصنيف هذا النوع، لذلك من الضروري البحث عن الطرائق التي تساهم في عملية التصنيف وتتغلب على مشكلة التعددية لهذا النوع من حشرات أبي العيد المفترسة لحشرات المَن.

تساؤلات البحث

- هل للفريسة المستخدمة في عملية التربية للمفترس *H. variegata* تأثير على المؤشرات الحياتية للمفترس مثل معدل التطور والقدرة على التكاثر ومعدل البقاء وطول عمر الحشرات البالغة؟
- ما هو تأثير نوع الفريسة في الكفاءة الافتراضية للمفترس؟
- هل للمفترس أنماط شكلية مميزة ومختلفة؟
- ما عدد الأنماط الشكلية لهذا المفترس في مناطق الدراسة؟
- هل هناك ارتباط وثيق بين الأنماط الشكلية للمفترس والتوزيع الجغرافي له؟
- هل يمكن دراسة التنوع الوراثي لهذا المفترس باستخدام تقنية SRAP.

فرضيات البحث

- يوجد فروق ذات دلالة إحصائية عند مستوى الدلالة 0.01 لتأثير الفريسة المستخدمة في التربية المخبرية في الخصائص الحياتية المختلفة للمفترس *H. variegata*.
- يوجد فروق ذات دلالة إحصائية عند مستوى الدلالة 0.01 لتأثير الفريسة المستخدمة في التربية المخبرية في المقدرة الافتراضية للأطوار المختلفة للمفترس (الحشرات الكاملة- الأعمار المختلفة لليرقة).
- يوجد للمفترس أنماط شكلية مختلفة في منطقة الدراسة.
- يوجد علاقة ارتباطية بين الأنماط الشكلية للمفترس والتوزيع الجغرافي له.
- يوجد علاقة ارتباطية بين الأنماط الوراثية للمفترس والتوزيع الجغرافي له.

أهداف البحث

- دراسة تأثير نوع الفريسة في مدة تطور المفترس *H. variegata* وفي معدل البقاء لأطواره غير الكاملة، وفي الخصوبة الكلية Fecundity والخصوبة الحقيقية Fertility، وفي المقدرة الافتراضية لمختلف أطوار المفترس.
- دراسة التعددية الشكلية لأفراد المفترس *H. variegata*.
- دراسة درجة القرابة الوراثية للمفترس *H. variegata* في مناطق مختلفة من سورية باستخدام تقنية SRAP.

أهمية البحث

يعد النوع *H. variegata* واحداً من أهم الأنواع المستخدمة في مكافحة الحيوية لحشرات المَنَ (Franzmann، 2002)، وقد عدّه Aalbersberg وزملاؤه عام 1988 من المفترسات المهمة على مَنَ القمح الروسي *Diuraphis noxia* في جنوب أفريقيا، كما أشار EL- Habi وزملاؤه عام 2000 إلى أن المفترس *H. variegata* قد أثبت فاعلية كبيرة في مكافحة مَنَ القطن *Aphis gossypii* على نبات الخيار في الدفيئات الزجاجية في المغرب. تتجه اهتمامات الباحثين في الآونة الأخيرة نحو التربية المخبرية الموسعة للأعداء الحيوية

المختلفة، ومنها مفترسات أبي العيد في مخابر مكافحة الحيوية في سورية، واستخدامها بطريقة الإطلاق الدوري لتنظيم أعداد الكثير من أنواع حشرات المَن.

إن التربية الموسعة للمفترسات الحشرية تتطلب اختيار العائل الحشري المناسب كفريسة، والتي تؤدي تربية المفترس عليها إلى إعطاء أعلى قيم لمؤشرات الحيوية (خصوبة عالية- كفاءة افتراسية عالية- تعدد الأجيال وقصر مدة الحياة- نسبة جنسية عالية لصالح الإناث وغيرها...). ونظراً لكون تربية المفترس *H. variegata* لم تدخل بعد في نطاق التربية المخبرية والكمية والتطبيق العملي في القطر العربي السوري، فإن الخطوة الأولى لنجاح استخدام هذا المفترس في برامج مكافحة الحيوية لحشرات المَن تعتمد على الإلمام بالسلوك الطبيعي للمفترس والتعرف على فريسته النوعية حيث تختلف الخصائص الحيوية لهذا المفترس باختلاف الفريسة المقدمة أثناء عملية التربية. إن التربية الصحيحة لهذا المفترس باختيار الفريسة المناسبة ستساهم في زيادة المقدرة الافتراسية للمفترس، وبالتالي التقليل ما أمكن من استخدام المبيدات الكيميائية المستخدمة في مكافحة حشرات المن والتقليل من التلوث البيئي الناتج عن الاستخدام العشوائي للمبيدات، مما يؤدي إلى التقليل من استيراد المبيدات الحشرية، وتوفير القطع الأجنبي اللازم لشراء هذه المبيدات، وهذا يعود بالمنفعة على صحة الإنسان والبيئة والمزارع والدولة.

كما أن أفراد المفترس *H. variegata* تتميز بتعدد الأشكال فيما بينها، حيث يظهر هذا الاختلاف في عدد وحجم وشكل البقع وتوزعها على الأغمد، ولون الأغمد، ويلعب التوزيع الجغرافي دوراً أساسياً في نسبة التعددية الشكلية ضمن أفراد المجتمعات المحلية. إن التوصيف الوراثي لهذا المفترس باستخدام تقنية SRAP ستبين مدى الارتباط بين التوزيع الجغرافي ولون وشكل البقع لبعض أنماط المفترس *H. variegata* ومدى التوافق مع التصنيف المورفولوجي لهذا المفترس.

مبررات البحث

تعد حشرات المن من أهم الآفات التي تسبب أضراراً للمحاصيل الزراعية المختلفة، الأمر الذي يتطلب مكافحة المباشرة لحشرات المَن، حيث أن الاستراتيجية المستخدمة في ذلك هي استخدام المبيدات الكيميائية

بصورة غير مدروسة، ما أدى إلى ظهور الكثير من المشاكل، منها ظهور الأفراد المقاومة للمبيدات، والتلوث البيئي، ومجموعة من الأمراض الخطيرة للإنسان الناتجة عن الأثر المتبقي لهذه المبيدات، لذلك تم الاتجاه في بقاع مختلفة من العالم، ومنها سورية، إلى الانتاج الكمي للأعداء الحيوية المختلفة، وذلك بتربية هذه الأعداء الحيوية مخبرياً وانتاجها بأعداد كبيرة تفي بهذا الغرض، ويتطلب الانتاج الكمي للمفترسات، ومنها المفترس *H. variegata* اختيار الفريسة المناسبة والأساسية التي تؤثر على مختلف المؤشرات الحيوية للمفترس، والتميز بينها وبين الفريسة البديلة التي يستخدمها المفترس من أجل البقاء، أي الفريسة البديلة (Alternative Prey)، وهناك أنواع من الفرائس تعد فرائس مرفوضة قد تكون سامة. إن طول مدة الحياة ليرقات المفترس *H. variegata* تختلف اختلافاً كبيراً باختلاف الفريسة، مما يؤثر في المقدرة الافتراضية للمفترس. إن إطالة مدة النمو هي آلية تسمح للحشرات بالبقاء على قيد الحياة ضمن ظروف التغذية غير الكافية خلال مرحلة اليرقات، حيث تسمح للحشرات بتوسيع نشاطها الغذائي للحصول على موارد غذائية كافية لإكمال نموها.

إن التوصيف الوراثي لهذا المفترس، واختيار التقنية المناسبة لذلك، تعد من الأهمية بمكان، وذلك لتحديد مدى الارتباط بين الأنماط المختلفة للمفترس وتوزيعها الجغرافي، ومعرفة مدى العلاقة بين التوزيع الجغرافي والتعدد الشكلي للمفترس.

الفصل الأول

الدراسة المرجعية

1. الدراسة المرجعية

1.1. الموقع التصنيفي للمفترس *Hippodamia variegata* (Goeze)

جدول 1. الموقع التصنيفي للمفترس *Hippodamia variegata* (Goeze) (CABI، 2021)

Class	Insecta	الحشرات	صف
Order	Coleoptera	غمديات الأجنحة	رتبة
Suborder	Polyphaga	متعددة التغذية	تحت رتبة
Super Family	Cucujoidea	كوكجوديا	فوق فصيلة
Family	Coccinellidae	الدعسوقيات (خنفس أبي العيد)	فصيلة
Subfamily	Coccinellinae		تحت فصيلة
Genus	<i>Hippodamia</i>		الجنس

2.1. الاسم العلمي الشائع

Hippodamia variegata (Gordon, 1985)

3.1. الأسماء العلمية المرادفة

Adonia variegata (Mulsant, 1846)

Coccinella variegata (Goeze, 1777)

Hippodamia (Adonia) variegata (Khnzorian, 1982)

4.1. الأسماء الشائعة

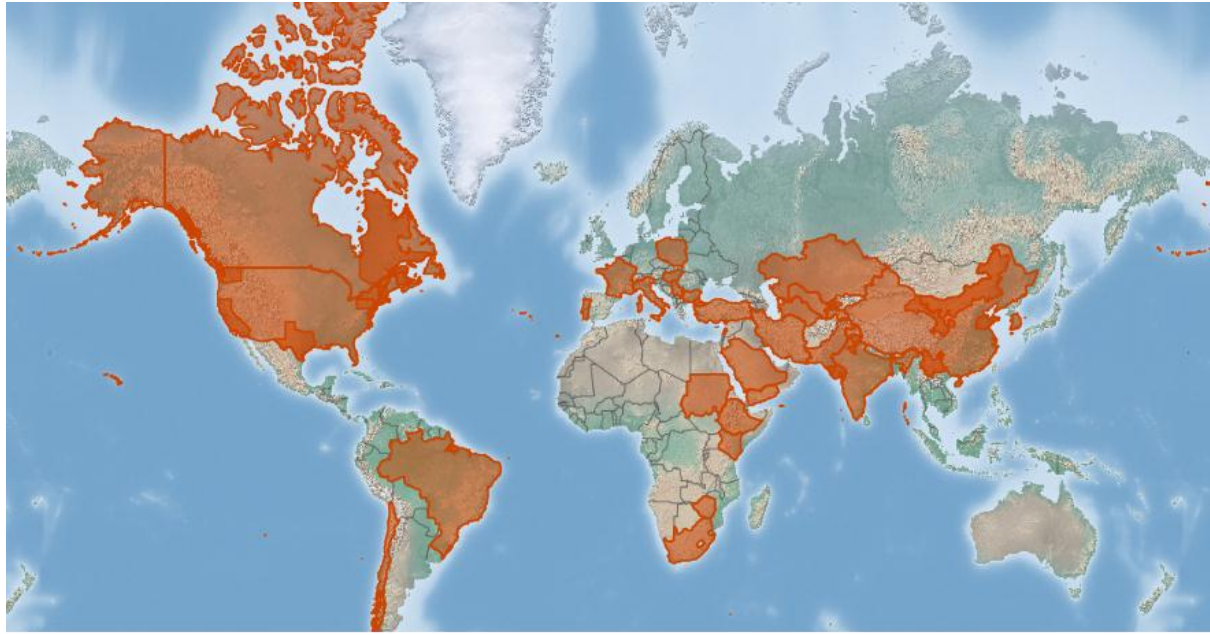
- العربية: دعسوقة أدونيس (خليل ومراد، 2005)

- الإنكليزية: Variegated lady beetle، Variegated ladybug، Spotted amber ladybird،

White collared ladybird، Adonis ladybird، Variegated ladybird

5.1. الانتشار الجغرافي

أشار Franzmann (2002) إلى أن الموطن الأصلي لهذا المفترس هو أوربا والجزء الشمالي من آسيا والشرق الأوسط وشمال أفريقيا والأجزاء الشمالية والوسطى من شبه الجزيرة العربية، وسُجل انتشاره مؤخراً في أنحاء كثيرة من العالم، وأدخل إلى الولايات المتحدة الأمريكية وكندا (Gordon، 1987؛ Krafur وزملاؤه، 1996؛ Wheeler وStoops، 1996) وتشيلي (Zuniga وزملاؤه، 1986) بهدف مكافحة الحيوية لحشرات المَن، ويعد هذا النوع من أهم مفترسات المَن في أوربا (Hodek وHonek، 1996). أشار Kavallieratos وزملاؤه (2004) إلى أن هذا النوع هو واحد من مفترسات أبي العيد السائدة في اليونان، وقد سُجل لأول مرة في استراليا عام 2000 (Franzmann، 2002)، وجنوب أفريقيا (Aalbersberg وزملاؤه، 1988)، وكينيا (Ogenga-Latigo، 1994)، والهند (Singh وزملاؤه، 1991)، والصين (Zhao وFan، 1988)، وسُجل كأهم عدو حيوي لحشرات المَن التي تصيب المحاصيل المختلفة في بلغاريا (Natskova، 1973)، وأوكرانيا (Gumovskaya، 1985)، وإيطاليا (Nicoli وزملاؤه، 1995)، وتركمانستان (Belikova وKosaev، 1985)، كما أنه شائع في السعودية (El-Hag، 1992)، وفي مصر (Mandour، 2013)، وفي إيران (Farhadi وزملاؤه، 2011). وسجله Raimundo وزملاؤه (2000) في اليمن، كما تم تسجيله في المنطقة الجنوبية من سورية (خليل ومراد، 2005). يبيّن الشكل (1) الانتشار الجغرافي للمفترس *H. variegata* في العالم.



CABI, 2021. *Hippodamia variegata*. In: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. <https://www.cabi.org/isc>

● CABI Summary Data

شكل 1. الانتشار الجغرافي للمفترس *H. variegata* في العالم

6.1. المدى العوالم

تُعد أنواع الجنس *Hippodamia* مفترسات عامة لحشرات المَن Aphidophagous في جميع النظم البيئية الزراعية، وتم تحديد العديد منها كعوامل تحكم بيولوجية لحشرة مَن الفول *Aphis fabae* في المحاصيل الزراعية (Fan و Zhao، 1988)، وأشار Karagounis وزملاؤه (2006) إلى أن المفترس *H. variegata* يهاجم مَن القطن *A. gossypii* على نبات القطن ومَن الدراق الأخضر *Myzus persicae* على نبات التبغ وأشجار الدراق، وسُجل هذا المفترس في استراليا على 12 نوع من المَن ونوع واحد من حشرات البسيلا التي تتغذى على مختلف المحاصيل والأعشاب ونباتات الزينة (Franzmann، 2002). وذكر El-Hag وزملاؤه (1996) أن هذا المفترس وُجد في حقول القمح والشعير في وسط المملكة العربية السعودية، ويفترس العديد من حشرات المَن المهمة اقتصادياً.

يعد المفترس *H. variegata* من أهم مفترسات حشرات المَن على نبات الفليفلة في بلغاريا (Natskova، 1973)، وعلى نبات الذرة في أوكرانيا (Gumovskaya، 1985)، وعلى الشجيرات في إيطاليا

(Nicoli وزملاؤه، 1995)، وعلى محاصيل الحبوب في الهند (Hammed وزملاؤه، 1975)، وعلى نبات القطن في تركمانستان والصين (Belikova و Kosaev، 1985؛ Fan و Zhao، 1988)، وبين kavallieratos وزملاؤه (2002) أن المفترس يشكل 64.5 % من إجمالي عدد مفترسات أبي العيد الموجودة على القطن المصاب بحشرة من القطن *A. gossypii* في اليونان، كما سجله Aalbersberg وزملاؤه (1988) كأهم مفترس على من القمح الروسي *D. noxia* في جنوب افريقيا، ويهاجم المفترس الحشرات الثاقبة الماصة الأخرى (Alan، 1979) مثل نطاطات الأوراق (Cicadellidae: Hemiptera) (Singh وزملاؤه، 1991)، ويهاجم أيضاً يرقات فصيلة (Noctuidae: Lepidoptera) (Araya وزملاؤه، 1997)، ويرقات فصيلة (Curculionidae: Coleoptera)، كما أنه يتغذى على حبوب الطلع (Esmaili و Sadeghi، 1992).

سُجل في سورية على العديد من المحاصيل الحقلية، ونباتات الزينة (إيفوريبيا، ورد جوري، أفحوان)، وكثير من النباتات الشوكية، والأشجار المثمرة (كرز، مشمش، أكدينا، تفاح، إجاص، دراق، جانرك، توت، تين، لوز)، والشجيرات والأشجار الأخرى (رمان، زعرور، وزال، حمضيات، محلب، قيقب، توت سياج، جوز، سرو، صنوبر، أرز، فستق حلبي، سنديان (خليل ومراد، 2005).

7.1. الوصف الشكلي لمختلف أطوار المفترس

1.7.1. البيضة

ذات شكل بيضوي متطاوّل ومدببة من الأعلى طولها 1-1.5 مم، لونها أصفر باهت (الشكل 2)، يتغير لونها بشكل تدريجي من الأصفر إلى البرتقالي خلال مدة الحضانة، تضع الأنثى البيض على شكل لطف (17-25 بيضة / لطفة) في الأماكن التي تكون فيها الفرائس وفيرة (Jafari، 2011).



BSCRC, 2021

شكل 2. بيض المفترس *H. variegata*

2.7.1. اليرقة

اليرقة مغزلية الشكل ومتطاولة بلون رمادي مائل للسواد، طولها بالمتوسط 13 مم، الرأس مربع الشكل بزوايا دائرية، جسم اليرقة مقوس ويكون الرأس والصدر مسطحان أكثر من البطن والذي يأخذ شكل نصف كروي، ويوجد على الحلقات الصدرية والبطنية من الناحية الظهرية العديد من الدرنات بلون أسود يتفرع منها شعيرات طويلة، ويوجد على الحلقة البطنية الأولى زوج من البقع بلون أصفر، وعلى الحلقة البطنية الرابعة زوج من البقع بلون أصفر باهت، الأرجل سوداء اللون (الشكل 3)، ولليرقة أربعة أعمار يرقية (Hodek, 1973).



BSCRC, 2021

شكل 3. يرقة المفترس *H. variegata* بالعمر الرابع

3.7.1. الغذاء

تكون بلون أسود في المراحل الأولى، تتحول إلى اللون البرتقالي المحمر تدريجياً حتى انبثاق الحشرة الكاملة، ويوجد على كل حلقة من الناحية الظهرية بقعتان بلون أسود متوضعة الواحدة بجانب الأخرى (الشكل 4)

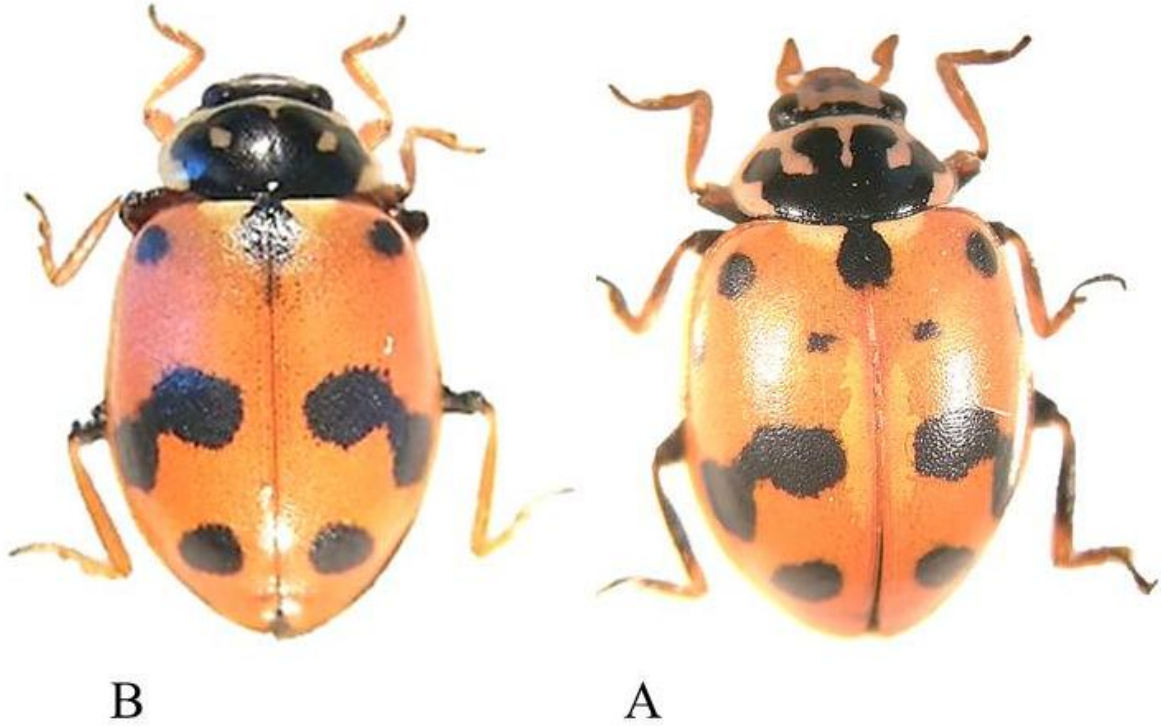
(Jafari, 2011).



شكل 4. عذراء المفترس *H. variegata*

4.7.1. الحشرة الكاملة

الجسم بيضوي، يبلغ طوله 3 – 6.4 مم، الأغمد بلون أحمر إلى برتقالي، مع عدد متغير من البقع السوداء (0-15) بقعة، الصدر الأمامي أبيض مائل للصفرة مع بقعة سوداء كبيرة على شكل تاج (الشكل 5، A)، أو بقعتان بلون أبيض على شكل عينين في المنطقة السوداء (الشكل 5، B)، الفخذ من الناحية الظهرية بلون اسود ومن الناحية البطنية بلون برتقالي، الساق بلون برتقالي، البطن أسود (الشكل 6) (Biranvand وزملاؤه، 2020)، الأعضاء التناسلية الذكرية كما في الشكل (7).



BSCRC, 2021

شكل 5. منظر ظهري للمفترس *H. variegata*
 A- الصدر الأمامي أبيض مائل للصفرة مع بقعة سوداء كبيرة على شكل تاج، B- الصدر الأمامي أبيض مائل للصفرة مع بقعتان بلون أبيض على شكل عيين في المنطقة السوداء.



BSCRC, 2021

شكل 6. منظر بطني للمفترس *H. variegata*



BSCRC, 2021

شكل 7. الأعضاء التناسلية الذكرية للمفترس *H. variegata*
 A- الغميد (Tegmen)، B- القضيب (Sipho).

8.1. بيولوجيا المفترس

تتشابه دورة حياة هذه الحشرة مع دورة حياة الأنواع الأخرى لحشرات أبي العيد التي تتغذى على المَن، حيث تمر هذه الأنواع بالمراحل الحياتية التالية : بيضة، أربعة أعمار يرقية، عذراء ، حشرة كاملة. وتؤثر العوامل البيئية المختلفة وخاصةً درجة الحرارة والغذاء في مختلف أطوار الحشرة، وبينت الدراسات تميز النوع *H. variegata* بالخصوبة العالية، وتختلف كمية البيض الموضوع من أنثى واحدة باختلاف نوع الفريسة، وعموماً يتراوح متوسط ما تضعه أنثى واحدة من 200 إلى 1000 بيضة (El-Hag و Zaitoon، 1996؛ Farhadi وزملاؤه، 2011).

تختلف مدّة التطور الجنيني باختلاف درجة الحرارة ونوع الفريسة التي تغذت عليها أنثى المفترس الأم، ويبيّن Jafari (2011) أن مدّة التطور الجنيني تتراوح بين 3-4 أيام عند تربية المفترس على حشرة مَن

الفول *Aphis fabae* على درجة حرارة 25 س في إيران، وأوضح Lanzoni وزملاؤه (2004) أن هذه المدة بلغت ثلاثة أيام عند التربية على حشرة من الدراق الأخضر *M. persicae* على درجة حرارة 25 س في بولونيا، وأشار Stathas و Skouras (2015) أن مدة التطور الجنيني للمفترس المربي على حشرة من الفول في اليونان على أربع درجات حرارة ثابتة (15، 20، 25، 30) س بلغت (2، 4، 6، 10) يوم على التوالي. تختلف مدة التطور اليرقي باختلاف نوع الفريسة ودرجات الحرارة السائدة، حيث بينت الدراسة التي أجراها Sarhan وزملاؤه (2011) عند تربية المفترس على ثلاثة أنواع من حشرات المن في مصر على درجة حرارة 25 س، أن مدة التطور اليرقي تراوحت بين 9-11 يوماً عندما كانت الفريسة من البقوليات *Aphis craccivora*، و 11-14 يوماً بالنسبة للفريسة من الخوخ *Hyalopterus pruni*، و 14-16 يوماً بالنسبة للفريسة من الكرز *Rhopalosiphum padi*، كما بين Stathas و Skouras (2015) أن مدة التطور اليرقي تباينت باختلاف درجات الحرارة وبلغت 35.4 يوماً عند درجة حرارة 15 س، وانخفضت إلى 10.3 يوماً عند درجة حرارة 25 س عند تربية المفترس على حشرة من الفول.

بينت الدراسات أن نوع الفريسة لا يؤثر في معدل النمو والتطور فقط إنما يؤثر أيضاً في حجم الحشرة الكاملة، فاليرقات التي تربي على فرائس غير مناسبة تعطي حشرات بالغة أصغر حجماً، وأشار Obrycki و Orr (1990) إلى أن الحشرات الكاملة للمفترس كانت أكبر (3.15mm×4.97mm) عند التربية على من البازلاء *Acyrtosiphon pisum* من تلك التي تمت تربيتها على من أوراق الذرة *Rhopalosiphum maidis* (2.87mm×4.52mm) في أمريكا. تتأثر مدة طور العذراء بالظروف البيئية وخاصة درجات الحرارة ونوع الفريسة، وبين Jafari (2011) أن مدة طور العذراء تتراوح بين 3-3.5 يوماً عند تربية المفترس على حشرة من الفول على درجة حرارة 25 س، وأشار Wang وزملاؤه (2004) إلى أن هذه المدة بلغت 4.15 يوماً عند تربية المفترس على نوع المن *D. noxia*، وتكون المدة أطول أيضاً عند تغذية اليرقات على فرائس غير مناسبة. تختلف مدة حياة الحشرة الكاملة باختلاف الظروف البيئية ونوع الفريسة، حيث ذكر El-Hag و Zaitoon (1996) أن مدة حياة الحشرة الكاملة للمفترس تراوحت بين 70-73 يوماً عند تربية المفترس على من

الملفوف *B. brassicae* على درجة حرارة 25 س في السعودية، وبين Mandour (2013) أن مدّة حياة الحشرة الكاملة للمفترس (الأنثى) بلغت 42 يوماً وللذكر 30 يوماً عند التربية على مَن القطن *A. gossypii*، وانخفضت هذه المدّة إلى 28 يوماً لإناث المفترس و22 يوماً للذكور عند التربية على حشرة مَن الملفوف عند درجة حرارة 25 س في مصر.

يختلف عدد الأجيال باختلاف الظروف البيئية ونوع الفريسة والتباينات الجغرافية، حيث أوضح Wang وزملاؤه (1984) أن للمفترس *H. variegata* المربى على مَن الدراق الأخضر *M. persicae* و مَن القمح *Schizaphis graminum* و *R. maidis* ثلاثة أجيال سنوياً في الصين، وذكر Kontodimas و Stathas (2005) أن للمفترس سبعة أجيال سنوياً في اليونان عند التغذية على مَن الزعرور والجزر *Dysaphis crataegi*. ويمضي المفترس فصل الشتاء بطور الحشرة الكاملة على شكل مجموعات صغيرة في البقايا النباتية وداخل النباتات العشبية (Hodek، 1973).

9.1. الغذاء

تختلف كمية الغذاء التي تستهلكها الحشرة الواحدة من حشرات أبي العيد من نوع لآخر، كما تختلف من طور لآخر، وتختلف أيضاً بحسب نوع الفريسة وحسب النبات العائل للفريسة، وأشار Hodek (1996) إلى وجود أنماط مختلفة من الفرائس لحشرات أبي العيد المفترسة للمَن، النمط الأول ويشمل الفرائس المناسبة (Suitable prey) والتي تمكّن اليرقة من متابعة نموها وتطورها وبالتالي الحصول على أفراد كاملة ذات خصوبة مرتفعة، كما تمكن الأفراد الكاملة من تخزين الطاقة اللازمة لعملية البيات الشتوي. والنمط الثاني من الفرائس هو الفرائس غير المناسبة (Unsuitable Prey) التي تضم الأنواع السامة (Toxic Species) ويمكن أن تُقبل كفريسة أو قد تُرفض. وأشار Hodek (1996) إلى أن بعض الفرائس غير المناسبة قد يختارها المفترس ولكنها تكون غير صالحة لنمو وتطور اليرقات وتؤثر سلباً في عملية وضع البيض للحشرات الكاملة، وبين Michaud (2005) أن الفريسة قد تكون مناسبة لنمو وتطور اليرقات وغير مناسبة للحشرة الكاملة وعملية وضع البيض.

توجد بعض الأنواع من حشرات المَن تكون حادة السمية لحشرات أبي العيد مثل حشرة مَن الدفلة *Aphis nerii* والتي تتغذى على نبات *Nerium oleander*، وبعضها تكون بطيئة السمية (Gradual Poisoning) يظهر تأثيرها في المراحل اللاحقة من حياة أبي العيد مثل حشرة المَن الأسود *Aphis sambuci* (Iperti، 1966)، ووجد Mandour (2013) في دراسة أجراها عند تربية المفترس *H. variegata* على أنواع مختلفة من حشرات المَن أن جميع أفراد المفترس تطورت وتكاثرت بنجاح على جميع الفرائس باستثناء نوع المَن *A. nerii*. حيث تسبب هذا الأخير في ارتفاع معدل الموت (>90%) للأطوار غير الكاملة، وقد يعزى ارتفاع معدل الوفيات إلى وجود قلويدات (alkaloids) عند حشرة المَن *A. nerii*، حيث تم تسجيل نتائج مماثلة عند تغذية المفترس *Coccinella transversalis* على هذا النوع من المَن (Bridges وزملاؤه، 2002؛ James و Omkar، 2004).

10.1. تأثير نوع الفريسة المستخدمة في التربية في الخصائص الحيوية للمفترس

تؤثر الفريسة المستخدمة في عملية التربية بشكل فعال في معظم المؤشرات الحيوية لمفترسات أبي العيد، حيث تعد العلاقة بين المفترس والعائل معقدة جداً وتؤثر عملية تربية المفترس على عوامل غير أساسية في الكثير من المؤشرات الحيوية للمفترس (Mandour، 2009؛ Sarhan وزملاؤه، 2011).

1.10.1. تأثير نوع الفريسة في تطور المفترس

أوضح Sarhan وزملاؤه (2011) أن دورة حياة المفترس *H. variegata* اختلفت باختلاف الفريسة المستخدمة في عملية التربية حيث استغرق المفترس 14.74 يوماً لإتمام طوري اليرقة والعذراء عندما قُدمت له حشرة المَن *A. craccivora* كفريسة وزادت هذه المدة بشكل معنوي عند التربية على *H. pruni* أو *R. padi*. بين Mandour (2009) في نتائج الدراسة المخبرية التي أُجريت لمعرفة تأثير خمسة أنواع من حشرات المَن (*A. fabae*، *A. gossypii*، *A. nerii*، *B. brassicae*، *Macrosiphum euphorbiae*) على تطور المفترس *H. variegata* موت معظم الأفراد التي تغذت على *A. nerii* في مرحلة الأطوار غير الكاملة، وتفوقت أفراد المفترس المرباة على حشرة مَن القطن *A. gossypii* معنوياً على الأفراد المرباة على أنواع حشرات

المنّ الأخرى، حيث سُجلت أقل مدّة تطور كلية 14.88 يوماً عند التربية على حشرة منّ القطن، في حين كانت أطول مدّة تطور كلية 17.62 يوماً عند تربية أفراد المفترس على حشرة منّ الملفوف *B. brassicae*.

2.10.1. تأثير نوع الفريسة في الخصوبة

وجد Pervez وزملاؤه (2020) عند تربية المفترس *H. variegata* على ستة أنواع من حشرات المنّ (*Uroleucon compositae*، *M. persicae*، *Lipaphis erysimi*، *B. brassicae*، *A. gossypii*)، أن مدّة وضع البيض عند إناث المفترس تختلف بشدة باختلاف العائل وبلغت 56.30 يوماً عند التربية على حشرة منّ القطن *A. gossypii* في حين بلغت 33.00 يوماً عند التربية على حشرة منّ الخردل *L. erysimi*، كما بيّنت الدراسة أن الخصوبة الكلية والخصوبة الحقيقية للمفترس *H. variegata* اختلفت بشدة باختلاف الفريسة المستخدمة في عملية التربية، حيث تفوقت إناث المفترس المرباة على حشرة منّ القطن *A. gossypii* في معدل الخصوبة الكلية 1210.8 بيضة/أنثى/مدى الحياة على الإناث المرباة على حشرات المنّ الأخرى.

كما بيّن Mandour (2013) أن معدل وضع البيض اليومي ارتفع بشكل معنوي عند الانتقال من تربية المفترس *H. variegata* على حشرة منّ الملفوف *B. brassicae* إلى التربية على حشرة منّ الفول *A. fabae* من 19.14 إلى 26.42 بيضة/أنثى/اليوم.

3.10.1. تأثير نوع الفريسة في الكفاءة الافتراضية للمفترس

تختلف الكفاءة الافتراضية للمفترس باختلاف نوع الفريسة، حيث بيّن Sarhan وزملاؤه (2011) أن أفراد المفترس *H. variegata* استهلكوا عند التربية على حشرة المنّ *A. craccivora* خلال كامل طورها اليرقي 256.13 حورية وعند التربية على حشرة المنّ *H. pruni* استهلكوا 549.53 حورية وذلك على حرارة 25 ± 1 م°، كما وجد Farhadi وزملاؤه (2011) عند دراسة هذا المفترس على حشرة منّ الفول *A. fabae* أن إناث المفترس استهلكوا 2140.62 حورية/مدى الحياة، والذكور استهلكوا 970.10 حورية/مدى الحياة، بينما وجد Mandour (2013) أن إناث نفس المفترس عند تربيتها على حشرة المنّ *M. euphorbiae* استهلكوا

3165.87 حورية/مدى الحياة، وارتفع الاستهلاك إلى 3603.47 حورية/مدى الحياة عند التربية على حشرة من القطن *A. gossypii*.

11.1. التعددية الشكلية للمفترس *H. variegata*

التعددية الشكلية Polymorphism هي من السمات الرئيسية التي تميز الكائنات الحية عن بعضها البعض. وتُعرف التعددية الشكلية بأنها ظاهرة يتم فيها إنتاج نمطين شكليين أو أكثر ضمن أفراد النوع الواحد التي تعيش ضمن مجتمعات محددة (Khormizi وزملاؤه، 2013)، ومن بين أفضل الأمثلة لأنماط التعددية الشكلية وظيفياً وبيئياً هو تعدد الأشكال اللونية ضمن أفراد النوع الواحد، حيث إنها تؤثر بشكل مختلف في تكيفات الأفراد في مجتمعاتها، كما يُعدُّ تعدد الأشكال اللونية عاملاً مهماً للحماية من الأعداء الطبيعية عند العديد من الكائنات الحية (Komarek، 2003)، وقد تأخذ الأشكال اللونية عند بعض الأنواع سلوك التمويه حيث يصبح من الصعب على الحيوانات المفترسة تحديد موقعها، وتمت الإشارة إلى سلوك التمويه للحد من مخاطر الحيوانات المفترسة عند الفقاريات واللافقاريات (Hoekstra و Nachman، 2003؛ Petranks، وزملاؤه، 1998). إن ظاهرة تعدد الأشكال لدى الكائنات الحية أدت إلى وجود سمات خاصة بين أفراد النوع الواحد (Caillaud و Losey، 2010)، حيث يمكن أن تؤدي ظاهرة تعدد الأشكال إلى تنشيط فرصة زيادة أعداد الكائن الحي عن طريق ضبط حرارة الجسم في الوسط الذي يعيش فيه (De-Jong و Brackenfield، 1998؛ Forsman، 1999؛ Forsman وزملاؤه، 2002).

تتواجد التعددية الشكلية لدى مجموعة كبيرة من الحشرات، منها الرعاشات (Cordero) odanata، (1990؛ Andres و Cordero، 1999)، والمن aphids (Weber، 1985؛ Tomiuk وزملاؤه، 1990)، والذباب Diptera (Matena، 1995؛ Rohacek و Barber، 2005؛ Schonrogge وزملاؤه، 2006)، وحرشفيات الأجنحة Lepidoptera (Zhang، 2004؛ Ji وزملاؤه، 2005)، والنمل ants (Higashi و Peeters، 1990)، والنحل Bees (Erkan وزملاؤه، 2012)، ولدى الدعسوقيات (Jiggins و Tinsley، 2005؛ Blehman، 2007؛ Zare وزملاؤه، 2012؛ Michie وزملاؤه، 2010).

تُعدُّ دراسات التعددية الشكلية من الدراسات المهمة كونها توفر دليلاً واضحاً على التفاعل بين العوامل البيئية وخصائص الكائنات الحية على المستوى العضوي (Honek وزملاؤه، 2012). ولدراسة التباينات الشكلية لدى خنافس أبي العيد أهمية كبيرة، بخاصة الدراسات المتعلقة بتعدد الأشكال في اللون ونمط البقع وتوزعها على السطح الظهري للرأس والدريع والأعماد (Blehman، 2007؛ Rogers وزملاؤه، 1971)، حيث يختلف النمط الموجود على الأعماد من حيث اللون الأساسي وعدد البقع وحجمها وشكلها وتوزعها، ووُجد أن أفراد خنافس أبي العيد التي تتميز باللون الداكن (وفرة في الميلانين في الجلد) تكون أكثر مقاومة للظروف البيئية من الأفراد ذات اللون الباهت (قلة في الميلانين) في المناطق الباردة والرطبة، وتكون الأفراد ذات اللون الداكن قادرة على زيادة درجة حرارة أجسامها بشكل أسرع عندما يكون الطقس بارداً وغائماً، ما يؤدي إلى زيادة نشاط الحشرة وارتفاع كفاءتها التناسلية (Brakefield و Willmer، 1985؛ De-Jong و Brackenfield، 1998).

بعض خنافس أبي العيد لها ألوان زاهية وهذه الألوان هي إشارة تحذير موجهة لأعدائها الطبيعيين (Edmunds، 1974)، كما أن لدى خنافس أبي العيد أنماط منقطة مختلفة، وتختلف هذه الأنماط باختلاف الأفراد، وتعد تعددية الألوان النمط الأكثر شيوعاً التي تستخدمها الحشرات لمنع اعدائها الطبيعية من مهاجمتها، ونذكر من هذه الألوان اللون الأحمر الساطع والبرتقالي والأصفر، وبيّن Dolenska وزملاؤه (2009) أن خنافس أبي العيد ذات النمط المنقط تعرضت للهجوم بشكل أقل من الخنافس غير المنقطة أو التي أُزيلت أعمادها، وقد أوضح Zakharov (2003) و Brakefield (1985) أن التعددية الشكلية عند الكائنات الحية ترتبط إما بالعوامل المناخية وإما بسلوك التمويه للاختباء من الحيوانات المفترسة.

تتميز أفراد المفترس *H. variegata* بتعدد الأشكال فيما بينها، ويلعب التوزع الجغرافي دوراً أساسياً في نسبة التعددية الشكلية ضمن أفراد المجتمعات المحلية (Honek وزملاؤه، 2012)، حيث وُجد في المنطقة القطبية الشمالية الغربية (Western Palearctic) أن الأشكال السائدة تفتقر إلى البقع المتجمعة، على عكس المنطقة القطبية الشمالية الشرقية (Eastern Palaearctic) حيث تكون الأشكال السائدة داكنة (وفرة في الميلانين) مع نقاط متجمعة.

بيّنت الدراسات التي أُجريت على التعددية الشكلية للمفترس *H. variegata* وجود مجموعة متنوعة من الأشكال تختلف عن بعضها البعض، فقد بينت الدراسة التي أُجريت خلال المدة 1937-2011 من قِبَل Honek وزملاؤه (2012) وجود 22 شكلاً للدعسوقة في الجزء الأوسط من أوروبا وسلوفاكيا، كما سُجلت ظاهرة التعددية الشكلية للدعسوقة *H. variegata* في أوروبا الوسطى، وأمريكا الشمالية، والجزء الأوسط من أفريقيا والهند (Honek، 1985؛ Nedved، 1999). أشار Khormizi وزملاؤه (2013) إلى وجود أربعة أشكال للمفترس في مقاطعة محرز (محافظة يزد في إيران)، كما تم تسجيل 12 شكلاً للمفترس في محافظة لرستان في إيران (Biranvand وزملاؤه، 2013). في دراسة أخرى بين Biranvand و Shakarami (2015) وجود 18 شكلاً للمفترس في منطقة شيجيني (محافظة لرستان في إيران).

12.1. التوصيف الجزيئي

تعد التباينات الشكلية من المعايير الأولى التي استُخدمت في عملية التوصيف والتصنيف ودراسة الاختلافات بين وضمن النوع الواحد من جهة وبين الأنواع المختلفة من جهة أخرى، إلا أنه في الآونة الأخيرة وفي ظل التطور المتسارع في علم التقانات الحيوية، اكتُشفت معايير ومؤشرات أكثر دقة يمكنها تحقيق هذا الهدف وتطويره أهمها دراسة التنوع الوراثي باستخدام المعلومات الجزيئية Molecular Marker التي تستند على معلومات مأخوذة من جزيئة الحمض النووي الريبسي منقوص الأوكسجين DNA والتي سمحت بالتمييز ما بين فردين محددين (Weising وزملاؤه، 1995).

أدى تطور التقانات الحيوية إلى ظهور عدد كبير من المعلومات الجزيئية المهمة التي تتباين في نوع ومستوى المعلومات التي تزودنا بها والتي يُعتمد عليها في إنشاء خرائط الارتباط الوراثي ومن أهمها:

• التعددية الشكلية لـ DNA المضخم عشوائياً (RAPD):

Random Amplified Polymorphic DNA

• تكراريات التسلسلات البسيطة (SSR):

Simple Sequence Repeats OR Microsatellites

- بين تكراريات التسلسلات البسيطة (ISSR):

Inter Simple Sequence Repeats

- التعددية الشكلية لقطع الـ DNA المهضومة بأنزيمات التقييد والمضخمة AFLPs:

Amplified Fragment Length Polymorphic DNA

- تقنية Sequence-related Amplified polymorphism (SRAP)

استخدمت تقنية SRAP لأول مرة عام 1989 من قبل الباحث Haliassos وزملاؤه وطورت من قبل

الباحثين Li و Quiros عام 2001، تستهدف هذه التقنية مناطق الترميز المتداخلة (overlapping coding)

والمناطق غير المشفرة للجينوم، وبالمقارنة مع المعلومات الجزيئية الأخرى، فإن تقنية SRAP ذات كفاءة أعلى

في تضخيم مناطق إطارات القراءة المفتوحة (ORF) وبالتالي إظهار التباينات الوراثية التي تعكس بشكل فعلي

الاختلاف في السمات المورفولوجية التي تميز الأنماط الشكلية المختلفة (Ferriol وزملاؤه، 2003).

تتميز تقنية SRAP بقدرتها على مضاعفة المناطق الفاصلة بين مورثات الكائن المستهدف والمناطق

المحيطة بها غير المشفرة، بالإضافة إلى قدرتها على مضاعفة مورثات محددة تعطي معلومات وراثية أوسع عن

الكائن المستهدف عند إجراء التسلسل النيكليوتيدي لها (Yu وزملاؤه، 2008). تتفوق تقنية SRAP على تقنية

SSR بعدم الحاجة لتوفر معلومات واسعة عن تسلسل جينوم الكائن الحي (Li وزملاؤه، 2014).

تعتمد هذه التقنية على تقانة Polymerase Chain Reaction (PCR)، ولا تحتاج إلى كمية كبيرة

من الحمض النووي المنقوص الأوكسجين DNA، غير مكلفة، بسيطة وتعطي مستويات عالية من التعددية

الشكلية للحمض النووي DNA، وكذلك تعطي معلومات أكثر عند مقارنتها مع التقنيات الأخرى

SRAP, RAPD, AFLP. (Ferriol وزملاؤه، 2003؛ Budak وزملاؤه، 2004b)، وتستخدم كمعلم جزيئي

في دراسة التنوع الوراثي، كما أن هذه التقنية تساعدنا في رسم الخرائط الوراثية وتحديد مواقع المورثات وكذلك

دراسة العلاقات الوراثية بين تحت المجتمعات (Sub-populations) من النوع الواحد (Ferriol وزملاؤه،

2003؛ Li و Quiros، 2001). ويبين (الجدول 2) مزايا وعيوب تقانة SRAP ومقارنتها مع مزايا وعيوب

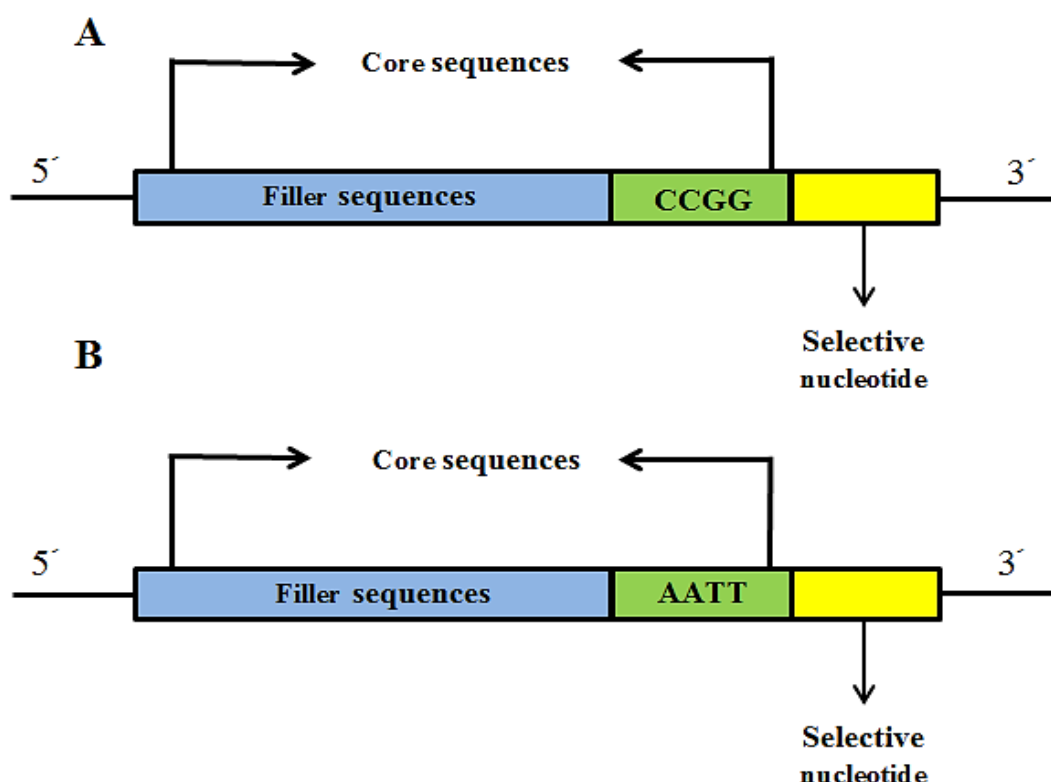
بعض التقانات الأخرى الأكثر استخداماً (Nadeem وزملاؤه، 2017؛ Robarts و Wolfe، 2014).

جدول 2. مقارنة بين مزايا وعيوب بعض التقانات الحيوية الأكثر استخداماً

المرجع	العيوب	المزايا	التقانة
Nadeem وزملاؤه، 2017	- مكلفة - تحتاج DNA نقي - تستغرق وقت طويل - تحتاج كمية كبيرة من DNA	- Co-dominant - لا تحتاج إلى معرفة تسلسل الحمض النووي DNA	RFLP
Nadeem وزملاؤه، 2017 Robarts و Wolfe، 2014	- Dominant - تحتاج DNA عالي النقاوة - صعوبة تكرارها - عشوائية	- سهولة الاستخدام - تحتاج كمية قليلة من DNA - تعطي مستويات عالية من التعددية الشكلية	RAPD
Nadeem وزملاؤه، 2017	- Dominant - تحتاج DNA عالي النقاوة - تحتاج كمية كبيرة من DNA	- موثوقة - يمكن تكرارها - تعطي معلومات وراثية واسعة عن الكائن المستهدف	AFLP
Nadeem وزملاؤه، 2017	- مكلفة من حيث تصميم البادئ - تحتاج إلى معرفة مسبقة بتسلسل الـ DNA	- Co-dominant - تحتاج كمية قليلة من DNA - يمكن تكرارها	SSR
Nadeem وزملاؤه، 2017 Robarts و Wolfe، 2014	- Dominant - صعوبة تكرارها - تحتاج DNA نقي	- تعطي مستويات عالية من التعددية الشكلية - بسيطة، سهولة الاستخدام - لا تحتاج إلى معرفة تسلسل الـ DNA.	ISSR
Nadeem وزملاؤه، 2017 Robarts و Wolfe، 2014	- Dominant	- موثوقة، بسيطة - لا تحتاج إلى توفر معلومات واسعة عن جينوم الكائن الحي - لا تحتاج إلى كمية كبيرة من DNA.	SRAP

تستخدم تقنية SRAP مجموعة من أزواج البادئات (بادئ أمامي Forward primer وبادئ عكسي Reverse primer)، البادئ الأمامي يتألف عادةً من 17 نيكليوتيداً، يحتوي على منطقة تسمى المنطقة المركزية (Core sequences) والتي تتألف من 14 نيكليوتيد، حيث إن أول 10 نيكليوتيدات والتي تبدأ عند النهاية 5' هي عبارة عن تسلسلات نكليوتيدية غير محددة تدعى Filler sequences ويتبعها التسلسل

CCGG، يلي المنطقة المركزية عند النهاية 3' ثلاثة نيكليوتيدات انتقائية، إن الاختلاف في هذه النيكليوتيدات الثلاثة الانتقائية يولد مجموعة من البادئات التي تشترك في نفس المنطقة المركزية، أما البادئ العكسي فيتألف عادة من 18 نيكليوتيداً، وتتألف المنطقة المركزية من 15 نيكليوتيد، حيث إن أول 11 نيكليوتيد والتي تبدأ عند النهاية 5' هي عبارة عن تسلسلات نيكليوتيدية غير محددة وهي مختلفة عن التسلسل النيكليوتيدي غير المحدد في البادئ الأمامي ويتبعها التسلسل AATT، يلي المنطقة المركزية عند النهاية 3' ثلاثة نيكليوتيدات انتقائية كما هو موضح في (الشكل 8). إن القواعد الأساسية في بنية البادئات الأمامية والعكسية هي عدم تشكيلها لـ hairpins أو التراكيب الثانوية الأخرى، وأن يكون محتواها من CG بين 40-50%. بالإضافة إلى ذلك يجب أن تكون التسلسلات النيكليوتيدية غير المحددة Filler sequences للبادئ الأمامي والعكسي مختلفة عن بعضها البعض، ويمكن أن تكون بطول 10 أو 11 نيكليوتيد (Li و Quiros، 2001).



شكل 8. تصميم البادئ في تقنية SRAP، A البادئ الأمامي، B البادئ العكسي. (Li وزملاؤه، 2014)

إن الهدف من استخدام التسلسل CCGG في البادئ الأمامي هو استهداف المناطق الغنية بـ C و G (exonic regions) في مناطق إطارات القراءة المفتوحة (ORF)، أما الهدف من استخدام التسلسل AATT بالقرب من النهاية 3' في البادئ العكسي هو استهداف المناطق الغنية بـ A و T والتي توجد بشكل متكرر في الإنترونات و Promoter ، ونظراً لأن الإنترونات وال Promoter والمسافات spacers عادةً ما تكون متباينة بين الأفراد المختلفين، فإن هذا الاختلاف الجوهرى يجعل من الممكن الحصول على حزم متعددة شكلياً بالاعتماد على الإكزونات والإنترونات (Li و Quiros، 2001)، وبالتالي تحديد العلاقة بين التعددية الشكلية للحمض النووي DNA والصفات المورفولوجية للطرز المختلفة (Ferriol وزملاؤه، 2003).

يرتبط حجم البادئ بشكل كبير بنجاح عملية التضخيم باستخدام تقنية SRAP، ومن أجل ذلك فمن الضروري عند اختيار البادئات أن تكون بطول 17-18 زوجاً قاعدياً، لأن البادئات القصيرة جداً تنتج عدداً كبيراً من الحزم المضخمة التي لا تعكس التعددية الشكلية الحقيقية، على عكس البادئات الطويلة جداً التي تسبب ظهور لطخ بدلاً من الحزم (Li وزملاؤه، 2014).

تعتمد تقانة SRAP على تفاعل البلمرة التسلسلي PCR، حيث تكون درجة حرارة الالتحام الأولية للدورات الخمس الأولى 35 درجة مئوية، إن الهدف من استخدام هذه الدرجة هو أن التحام البادئ مع قالب الحمض النووي يعتمد على مستوى التطابق لكلا التسلسلين، ويتم تحديد كفاءة التضخيم من خلال فعالية التحام البادئ، تضمن درجة حرارة الالتحام الأولية المنخفضة التحام كلا البادئين بالمواقع المتطابقة للحمض النووي الهدف، يتم بعد ذلك زيادة درجة حرارة الالتحام للدورات الـ 35 التالية إلى 50 درجة مئوية، يضمن هذا التغيير في درجة الحرارة أن منتجات الـ DNA التي تم تضخيمها في الدورات الخمس الأولى قد تم تضخيمها بكفاءة وثبات بطريقة أسية خلال بقية الدورات (Li و Quiros، 2001). يتم إجراء عملية التضخيم باستخدام أحد البرنامجين الحراريين التاليين، الأول مدته 130 دقيقة يتضمن دورة واحدة بدرجة حرارة (94) درجة مئوية ولمدة خمس دقائق ليتم انفصال سلسلتي الحمض النووي DNA، يليها خمس دورات كل دورة تتضمن ما يلي، فصل سلسلة DNA المزدوجة على حرارة (94) درجة مئوية ولمدة دقيقة واحدة، الالتحام على حرارة (35) درجة مئوية

ولمدة دقيقة واحدة، الاستطالة على حرارة (72) درجة مئوية ولمدة دقيقة واحدة، يليها (35) دورة إضافية مع زيادة درجة حرارة الالتحام إلى 50 درجة مئوية، ومن ثم استطالة نهائية ولدورة واحدة عند حرارة (72) درجة مئوية ولمدة 5 دقائق (Li و Quiros، 2001). أما البرنامج الحراري الثاني يتضمن جميع المراحل السابقة باستثناء أن درجة حرارة الالتحام تكون دائماً ثابتة عند (47) درجة مئوية (Budak وزملاؤه، 2004a).

يتم فصل نواتج التضخيم على هلامة الأغاروز بتركيز 1.5-2.5% والمضاف إليها صبغة Ethidium bromide باستخدام جهاز الرحلان الكهربائي (80-100 فولت لمدة 30 دقيقة) ضمن محلول الرحلان الكهربائي TBE 0.5X، وتوثق نتائج الرحلان باستخدام جهاز توثيق الهلامة Gel Documentation System. كما يمكن فصل نواتج التضخيم باستخدام هلامة البولي أكريلاميد بتركيز 6% باستخدام جهاز الرحلان الكهربائي (يتم تشغيل الجهاز مسبقاً قبل تحميل العينات عند 90 فولت لمدة 30 دقيقة ودرجة حرارة ثابتة 20 درجة مئوية) ضمن محلول الرحلان الكهربائي TBE 1X، ومن ثم يُشغل جهاز الرحلان الكهربائي عند 90 فولت وعلى حرارة ثابتة 20 درجة مئوية لمدة 3-4 ساعات.

استُخدمت تقنية SRAP على نطاق واسع في دراسة التنوع الوراثي ورسم الخرائط الوراثية لكثير من النباتات كالقطن (*Gossypium arboreum* Li وزملاؤه، 2007)، والخيار (*Cucumis sativus* Zhang وزملاؤه، 2010)، كما استخدمت على الأعشاب مثل عشبة (*Pennisetum purpureum* Xie وزملاؤه، 2009)، والبرسيم (*Medicago sativa* spp Castonguay وزملاؤه، 2010). كما تم استخدامها ضمن برامج تربية وتهجين النباتات وذلك لاختيار الأصول الوراثية للآباء للعديد من النباتات، مثل أشجار الحمضيات (Gulsen وزملاؤه، 2010)، واللوتس (Deng وزملاؤه، 2013). طبقت أيضاً على فطريات (*Ganoderma* Sun وزملاؤه، 2006)، وفطريات (*Auricularia* Yu وزملاؤه، 2008).

كما تم استخدام هذه التقنية في دراسة التنوع الوراثي لمجموعة من الطفيليات التي تصيب الإنسان والحيوان، مثل (*Fasciola* Li وزملاؤه، 2009)، و (*Schistosoma japonicum* Song وزملاؤه، 2011)، ولمجموعة من النيما تودا الممرضة للحشرات (Steinernematidae)، وأظهرت النتائج باستخدام 12 زوجاً من

البيانات أن عدد الحزم المتعددة شكلياً كان مرتفعاً 97 حزمة متعددة شكلياً من أصل 107 حزم، وبلغت نسبة التعددية الشكلية 90.6%، وخُصت الدراسة إلى كفاءة تقنية SRAP في الكشف عن التباينات الوراثية بين أنواع النيماتودا المدروسة، وتحديد النمط الوراثي الأنسب لاستخدامه في برامج مكافحة الحيوية مستقبلاً (Abd ElAzim وزملاؤه، 2019).

إن استخدام تقنية SRAP في مجال دراسة التنوع الوراثي للحشرات يعد قليلاً، وقد قام Lin وزملاؤه (2009) بدراسة التنوع الوراثي لعشرة أنماط للمفترس *Harmonia axyridis* باستخدام تقنية SRAP حيث استخدم 72 زوجاً من البادئات، نجح منها عشرة أزواج، أعطت 175 حزمة مضخمة منها 133 حزمة كانت متعددة شكلياً وبلغت نسبة التعددية الشكلية 76.04 %. وأظهرت شجرة القرابة الوراثية ارتباطاً وثيقاً بين التوزع الجغرافي ولون وشكل البقع لبعض أنماط المفترس *H. axyridis* والتي تتوافق مع التصنيف المورفولوجي.

الفصل الثاني

مواد وطرائق العمل

2. مواد وطرائق العمل

تُنفذ الدراسة خلال المدّة بين عامي 2015 - 2020 في مركز بحوث ودراسات مكافحة الحيوية (BSCRC)، وفي مخبر التقانات الحيوية- قسم المحاصيل الحقلية - كلية الزراعة -جامعة دمشق.

1.2. إعداد مستعمرات الفريستين المستخدمتين في الدراسة

تم زراعة نبات الفول *Vicia faba* L ونبات الملفوف *Brassica oleracea* var. *capitata* L في المزرعة البحثية التابعة لمركز بحوث ودراسات مكافحة الحيوية، وتمت مراقبتها حتى حدوث الإصابة بحشرة مَنّ الفول *Aphis fabae* Scop وحشرة مَنّ الملفوف *Brevicoryne brassicae* L (الشكل 9)، كما تمت زراعة نبات الفول ونبات الملفوف في أصص من البلاستيك بقطر 20 سم تحتوي على تراب ورمل وتورب بنسبة (1:1:1) (الشكل 10)، نُقلت الأصص إلى غرفة التربية في مخبر بحوث المفترسات ووضع كل أصيص ضمن صندوق تربية قياس (60×50×50 سم) مصنوع من مادة البلكسي غلاس الشفافة والمزود بباب وبفتحتي تهوية على الجانبين مغطاة بشبك ناعم لمنع هروب حشرات المَنّ، وذلك تحت ظروف متحكم بها (25±1 °C و RH 65%±5 و L:D 16:8)، وبعد حوالي أسبوعين من الزراعة أي حتى وصول البادرات إلى طول 10 سم تقريباً أُجريت عدوى لنباتات الفول الفتية بحشرات مَنّ الفول *A.fabae* ولنباتات الملفوف بحشرة مَنّ الملفوف *B. brassicae* والتي تم جمعها من المزرعة البحثية سابقة الذكر (الشكل 11).



شكل 9. زراعة نبات الفول في المزرعة البحثية



شكل 10. زراعة نبات الفول ونبات الملفوف في الأصص



شكل 11. وضع الأصص في غرفة التربية في مخبر بحوث المفترسات

2.2. تربية المفترس

جُمعت أفراد المفترس *H. variegata* بطور الحشرة الكاملة (ذكور وإناث) من نباتات الفول المصابة بمنّ الفول *A.fabae* من المزرعة البحثية التابعة لمركز بحوث ودراسات مكافحة الحيوية - كلية الزراعة - جامعة دمشق، وتمت تربيتة على الفرائس السابقة (منّ الفول ومنّ الملفوف) في مخبر بحوث المفترسات تحت ظروف متحكم بها ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ و $65\% \pm 5$ RH و L:D 16:8)، وذلك ضمن صناديق تربية قياس (30×30×30 سم) مصنوعة من مادة البلكسي غلاس الشفافة والمزودة بباب وبفتحتي تهوية على الجانبين مغطاة بشبك ناعم. تم تزويد صناديق التربية بأعداد وفيرة من حشرة منّ الفول على أفرع نبات الفول وحشرة منّ الملفوف على أوراق نبات الملفوف لتغذية المفترس، حيث تم وضع قطعة من القطن الطبي المشبعة بالماء في أعناق أفرع وأوراق النباتات المضيفة، استبدلت النباتات المضيفة بأخرى جديدة عند الضرورة، وتركت أفراد

المفترس لتتكاثر (الشكل 12). تمت التربية لجيلين مخبريين حتى الحصول على أعداد كافية من الحشرات البالغة للمفترس لإجراء الاختبارات اللازمة.



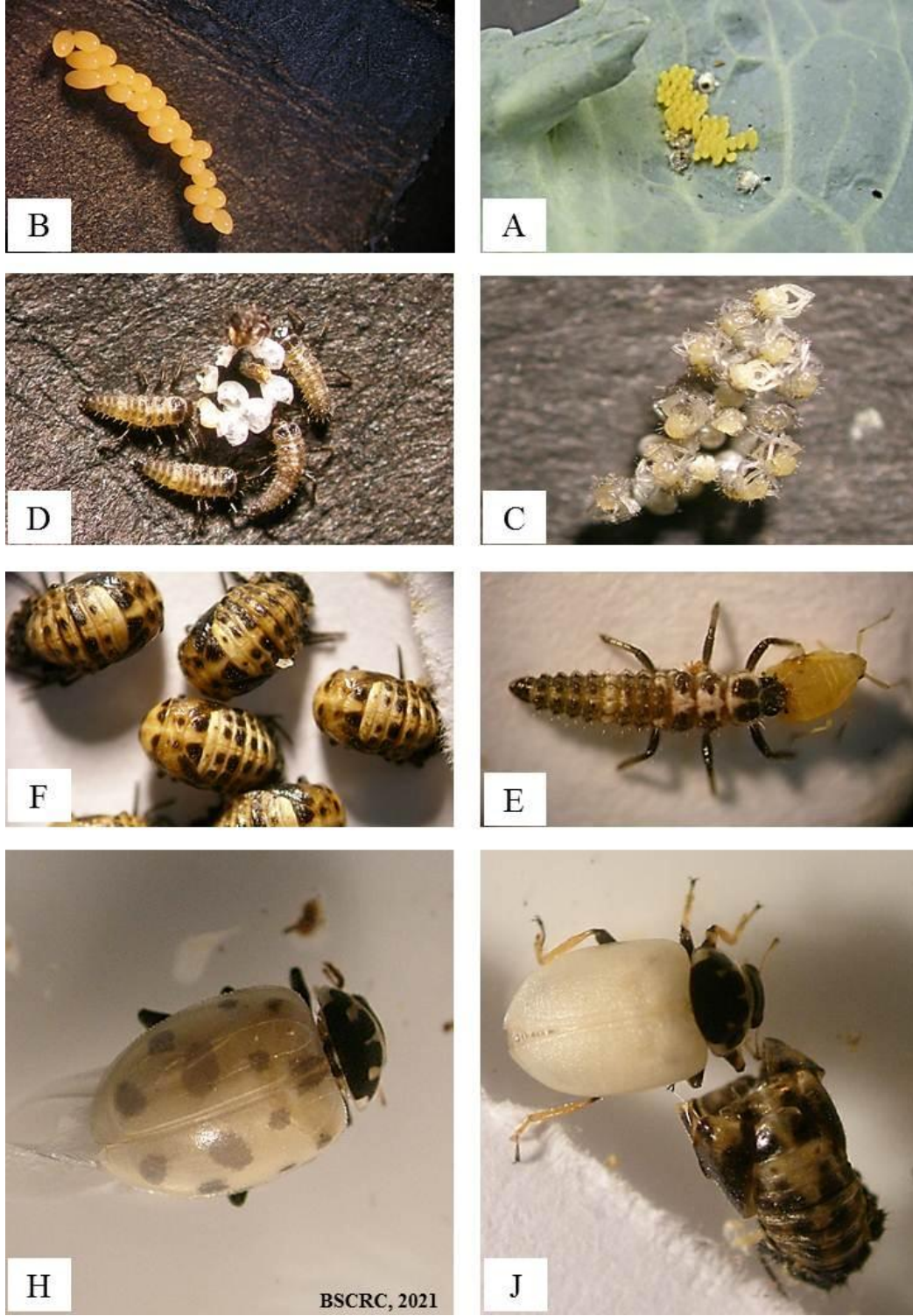
شكل 12. تربية المفترس ضمن صناديق التربية، A- على مَن الفول، B- على مَن الملفوف

3.2. دراسة مدة تطور المفترس ومعدل بقاء أطواره غير الكاملة عند التربية على الفريستين

نُفذت هذه الدراسة تحت ظروف مخبرية متحكم بها ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ و $65\% \pm 5$ RH و L:D 16:8)، واستُخدمت حوريات المَن من النوعين في العمر الثالث كفريسة (Mandour وزملاؤه، 2006)، وذلك لتفادي إعادة إنتاج الحوريات من الحشرات البالغة لحشرات المَن مما يؤثر سلباً على التجربة. جُمع بيض المفترس الموضوع حديثاً (أقل من 24 ساعة) من قبل الحشرات الكاملة للجيل المخبري الثاني المرباة على كل من الفريستين، تم وضع البيض على ورق ترشيح رطب في طبق بتري (1×9 سم) بمعدل 10 بيوض ضمن الطبق الواحد، نُفذت هذه التجربة باستخدام 5 مكررات لكل فريسة، وخلال ساعتين من فقس البيض نقلت كل يرقة بالعمر الأول إلى طبق زجاجي قياس (2×14) سم، وضعت لصاقة صغيرة على كل طبق كتب عليها رقم المكرر، وتاريخ وضع البيض، ونوع الفريسة المستخدمة في تربية الآباء. تمت المراقبة اليومية للبيض وتزويد الأطباق بكمية كافية من الغذاء المناسب (مَن الفول أو مَن الملفوف) وذلك بدءاً من اليوم الثاني لتاريخ وضع

البيض، حيث تم تقديم عدد من حوريات المَنّ يختلف باختلاف العمر اليرقي للمفترس حيث قدم 50 – 75 – 150 – 250 حورية (فريسة) ليرقات المفترس من العمر الأول فالثاني فالثالث فالرابع على التوالي (Mandour وزملاؤه، 2006). تم تبديل العائل النباتي القديم غير الصالح بعائل نباتي جديد يحمل حوريات من العمر الثالث حتى تحول يرقات المفترس إلى عذارى. تم تسجيل تاريخ الفقس وتاريخ كل انسلاخ مع إزالة جلد الانسلاخ القديم حتى التعذر ومن ثم تاريخ انبثاق الحشرة الكاملة. أجريت مقارنة تأثير نوع الفريسة في تطور المفترس بالنسبة للمكررات التي استمرت بالحياة واستطاعت الوصول لطور الحشرة الكاملة، وبيّن الشكل (13) الأطوار المختلفة للمفترس الناتجة عن التربية.

أُجريت تجربة أخرى لتسجيل معدل البقاء للأطوار غير الكاملة، حيث تم جمع 100 بيضة من الحشرات الكاملة للمفترس للجيل المخبري الثاني المرباة على كل من الفريستين، نُفذت هذه التجربة باستخدام 5 مكررات لكل فريسة، كل مكرر 20 بيضة، تم وضع البيض على ورق ترشيح رطب في طبق بتري (9×1 سم). تم فحص الأطباق يومياً حتى فقس البيض وسجل عدد البيض الحي والميت. نُقلت كل يرقة حديثة الفقس بلطف إلى طبق زجاجي (14×2 سم)، وزُودت اليرقات بحشرات المَنّ الموجودة على الأوراق أو الفروع. تمت مراقبة اليرقات يومياً وسُجل عدد اليرقات الحية والميتة وعدد العذارى الحية والميتة.



شكل 13. الأطوار المختلفة للمفترس الناتجة عن التربية.

A- بيض المفترس على نبات الملفوف، B- بيض المفترس على كرتون الكانسون، C- يرقات المفترس لحظة الانبثاق من طور البيضة، D- يرقات المفترس بالعمر الأول، E- يرقة المفترس بالعمر الثالث أثناء التغذية على حشرة من الملفوف، F- عذارى المفترس، J- الحشرة البالغة للمفترس لحظة خروجها من طور العذراء، H- الحشرة البالغة بعد عدة ساعات من خروجها من طور العذراء.

4.2. دراسة مراحل حياة الحشرة الكاملة (الأنثى) وقدرتها التكاثرية عند التربية على الفريستين

تمت الدراسة على أزواج حديثة الانبثاق (أقل من 24 ساعة) من الجيل المخبري الثاني الناتج عن التربية على كل من الفرائس المختلفة، حيث وضع كل زوج (ذكر + أنثى) والذي يمثل المكرر ضمن طبق زجاجي قياس (2×14) سم، وزُود هذا الطبق بـ 250 حورية من العمر الثالث من كل نوع من مختبر موجود على عائلته النباتي، إضافة إلى قطعة من كرتون الكانسون ذي اللون الأسود والمهيأة على شكل متعرج (zikzak)، حيث تُفضل إناث المفترس وضع البيض على السطح السفلي لكرتون الكانسون. وضعت لصاقة على كل طبق كتب عليها نوع الفريسة ورقم المكرر، تمت المراقبة بشكل يومي للمكررات وسجل تاريخ وضع أول بيضة وأخذت القراءات التي تمثل عدد البيض الموضوع يومياً وسجل تاريخ التوقف عن وضع البيض وتاريخ موت الأنثى وتم تبديل الغذاء بشكل يومي مع أخذ البيض الموضوع بعد عدّه لاستخدامه في حساب نسبة الفقس. نفذت هذه التجربة بعشرة مكررات لكل فريسة.

5.2. دراسة نسبة فقس البيض والخصوبة الحقيقية

وضع بيض المفترس الناتج عن تجارب الخصوبة ضمن أطباق بتري قياس (1×5) سم بمعدل 10 بويض ضمن الطبق الواحد الذي يمثل المكرر مع مراعاة أن تكون هذه البويض العشر ذات عمر واحد (موضوعة في اليوم ذاته من قبل الأنثى)، تمت المراقبة اليومية للبيض وتسجيل عدد البيض الفاقس وإزالة اليرقات الناتجة ونشرها في الحقل. نفذت هذه التجربة في 10 مكررات لكل فريسة.

تم حساب الخصوبة الحقيقية والتي تمثل عدد يرقات العمر الأول الناتجة عن أنثى واحدة خلال مدة حياتها من المعادلة التالية: الخصوبة الحقيقية = الخصوبة الكلية × نسبة فقس البيض (Hattingh و Samways، 1990).

6.2. دراسة المقدرة الافتراضية

يُعبّر مؤشر المقدرة الافتراضية عن عدد أفراد الفريسة المستهلكة من قبل فرد واحد من المفترس خلال 24 ساعة. ولإجراء هذه الدراسة كان من الضروري جمع حوريات المَنّ بأحجام متماثلة لتقديمها للمفترس، ولتحقيق

ذلك تم وضع 50 فرداً من حشرة مَنّ الفول على نبات فول واحد وكذلك وضع 50 فرداً من حشرة مَنّ الملفوف على نبات ملفوف واحد، وتركّت حتى تنتج ذرية جديدة، بعد يومين تم إزالة حشرات المَنّ البالغة والاحتفاظ بالحوريات المولودة تحت حرارة ثابتة 12 درجة مئوية، في اليوم الثالث تكون جميع حشرات المَنّ قد أصبحت حوريات إما بالعمر الثالث وإما بالعمر الرابع، ومن ثم تم استخدامها في دراسة المقدرة الافتراضية (Farhadi وزملاؤه، 2011).

1.6.2. دراسة المقدرة الافتراضية للطور اليرقي

وُضعت يرقات الجيل المخبري الثاني حديثة الفقس (عمر أول) ضمن أطباق بتري قياس (1×5) سم بمعدل يرقة ضمن كل طبق وأضيف لكل طبق 50 حورية مَنّ بالعمر الثالث والرابع، ووضعت لصاقة على كل طبق كُتب عليها نوع الفريسة المستخدمة في تربية الآباء (مَنّ فول - مَنّ ملفوف)، رقم المكرر، عمر اليرقة، عدد أفراد الفريسة المقدمة. أُخذت القراءة بعد مرور 24 ساعة حيث تمثل القراءة عدد حوريات المَنّ المُفترسة كلياً أو جزئياً خلال هذه المدة ضمن الطبق. كررت العملية بشكل يومي مع زيادة عدد أفراد الفريسة المقدمة مع تقدم اليرقة بالعمر حيث قدم 75 - 150 - 250 حورية (فريسة) ليرقات المفترس من العمر الثاني والثالث والرابع على التوالي وذلك حتى انسلاخ اليرقة ودخولها في العمر اليرقي التالي. نُفذت هذه التجربة في 10 مكررات لليرقات الناتجة عن التربية على كل من الفرائس المدروسة، حيث حُسب متوسط المقدرة الافتراضية اليومية لليرقات من المعادلة التالية: (Soares وزملاؤه، 2001).

$$DV = na \backslash fp$$

DV: المقدرة الافتراضية اليومية

na: العدد الكلي للفرائس المفترسة

fp: مدة الافتراس / يوم

2.6.2. دراسة المقدرة الافتراضية للحشرات الكاملة

نُفذت هذه التجربة على الحشرات الكاملة للجيل المخبري الثاني (ذكور وإناث) خلال الـ 18 يوم الأولى بعد الإنبات، وذلك بنفس الطريقة المتبعة في حساب المقدرة الافتراضية لليرقات حيث تم تقديم 250 حورية من

الفرائس المدروسة، لكن بـ 10 مكررات للذكور و 10 مكررات للأزواج (ذكر + أنثى) الناتجة عن التربية على كل فريسة. ولحساب معدل الافتراس اليومي للإناث تم طرح متوسط معدل الافتراس اليومي للذكور من متوسط معدل الافتراس للأزواج، بهذه الطريقة قمنا بحساب معدل الافتراس اليومي للذكور والإناث بشكل منفصل.

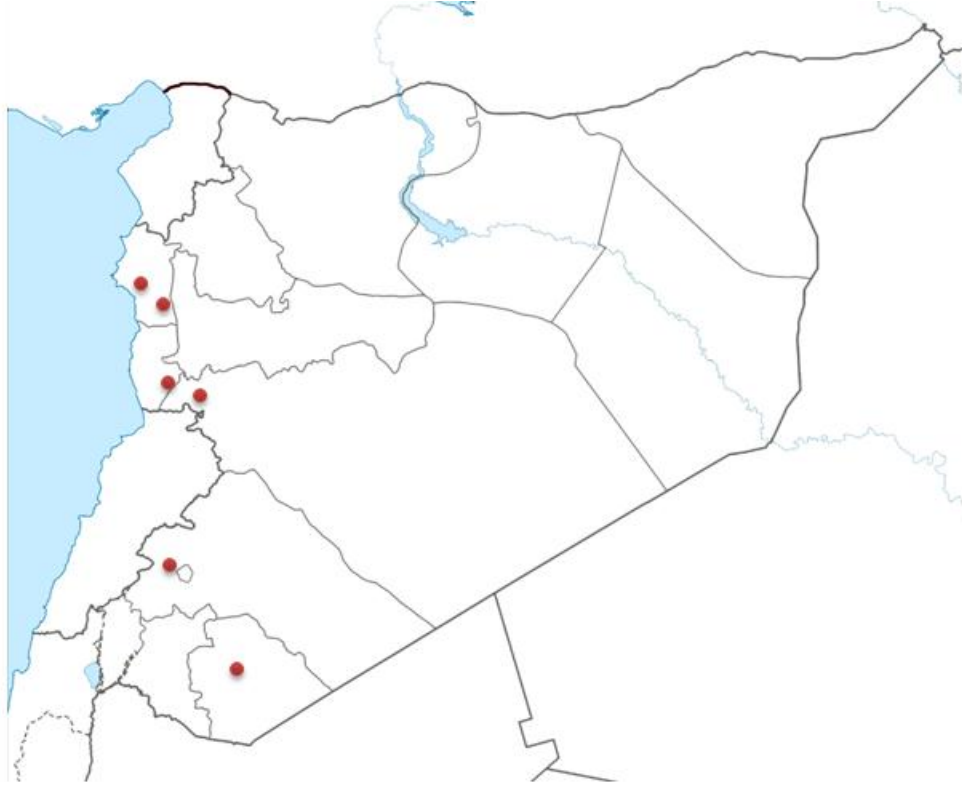
7.2. دراسة التعددية الشكلية للمفترس *H. variegata*

جُمعت الحشرات الكاملة للمفترس *H. vareigata* من حقول كلية الزراعة ومزارع أبي جرش - دمشق بشكل دوري خلال المدّة ما بين أواخر نيسان ونهاية تموز بين عامي 2015 - 2020 من محاصيل نباتية مختلفة ونباتات عشبية بوساطة شفاط يدوي، واحتفظ بها ضمن أنابيب بلاستيكية سعة 1.5 مل ووضعت في المجمدة على درجة حرارة -30 س من أجل الحفاظ على جودتها بما في ذلك المظهر واللون، وتم فحصها باستخدام مكبرة ماركة Olympus® (SZX16) وتصويرها بكاميرا ديجيتال Olympus camedia c-7070. تم تعريف العينات على مستوى الأنواع بالاعتماد على بعض المفاتيح التصنيفية، وكذلك خصائص الأعضاء التناسلية الذكرية، كما تم تعريف الأشكال المختلفة للمفترس *H. vareigata* بناءً على الخصائص المورفولوجية بما في ذلك اللون والبقع على السطح الظهري للأغمد والصدر الأول (Biranvand) pronotum وزملاؤه، 2020؛ Ali وزملاؤه، 2018؛ Gordon و Vandenberg، 1991).

8.2. الدراسة الجزيئية

1.8.2. جمع العينات الحشرية

جُمعت الحشرات الكاملة للمفترس *H. vareigata* خلال المدّة ما بين أواخر نيسان ومنتصف أيار عام 2015 من خمس محافظات ضمت ستة مواقع هي دمشق (كلية الزراعة - مزرعة أبي جرش) واللاذقية (حقول مركز فديو لتربية الأعداء الحيوية - جبلة: بيت ياشوط) وطرطوس (أرزونة) وحمص (الدرارية) والسويداء (ضهر الجبل) (الشكل 14).



شكل 14. مواقع الدراسة

حُفظت كل عينة حشرية بالكحول الإيثيلي 80% ضمن أنابيب سعة 1.5 مل ووضعت في المجمدة على درجة حرارة -30 س لحين الاستخدام . ويبيّن الجدول (3) البيانات الجغرافية لمواقع جمع العينات.

جدول 3. البيانات الجغرافية لمواقع جمع العينات

المحافظة	الموقع	خط الطول	خط العرض	الارتفاع عن سطح البحر/م	رمز العينة	العائل الحشري
دمشق	كلية الزراعة	36°19'03"E	33°32'28"N	726	H.v1	مَنّ الفول
طرطوس	أرزونة	36°06'36"E	34°41'01"N	44	H.v2	مَنّ النجيليات
حمص	الدرارية	36°24'47"E	34°41'04"N	485	H.v3	مَنّ الملفوف
اللاذقية	فديو	35°53'53"E	35°31'20"N	113	H.v4	مَنّ البطاطا
اللاذقية	جبل - بيت ياشوط	36°07'59"E	35°18'59"N	556	H.v5	مَنّ الفول
السويداء	ضهر الجبل	36°40'19"E	32°41'54"N	1558	H.v6	مَنّ الملفوف

2.8.2. استخلاص الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA

استُخلص الحمض النووي DNA للعينات الحشرية المدروسة وفق الخطوات الموصى بها من قبل

(Cenis وزملاؤه، 1993) مع إجراء بعض التعديلات كما يلي:

- أخذت 5 حشرات كاملة من كل منطقة، والمحفوظة بالكحول الإيثيلي 80% مسبقاً، حيث غُسلت بالماء المقطر للتخلص من الكحول، ثم فُتح بطن الحشرة بمشرط وغُسل بالماء المقطر المعقم وجففت العينات في الحاضنة (Hashemi وزملاؤه، 2018).
- طُحنت العينات الحشرية في جفنة بورسلان مع إضافة 600 µl من محلول الاستخلاص (200Mm Tris-Hcl; PH=8، 25Mm Na₂-EDTA; PH=8، 250Mm NaCl، H₂O، 0.5% SDS)، ومن ثم نُقلت الحشرات المطحونة إلى أنابيب Eppendorf سعة 1.5 ml.
- أُضيف بعدها 150 µl من محلول أسيتات الصوديوم 3M، ووُضعت الأنابيب على درجة حرارة -20°م لمدة 10 دقائق.
- ثم وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي ونُقلت عند الدرجة 4°م وبمعدل 10000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق.
- بعدها نقلت المادة الطافية إلى أنابيب جديدة وأُضيف لها حجم مماثل من الأيزوبروبانول المبرد، وحُفظت على الدرجة -20°م لمدة ساعة واحدة لترسيب الأحماض النووية.
- وُضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق و10000 دورة/دقيقة على الدرجة 4°م.
- رُمي السائل الطافي وأُبقي على الراسب، تم إضافة الإيثانول 70% بمعدل 100 µl من أجل غسل DNA.
- التنقيط لمدة 5 دقائق عند الدرجة 4°م وبمعدل 12000 دورة/دقيقة.
- أزيلت المادة الطافية بدقة لتجنب أخذ الراسب، وترك الراسب (DNA) في جو المخبر لمدة 5 دقائق للتخلص من بقايا الكحول.

- أذيب الراسب الحاوي على المادة الوراثية DNA في 100 µl من محلول TE المكون من 10mM Tris, 1mM EDTA, pH:8.0).

- تم حفظ العينات بدرجة حرارة 4°م لمدة 24 ساعة، ثم خُزنت على درجة حرارة (-30°م) لحين الاستخدام.

3.8.2. تقدير كمية ونقاوة الحمض النووي DNA

تم تقدير كمية الحمض النووي DNA في العينات باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Ultra Violet spectrophotometer) حيث تسمح قراءة الامتصاص على طول الموجة 260 نانومتر بحساب تركيز الحمض النووي في العينة حيث إن كل واحد من الكثافة الضوئية (Optical density (OD) تقابل حوالي 50 µg/ml لسلاسل الحمض النووي المضاعفة. أما النسبة بين قراءة طول الموجة 280/260 نانومتر تساعد في تقدير نقاوة الحمض النووي، حيث يجب أن تتراوح هذه النسبة بين 1.8 – 2.0 .

ويمكن حساب كمية الحمض النووي DNA من المعادلة التالية (Maniatis, 1982):

$$\text{DNA concentration } (\mu\text{g/ml}) = \text{OD}_{260} \times F \times V$$

حيث:

OD 260: تمثل الكثافة الضوئية لامتصاص الحمض النووي عند طول الموجة 260 نانومتر.

F: ثابت الامتصاصية وهو لا dsDNA = 50 µg/ml

V : معامل التمديد المستخدم.

ومن ثم ضبط تركيز الحمض النووي لكل العينات ليصل لـ 40 ng/µl.

اختُبرت نوعية الحمض النووي DNA بالاعتماد على طريقة الرحلان الكهربائي باستخدام هلامة أغاروز

(agarose gel) تركيز 0.8% مضافاً لهامادة Ethidium bromide، التي ترتبط مع الحمض النووي DNA

مشكلة معقداً يتوهج إثر تعرضه للأشعة فوق البنفسجية، حيث إن جزيئات الحمض النووي DNA تهاجر على

هلامة الآغاروز كحزم أو بقع، وتكون عينات الحمض النووي DNA ذات جودة جيدة عند عدم وجود تقطعات

فيها.

4.8.2. تضخيم الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA

أُجري تضخيم DNA الناتج عن عمليات الاستخلاص للعينات الحشرية المدروسة باستخدام تقنية SRAP باستخدام (19) زوجاً من البادئات (Budak وزملاؤه، 2004a)، وتم الحصول عليها من شركة (Introfine Genomics) وبيّن الجدول (4) التسلسل النيكلوتيدي للبادئات المستخدمة في الدراسة الجزيئية

جدول 4. التسلسل النيكلوتيدي للبادئات المستخدمة في الدراسة الجزيئية

البادئات	التسلسل النيكلوتيدي للبادئ
البادئ الأمامي	
Me1	TGA GTC CAA ACC GGATA
Me2	TGA GTC CAA ACC GGAGC
Me3	TGA GTC CAA ACC GGAAT
Me4	TGA GTC CAA ACC GGACC
Me5	TGA GTC CAA ACC GGAAG
Me6	TGA GTC CAA ACC GGACA
Me7	TGA GTC CAA ACC GGACG
Me8	TGA GTC CAA ACC GGACT
البادئ العكسي	
EM6	GAC TGC GTA CGA ATT GCA
EM7	GAC TGC GTA CGA ATT CAA
EM8	GAC TGC GTA CGA ATT CAC

وبين الجدول (5) أزواج البادئات المستخدمة في الدراسة الجزيئية لتقنية SRAP وفق (Budak

وزملاؤه، 2004a).

جدول 5. رموز أزواج البادئات المستخدمة في الدراسة الجزيئية

رموز أزواج البادئات	أزواج البادئات
SRAP-1	Em6+Me1
SRAP-2	Em6+Me2
SRAP-3	Em6+Me3
SRAP-4	Em6+Me4
SRAP-5	Em6+Me5
SRAP-6	Em6+Me6
SRAP-7	Em7+Me1
SRAP-8	Em7+Me2
SRAP-9	Em7+Me3
SRAP-10	Em7+Me4
SRAP-11	Em7+Me5
SRAP-12	Em8+Me1
SRAP-13	Em8+Me2
SRAP-14	Em8+Me3
SRAP-15	Em8+Me4
SRAP-16	Em8+Me5
SRAP-17	Em8+Me6
SRAP-18	Em8+Me7
SRAP-19	Em8+Me8

أُجري تفاعل البلمرة التسلسلي في حجم نهائي قدره 25 µl وفق (Li وزملاؤه، 2014)، باستخدام مزيج من مواد التفاعل GoTaq® Green Master Mix من إنتاج شركة Promega، الحاوي على المكونات التالية: Taq-Polymerase، dNTPs، MgCl، ويوضح الجدول (6) مكونات تفاعل البلمرة التسلسلي المستخدم في تقنية SRAP.

جدول 6. مكونات تفاعل البلمرة التسلسلي المستخدم في تقنية SRAP

مكونات الـ PCR	الكميات
Green Master Mix	12.5 µl
قالب DNA	40 ng (4µl)
البادئ الأمامي	0.2 µM (2µl)
البادئ العكسي	0.2 µM (2µl)
ماء نقي خالي من أنزيمات النيكلياز	4.5 µl

أُجريت عملية التضخيم Amplification في جهاز التدوير الحراري من شركة (Techne TC - 512, UK)، بإتباع البرنامج الحراري التالي (Budak وزملاؤه، 2004a) مع تعديل عدد الدورات وفق الخطوات التالية:

- دورة واحدة بدرجة حرارة 94 °م ولمدة خمس دقائق ليتم انفصال سلسلتي الحمض النووي DNA.
- يليها 40 دورة كل دورة تتضمن ما يلي:

1. فصل سلسلة DNA المزدوجة (Denaturation) على حرارة 94 °م ولمدة دقيقة واحدة.

2. الالتحام (Annealing) على حرارة 47 °م ولمدة دقيقة واحدة.

3. الاستطالة (Extension) على حرارة 72 °م ولمدة دقيقة واحدة.

- يليها استطالة نهائية ولدورة واحدة عند حرارة 72 °م ولمدة 5 دقائق لإنهاء جميع التفاعلات.

5.8.2. فصل نواتج تضخيم DNA

فُصلت نواتج التضخيم على هلامة الآغاروز 2%، والمضاف إليها 5 ميكروليتر من صبغة Ethidium bromide بتركيز 50 ml/mg باستخدام جهاز الرحلان الكهربائي، ضمن محلول الرحلان الكهربائي TBE 1X المكون من (108g Tris-base, 55g Boric acid, 9.3g EDTA, PH 8.0,) مع إضافة معلم متدرج 1KB ليشير لأطوال حزم الـ DNA، وتم توثيق نتائج الترحيل باستخدام جهاز توثيق الهلامة Gel Documentation System.

9.2. التحليل الإحصائي

صُممت جميع تجارب التربية وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) وتم تحليل النتائج باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS-26 وقدرت معنوية الفروق بين المتوسطات باختبار T-test وباختبار أقل فرق معنوي LSD على مستوى معنوية 0.01 .

كما استُخدم برنامج POPGEN (1.32) في التحليل الإحصائي الجزيئي. حيث جُمعت نتائج عملية الرحلان الكهربائي الناتجة عن تطبيق تقنية SRAP ونُظمت الجداول لكل زوج من البادئات على حدة اعتماداً على وجود أو غياب حزم الحمض النووي DNA في العينات المدروسة، حيث يدل الرقم 1 على وجود حزمة الحمض النووي الواضحة فقط والرقم 0 يدل على غياب الحزمة وفق (Nei، 1978)، وتمت دراسة العلاقة الوراثية بين العينات الحشرية المدروسة بتطبيق مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق Percent Disagreement Values (PDV) (Nei، 1973)، وأجري التحليل العنقودي اعتماداً على نتائج المسافة الوراثية بين العينات الحشرية المدروسة وفقاً لمعادلة (Nei، 1978)، ورسمت شجرة القرابة الوراثية (Dendrogram) بتطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير المزنة Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Averaging (UPGMA) حسب Sokal و Sneath (1973).

كما تم حساب معامل التعددية الشكلية PIC (Polymorphism Information Content) والذي يعبر عن مقدرة زوج البادئات على إظهار التباينات بين الصفات المدروسة حسب المعادلة التالية: (Artemyeva و Chesnokov، 2015).

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

حيث P_i تكرارية الحزم i الموجودة الناتجة عن استخدام البادئ من جميع العينات المدروسة.

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

3. النتائج والمناقشة

1.3. مدة تطور المفترس عند التربية على كل من الفريستين

اختلفت مدة الأطوار غير الكاملة للمفترس *H. variegata* باختلاف الفريسة المربى عليها. يبين الجدول (7) مدة التطور للأطوار غير الكاملة للمفترس، فقد اختلفت مدة التطور الجنيني للبيض باختلاف الفريسة، إذ بلغت 0.07 ± 3.25 يوماً للإناث المتغذية على حشرات من الفول و 0.08 ± 2.69 يوماً للإناث المتغذية على حشرات من الملفوف، وأظهرت النتائج وجود فروق معنوية باختبار T على مستوى معنوية 0.01 ($P \geq 0.01$). وكانت مدة التطور الكلية للأطوار غير الكاملة للمفترس عند تغذيته على من الملفوف 0.29 ± 19.03 يوماً، في حين كانت مدة التطور الكلية للمفترس المربى على من الفول 0.19 ± 16.19 يوماً، وتبين وجود فارق معنوي باختبار T على مستوى معنوية 0.01. تتشابه النتائج التي تم التوصل إليها مع نتائج Mandour (2013) من حيث أن للفريسة تأثيراً على مدة التطور من البيضة وحتى انبثاق الحشرة الكاملة للمفترس *H. variegata*، وقد بينت الدراسة المشار إليها أن أقصر مدة تطور للمفترس عندما كانت الفريسة من الفول، كما تتشابه نتائج الدراسة مع النتائج التي سجلها Farhadi وزملاؤه (2011) عند تربية المفترس على من الفول، حيث بلغت مدة التطور الكلية للأطوار غير الكاملة 16.33 يوماً. كما أن نتائج دراسة Zaitoon و El-Hag (1996) عند تربية هذا المفترس على من الملفوف تتشابه مع نتائج هذه الدراسة، حيث بلغت مدة التطور الكلية للأطوار غير الكاملة 20.1 يوماً.

يبين الجدول (7) أن مدة تطور الأعمار اليرقية الأول 0.07 ± 2.28 يوماً، والعمر اليرقي الثاني 0.08 ± 2.06 يوماً، والعمر اليرقي الثالث 0.05 ± 2.14 يوماً، والعمر اليرقي الرابع 0.08 ± 2.69 يوماً، ومدة طور العذراء 0.07 ± 3.78 يوماً للمفترس المربى على من الفول هي أقل من مثيلاتها 0.12 ± 3.24 يوماً و 0.09 ± 2.41 يوماً و 0.09 ± 2.45 يوماً و 0.14 ± 3.90 يوماً و 0.10 ± 4.34 يوماً للمفترس المربى على من الملفوف، وكان الفارق معنوياً باختبار T على مستوى معنوية 0.01 ($P > 0.01$). وتعود هذه الاختلافات في مدة التطور إلى الاختلاف في القيمة الغذائية لكل من الفريستين من الفول ومن الملفوف

(Hodek, 1973). ويشكل عام يكون الاستهلاك المنخفض لأنواع الفرائس الأقل تفضيلاً مصحوباً في الغالب بمدة نمو أطول للأطوار غير الكاملة للمفترس (Srivastava و Omkar, 2003).

جدول 7. تطور المفترس *H. varigata* عند التربية على نوعين من المَن تحت الظروف المخبرية

نوع الفريسة					
الصفة المدروسة	مَن الفول <i>A. fabae</i> Mean $\pm$ SE	مَن الملفوف <i>B. brassicae</i> Mean $\pm$ SE	درجة الحرية (df)	قيمة T المحسوبة	Sig. (p-value)
مدة التطور الجنيني (يوم)	**3.25 $\pm$ 0.073	**2.69 $\pm$ 0.087	63	4.95	0.000
مدة L1 (يوم)	**2.28 $\pm$ 0.075	**3.24 $\pm$ 0.128	63	6.76	0.000
مدة L2 (يوم)	**2.06 $\pm$ 0.088	**2.41 $\pm$ 0.093	63	2.77	0.007
مدة L3 (يوم)	**2.14 $\pm$ 0.058	**2.45 $\pm$ 0.093	63	2.90	0.007
مدة L4 (يوم)	**2.69 $\pm$ 0.087	**3.90 $\pm$ 0.143	63	7.54	0.000
مدة الطور اليرقي الكلي (يوم)	**9.17 $\pm$ 0.166	**12.00 $\pm$ 0.267	63	9.34	0.000
مدة طور العذراء (يوم)	**3.78 $\pm$ 0.070	**4.34 $\pm$ 0.102	63	4.69	0.000
مدة التطور الكلية للأطوار غير الكاملة (يوم)	**16.19 $\pm$ 0.198	**19.03 $\pm$ 0.295	63	8.22	0.000

** وجود فارق معنوي بحسب اختبار T عند مستوى معنوية 1%.

2.3. معدل البقاء للأطوار غير الكاملة للمفترس عند التربية على الفريستين

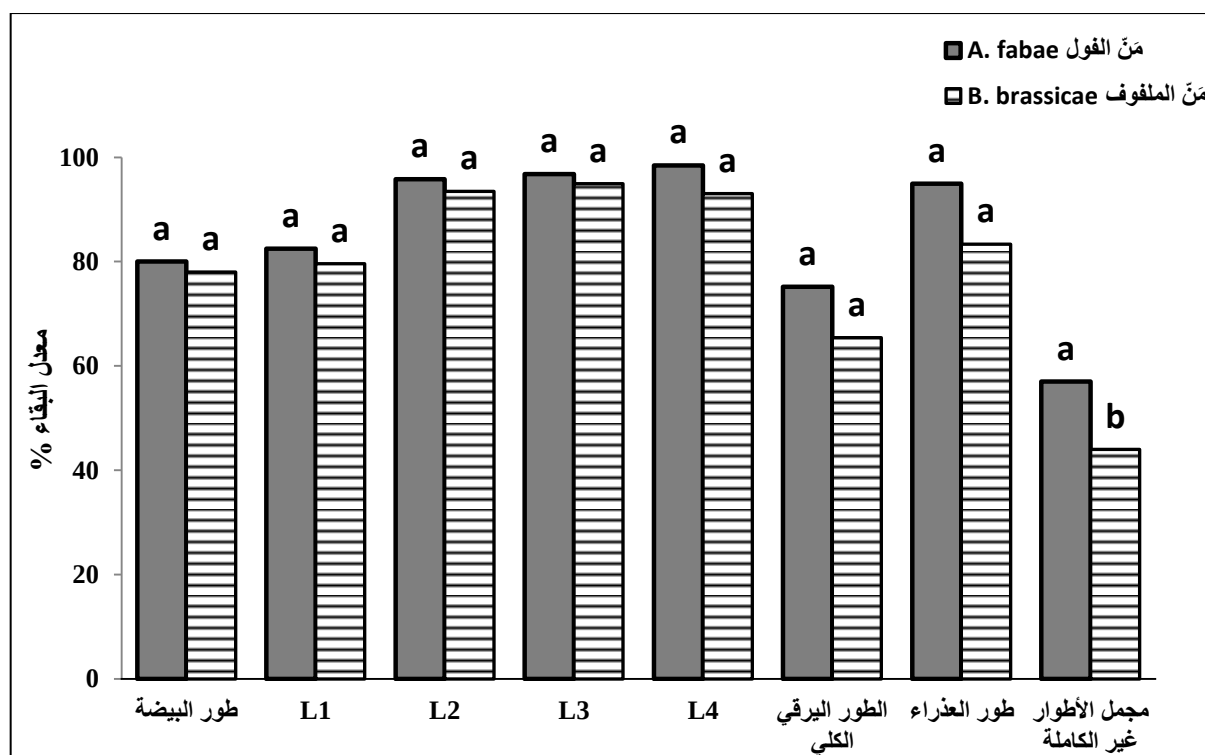
أظهرت نتائج الدراسة أن معدل البقاء للأطوار غير الكاملة للمفترس *H. variegata* يختلف باختلاف الفريسة المربى عليها، يبين الشكل (15) أن معدلات البقاء لكل من طور البيضة 2.10 $\pm$ 80.00% والطور اليرقي الكلي 3.11 $\pm$ 75.20% وطور العذراء 2.06 $\pm$ 94.97% عند التربية على مَن الفول كانت أعلى من مثيلاتها 2.00 $\pm$ 78.00%، 1.25 $\pm$ 65.41%، 2.93 $\pm$ 83.36% عند التربية على مَن الملفوف، ويبين اختبار T أن الفارق غير معنوي على مستوى معنوية 0.01 (P < 0.01)،

وتتوافق هذه النتائج مع النتائج التي سجلها Mandour (2013) بالنسبة لطور البيضة وطور العذراء، وتختلف معه في طور اليرقي الكلي. كان معدل البقاء لمجمل الأطوار غير الكاملة عند التربية على مَنّ الفول $2.00 \pm 57.00\%$ أعلى من تلك عند التربية على مَنّ الملفوف $1.00 \pm 44.00\%$ ، وببيّن اختبار T أن الفارق معنويّ على مستوى معنوية $0.01 > P$.

بيّن Mandour (2009) أن حشرة مَنّ الملفوف فريسة غير مناسبة عند تربية المفترس *Hippodamia convergens*، وكذلك عند تربية المفترس *Harmonia axyridis* (Tsaganou وزملاؤه، 2004). يمكن أن يُعزى عدم ملائمة مَنّ الملفوف لخنافس أبي العيد إلى ما يأتي:

- وجود غطاء شمعي على جسم المَنّ مما يقلل من استساغته ويجعل من الصعب التعامل معه من قبل الحشرات المفترسة (Hodek و Honek، 1996؛ Tsaganou وزملاؤه، 2004).

- عند التغذية على نباتات الفصيلة الصليبية فإن مَنّ الملفوف يأخذ ويعزل الغليكوسينولات (Glucosinolates) (Bridges وزملاؤه، 2002) (تشكل الغليكوسينولات فئة طبيعية من المركبات العضوية التي تحتوي على الكبريت والنيتروجين والمستمدة من الجلوكوز والأحماض الأمينية، لها طعم مر ورائحة نفاذة)، والتي ربما تعمل كموانع تغذية وبالتالي تؤثر على استساغة مَنّ الملفوف من قبل المفترس *H. variegata* وخنافس أبي العيد الأخرى.



الأعمدة التي تأخذ أحرف مختلفة تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى دلالة 1%.

شكل 15. معدل البقاء للأطوار غير الكاملة للمفترس عند التربية على نوعين من المَنّ مخبرياً

3.3. مراحل حياة الحشرة الكاملة (الأنثى) وقدرتها التكاثرية عند التربية على الفريستين

أظهرت النتائج أن خصوبة الإناث ومدة وضع البيض للمفترس *H. variegata* تتأثر بنوع الفريسة التي تم التغذية عليها. يبين الجدول (8) مدة وضع البيض ومدة حياة الأنثى والخصوبة الكلية Fecundity والخصوبة الحقيقية Fertility ونسبة فقس البيض لإناث المفترس *H. variegata* المربى على نوعين من الفرائس. كان متوسط مدة ما قبل وضع البيض عند التربية على حشرة مَنّ الفول 0.20 ± 4.80 يوماً أقل من تلك عند التربية على حشرة مَنّ الملفوف 0.24 ± 5.70 يوماً، وبيّن اختبار T أن الفارق معنوي على مستوى معنوية $0.01 > P$). وهذا يتفق مع ما وصل إليه Mandour (2013) حيث وجد أن المرحلة نفسها استمرت 5.00 أيام عند تربيته للمفترس *H. variegata* على حشرة مَنّ الفول، و6.00 يوماً عند التربية على حشرة مَنّ الملفوف. قد يُعزى هذا الاختلاف إلى انخفاض استهلاك الفريسة ذات الجودة المنخفضة (مَنّ الملفوف) مما أدى إلى تباطؤ تطور الأطوار غير الكاملة، وبالنتيجة تباطؤ النضوج الجنسي وإطالة المرحلة غير التناسلية (Omkar وSrivastava، 2003؛ Omkar وPervez، 2004).

كان متوسط مدّة وضع البيض لإناث المفترس المربى على مَنّ الفول 1.30 ± 35.30 يوماً أعلى من متوسط مدّة وضع البيض للمفترس المربى على مَنّ الملفوف 0.66 ± 28.20 يوماً، وببيّن اختبار T أن الفارق معنوي على مستوى معنوية 0.01 ($0.01 > P$). إن متوسط مدّة ما بعد وضع البيض للمفترس المربى على مَنّ الملفوف 0.24 ± 4.80 يوماً كان أعلى من متوسط مدّة ما بعد وضع البيض للمفترس المربى على مَنّ الفول 0.24 ± 4.20 يوماً، وببيّن اختبار T أن الفارق غير معنوي على مستوى معنوية 0.01 ($0.01 < P$)، وهذا يتفق مع ما توصل إليه Mandour (2013) حيث وجد أن متوسط مدّة وضع البيض لإناث المفترس عند التربية على مَنّ الفول كان أعلى مقارنةً بالتربية على مَنّ الملفوف، وأنه لم تكن هناك فروق معنوية بالنسبة لمتوسط مدّة ما بعد وضع البيض عند التربية على مَنّ الفول ومَنّ الملفوف، كذلك تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه El-Hag و Zaitoon (1996) عند تربية إناث هذا المفترس على مَنّ الملفوف. كان متوسط مدّة حياة أنثى المفترس عند التربية على مَنّ الفول 1.43 ± 44.30 يوماً أعلى من متوسط مدّة حياة الأنثى عند التربية على مَنّ الملفوف 2.78 ± 38.80 يوماً، وببيّن اختبار T أن الفارق معنوي على مستوى معنوية 0.01 ($0.01 > P$).

كان متوسط الخصوبة اليومية لإناث المفترس المربى على مَنّ الفول 0.22 ± 25.13 بيضة/أنثى/يوم أعلى من متوسط الخصوبة اليومية لإناث المفترس المربى على مَنّ الملفوف 0.11 ± 18.53 بيضة/أنثى/يوم، وببيّن اختبار T أن الفارق معنوي على مستوى معنوية 0.01 ($0.01 > P$). أما متوسط الخصوبة الكلية لإناث المفترس المرباة على مَنّ الفول 31.10 ± 886.20 بيضة/أنثى/مدى الحياة فقد كان أعلى من متوسط الخصوبة الكلية لتلك المرباة على مَنّ الملفوف 13.92 ± 524.40 بيضة/أنثى/مدى الحياة، وببيّن اختبار T أن الفارق معنوي على مستوى معنوية 0.01 ($0.01 > P$)، وقد يُعزى السبب في ذلك إلى اختلاف القيمة الغذائية للفريستين، فقد تحتوي حشرات مَنّ الفول على العناصر الضرورية لتغذية المفترس وخصوبته أكثر مما تحتويه حشرات مَنّ الملفوف (Michaud، 2005؛ Kalushkov و Hodek، 2001).

بيّن الجدول (8) أن نسبة فقس البيض كانت $2.10 \pm 80.00\%$ عند تربية المفترس على مَنّ الفول و $2.00 \pm 78.00\%$ عند التربية على مَنّ الملفوف، وببيّن اختبار T أن الفارق غير معنوي على مستوى معنوية

0.01 ($P < 0.01$). أما متوسط الخصوبة الحقيقية عند تربية المفترس على مَنّ الفول 36.40 ± 713.63 يرقة/L1/أنثى/مدى الحياة فقد كان أعلى من متوسط الخصوبة الحقيقية عند التربية على مَنّ الملفوف 12.90 ± 408.32 يرقة/L1/أنثى/مدى الحياة، وبيّن اختبار T أن الفارق معنوي على مستوى معنوية 0.01 ($P > 0.01$).

جدول 8. مراحل حياة الحشرة الكاملة (الأنثى) ومعدل خصوبتها اليومية والكلية والحقيقية ونسبة فقس البيض الناتج عند التربية على نوعين من المَنّ مخبرياً

نوع الفريسة					
الصفة المدروسة	مَنّ الفول <i>A. fabae</i> Mean $\pm$ SE	مَنّ الملفوف <i>B. brassicae</i> Mean $\pm$ SE	درجة الحرية (df)	قيمة T المحسوبة	Sig. (p-value)
مدّة ما قبل وضع البيض (يوم)	4.80 ± 0.200	5.70 ± 0.249	18	3.12	0.006
مدّة وضع البيض (يوم)	35.30 ± 1.308	28.20 ± 0.663	18	4.84	0.000
مدّة ما بعد وضع البيض (يوم)	4.20 ± 0.249	4.80 ± 0.249	18	1.70	0.106
مدّة حياة الحشرة الكاملة (الأنثى)	44.30 ± 1.430	38.80 ± 2.785	18	3.37	0.003
معدل الخصوبة اليومي (بيضة / أنثى/ يوم)	25.13 ± 0.229	18.53 ± 0.110	18	25.85	0.000
الخصوبة الكلية (بيضة/أنثى/مدى الحياة)	886.20 ± 31.102	524.40 ± 13.926	18	10.61	0.000
نسبة فقس البيض (%)	80.00 ± 2.108	78.00 ± 2.000	18	0.68	0.500
الخصوبة الحقيقية (يرقة/L1/أنثى/مدى الحياة)	713.63 ± 36.400	408.32 ± 12.907	18	7.90	0.000

** وجود فارق معنوي بحسب اختبار T عند مستوى معنوية 1%.

4.3. المقدرة الافتراضية

1.4.3. تأثير العمر اليرقي في المقدرة الافتراضية

أظهرت نتائج الدراسة تزايد المعدل اليومي للمقدرة الافتراضية لليرقة مع تقدمها بالعمر. يبيّن الجدول (9)

أن أقل قيمة للمقدرة الافتراضية اليومية كانت لليرقات بالعمر الأول وبغلت (0.359 ± 11.53 حورية/L1/ يوم)

عند التربية على حشرة مَنّ الفول و(0.480 ± 7.50 حورية/L1/ يوم) عند التربية على حشرة مَنّ الملفوف، وتزايدت هذه القيمة بين كل عمر يرقي والعمر الذي يليه وبلغت هذه القيمة أعلى معدل لها في العمر اليرقي الرابع (2.839 ± 59.99 حورية/L4/ يوم)، وذلك عند التربية على حشرة مَنّ الفول و(0.336 ± 23.15 حورية/L4/ يوم) عند التربية على حشرة مَنّ الملفوف، ويبين اختبار LSD أن الفارق كان معنوياً على مستوى 1% ($0.01 > P$) بين كل عمر يرقي والعمر الذي يليه عند التربية على كل من الفرائس المدروسة. نلاحظ تزايد المقدرة الافتراضية للمفترس بنقدم العمر اليرقي، حيث تفوق العمر اليرقي الرابع مقارنة بالأعمار اليرقية الأخرى، وهذا يتوافق مع ما وجدته Hodek وزملاؤه (2012) فقد أشاروا إلى زيادة كمية الغذاء التي يستهلكها العمر اليرقي الرابع مقارنة مع الأعمار الأخرى، وسبب ذلك يعود لزيادة احتياجه من الاحتياطات الغذائية اللازمة لطور العذراء.

جدول 9. تأثير العمر اليرقي في المقدرة الافتراضية للطور اليرقي

العمر اليرقي					الفريسة
LSD 1%	L4 Mean $\pm$ SE	L3 Mean $\pm$ SE	L2 Mean $\pm$ SE	L1 Mean $\pm$ SE	
4.722	$59.99 \pm 2.839a$	$28.35 \pm 1.088b$	$17.58 \pm 1.213c$	$11.53 \pm 0.359d$	حشرة مَنّ الفول <i>A. fabae</i>
1.893	$23.15 \pm 0.336a$	$18.65 \pm 1.139b$	$12.66 \pm 0.320c$	$7.50 \pm 0.480d$	حشرة مَنّ الملفوف <i>B. brassicae</i>

المتوسطات التي تأخذ أحرف مختلفة ضمن السطر الواحد تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية 1%

يبين الجدول (10) معدل المقدرة الافتراضية الكلي خلال كل عمر يرقي وخلال كامل الطور اليرقي المربى على نوعي الفرائس. إن معدل المقدرة الافتراضية الكلي ليرقات المفترس *H. variegata* ازدادت بشكل معنوي بين كل عمر يرقي والعمر الذي يليه عند التربية على كلا الفريستين، وتتوافق هذه النتائج مع النتائج التي سجلها Manduor (2013) من حيث أن للعمر اليرقي تأثير في معدل المقدرة الافتراضية الكلي للمفترس *H. variegata* عند التربية على حشرة مَنّ الفول وحشرة مَنّ الملفوف. تبين النتائج الارتفاع الكبير في استهلاك العمر اليرقي الرابع بالمقارنة مع العمر اليرقي الأول وهذا ما تبينه العديد من الدراسات التي تناولت دراسة معدل

المقدرة الافتراضية الكلي للمفترس *H. vaeirgata*، حيث وجد Sarhan وزملاؤه (2011) عند تربية المفترس *H. vaeirgata* على ثلاثة أنواع من المَن أن معدل المقدرة الافتراضية الكلي للعمر اليرقي الأول والرابع كان (0.87 ± 24.47 ، 2.83 ± 115.93) على التوالي عند التربية على النوع *Aphis craccivora*، وكان هذا المتوسط (1.71 ± 80.40 ، 2.77 ± 190.73) على التوالي عند التربية على النوع *Hyalopterus pruni*، بينما بلغ هذا المعدل (1.07 ± 32.87 ، 2.83 ± 125.20) على التوالي عند التربية على النوع *Rhopalosiphum padi*.

إن معدل الاستهلاك العالي ليرقات الطور الرابع لوحظ بشكل كبير في أنواع أخرى من مفترسات أبي العيد مثل *Coccinella septempunctata* و *Hippodamia convergens* عندما كانت الفريسة مَن التبغ *Myzus persicae nicotianae* (Katsarou وزملاؤه، 2005). ولوحظ أيضاً عند المفترس *Harmonia axyridis* عندما كانت الفريسة مَن القطن *Aphis gossypii* (Lee و Kang، 2004). يُعزى معدل الاستهلاك العالي ليرقات الطور الرابع نتيجة ارتفاع متطلبات استهلاك الطاقة من أجل النمو ومن أجل الحفاظ على وزن الجسم الحرج من أجل التعذر (Honek و Hodek، 1996).

جدول 10. متوسط الفرائس المستهلكة خلال كل عمر يرقي وخلال كامل الطور اليرقي عند التربية على نوعين من الفرائس

العمر اليرقي						الفريسة
L1-L4 Mean $\pm$ SE	LSD 1%	L4 Mean $\pm$ SE	L3 Mean $\pm$ SE	L2 Mean $\pm$ SE	L1 Mean $\pm$ SE	
276.3 $\pm$ 6.465	7.418	152.00 $\pm$ 3.798a	61.2 $\pm$ 1.436b	36.9 $\pm$ 2.949c	26.2 $\pm$ 1.245d	حشرة مَن الفول <i>A. fabae</i>
189.3 $\pm$ 8.025	6.352	90.30 $\pm$ 5.532a	45.20 $\pm$ 1.750b	30.20 $\pm$ 1.818c	23.60 $\pm$ 1.536d	حشرة مَن الملفوف <i>B. brassicae</i>

المتوسطات التي تأخذ أحرف مختلفة ضمن السطر الواحد تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية 1%.

يبين الشكل (16) تطور المقدرة الافتراضية خلال كل عمر يرقى للمفترس مع الزمن وذلك عند التربية على نوعين من الفرائس، حيث نلاحظ أن منحنى المقدرة الافتراضية كان متشابهاً بين الأعمار اليرقية الأربعة، فقد كانت المقدرة الافتراضية منخفضة في اليوم الأول من كل عمر يتبعه زيادة في اليوم الثاني، وهذا يمكن أن يُفسر بزيادة النشاط الحيوي لليرقة نظراً للنمو ضمن كل عمر يرقى، كما لوحظ انخفاض في المقدرة الافتراضية خلال اليوم الأخير من كل عمر وذلك بسبب انخفاض نشاط اليرقة قبل أن تتسلخ للعمر الذي يليه أو الدخول في طور العذراء بالنسبة ليرقات العمر الرابع، مع ملاحظة أن فترة انخفاض نشاط اليرقة (وبالتالي مقدرتها الافتراضية) كانت أطول في العمر اليرقي الرابع عند التربية على مَنّ الملفوف. تتفق هذه النتائج مع ما وجدته Jafari (2013) والذي أشار إلى تزايد المقدرة الافتراضية للمفترس *H.variegata* مع تقدم العمر اليرقي عند التغذية على مَنّ الفول *A. faba*.



شكل 16. تطور المقدرة الافتراضية خلال كل عمر يرقي مع الزمن عند التربية على نوعين من الفرائس

2.4.3. تأثير نوع الفريسة في المقدرة الافتراضية

1.2.4.3. تأثير نوع الفريسة في المقدرة الافتراضية للأعمار اليرقية

أظهرت نتائج الدراسة أن معدل المقدرة الافتراضية لأعمار المفترس *H. variegata* يختلف باختلاف الفريسة المربى عليها. يبين الجدول (11) أن معدل المقدرة الافتراضية للعمر اليرقي الأول عند التربية على حشرة مَنّ الفول (0.359 ± 11.53 حورية / يرقة L1 / يوم) كان أعلى من مثيله عند التربية على حشرة مَنّ الملفوف (0.480 ± 7.50 حورية / يرقة L1 / يوم)، ويبين اختبار T وجود فارق معنوي على مستوى 1% ($P > 0.01$). بالنسبة للعمر اليرقي الثاني كان معدل المقدرة الافتراضية عند التربية على حشرة مَنّ الفول (1.213 ± 17.85 حورية / يرقة L2 / يوم)، أعلى من مثيله عند التربية على حشرة مَنّ الملفوف (0.320 ± 12.66 حورية / يرقة L1 / يوم)، ويبين اختبار T وجود فارق معنوي على مستوى 1% ($P > 0.01$). بلغ متوسط المقدرة الافتراضية ليرقات العمر الثالث عند التربية على حشرة مَنّ الفول (1.078 ± 28.35 حورية / يرقة L3 / يوم)، وتفق على مثيله عند التربية على حشرة مَنّ الملفوف (1.138 ± 18.65 حورية / يرقة L3 / يوم)، ويبين اختبار T وجود فارق معنوي على مستوى 1% ($P > 0.01$). بينت النتائج أن متوسط المقدرة الافتراضية للعمر اليرقي الرابع عند التربية على حشرة مَنّ الفول (2.839 ± 59.99 حورية / يرقة L4 / يوم) كان أعلى من مثيله عند التربية على حشرة مَنّ الملفوف (0.335 ± 23.15 حورية / يرقة L4 / يوم)، ويبين اختبار T وجود فارق معنوي على مستوى 1% ($P > 0.01$). تتوافق هذه النتائج مع النتائج التي سجلها Manduor (2013) من حيث أن للفريسة تأثير على معدل المقدرة الافتراضية للأعمار اليرقية للمفترس *H. variegata* عند تربية المفترس على أربعة أنواع من المَنّ من بينها مَنّ الفول ومَنّ الملفوف، وتعود هذه الاختلافات في معدل المقدرة الافتراضية إلى الاختلاف في القيمة الغذائية لكل من الفريستين مَنّ الفول ومَنّ الملفوف (Hagen، 1962؛ Hodek، 1973).

5.2.4.3. تأثير نوع الفريسة في المقدرة الافتراضية للطور اليرقي الكلي

تفوقت يرقات المفترس المرباة على حشرة مَنّ الفول في مؤشر المقدرة الافتراضية على تلك المرباة على حشرة مَنّ الملفوف (الجدول 11). بلغ متوسط المقدرة الافتراضية ليرقات المفترس المرباة على حشرة مَنّ الفول

(0.469±30.16 حورية / يرقة / يوم) وعلى حشرة مَنّ الملفوف (0.402±15.82 حورية / يرقة / يوم)، ويبين اختبار T وجود فارق معنوي على مستوى 1% ($P > 0.01$). نجد من خلال الجدول (2) أن معدل المقدرة الافتراضية الكلي لأفراد المفترس الناتجة عن التربية على حشرة مَنّ الفول خلال الطور اليرقي كان بالمتوسط (6.465±276.3) حورية، وانخفض هذا المعدل إلى (8.025±189.3) حورية عند يرقات المفترس الناتجة عن التربية على حشرة مَنّ الملفوف، وهذا يتفق مع ما وصل إليه Mandour (2013) حيث وجد أن أفراد المفترس استهلك خلال كامل طورها اليرقي (9.99±267.08) حورية عند تربية نفس المفترس على حشرة مَنّ الفول و (7.06±178.16) حورية عند التربية على حشرة مَنّ الملفوف.

6.2.4.3. تأثير نوع الفريسة في المقدرة الافتراضية للحشرات الكاملة للمفترس (الإناث والذكور)

بينت نتائج الدراسة أن تأثير نوع الفريسة في المقدرة الافتراضية لإناث المفترس كان مشابهاً لتأثيره في المقدرة الافتراضية للطور اليرقي الكلي وجميع الأعمار اليرقية (الجدول 11). تفوقت الإناث المرباة على حشرة مَنّ الفول على الإناث المرباة على حشرة مَنّ الملفوف، إذ بلغت المقدرة الافتراضية للإناث المرباة على حشرة مَنّ الفول بالمتوسط (0.811±56.80 حورية / حشرة كاملة (أنثى) / يوم)، و (0.631±49.51 حورية / حشرة كاملة (أنثى) / يوم) عند التربية على حشرة مَنّ الملفوف، ويبين اختبار T وجود فارق معنوي على مستوى 1% ($P > 0.01$). كما بلغ معدل المقدرة الافتراضية لذكور المفترس عند التربية على حشرة مَنّ الفول (1.635±45.58 حورية / حشرة كاملة (ذكر) / يوم)، وكان أعلى من مثيله عند التربية على حشرة مَنّ الملفوف (1.229±34.97 حورية / حشرة كاملة (ذكر) / يوم)، ويبين اختبار T أن الفارق غير معنوي على مستوى معنوية 1% ($P \leq 0.01$). تعتبر قيمة المقدرة الافتراضية للحشرات الكاملة المتحصل عليها في دراستنا مرتفعة بالمقارنة مع نتائج دراسات أخرى أجريت على نفس المفترس حيث وجد Farhadi وزملاؤه (2011) عند دراسة هذا المفترس على حشرة مَنّ الفول أن المقدرة الافتراضية كانت للإناث (47.67) وللذكور (15.54) حورية / يوم، وقد يعزى هذا التباين في النتائج إلى اختلاف الظروف التجريبية ونظام التربية (درجة الحرارة والرطوبة النسبية).

جدول 11. تأثير نوع الفريسة في المقدرة الافتراضية لأطوار المفترس المختلفة

نوع الفريسة					
العمر أو الطور	من الفول <i>A. fabae</i>	من الملفوف <i>B. brassicae</i>	درجة الحرية (df)	قيمة T المحسوبة	Sig. (p-value)
	Mean% $\pm$ SE	Mean% $\pm$ SE			
L1	**11.53 $\pm$ 0.359	**7.50 $\pm$ 0.480	18	6.72	0.000
L2	**17.85 $\pm$ 1.213	**12.66 $\pm$ 0.320	18	3.91	0.003
L3	**28.35 $\pm$ 1.087	**18.65 $\pm$ 1.138	18	6.15	0.000
L4	**59.99 $\pm$ 2.839	**23.15 $\pm$ 0.335	18	12.88	0.000
الطور اليرقي الكلي	**30.16 $\pm$ 0.469	**15.82 $\pm$ 0.402	18	23.18	0.000
الحشرات الكاملة (الإناث)	**56.80 $\pm$ 0.811	**49.51 $\pm$ 0.631	18	7.09	0.000
الحشرات الكاملة (الذكور)	45.58 $\pm$ 0.635	43.97 $\pm$ 1.229	18	1.15	0.266

** وجود فارق معنوي بحسب اختبار T عند مستوى معنوية 1%.

7.2.4.3. مقارنة المقدرة الافتراضية بين الحشرات الكاملة للمفترس (الإناث والذكور) المرباة على كل

نوع من الفرائس

تبين نتائج الدراسة تفوق الإناث على الذكور وذلك عند التربية على كل نوع من الفرائس المدروسة. يبين الجدول (12) أن المقدرة الافتراضية للإناث (0.812 ± 56.80 حورية/ يوم) تفوقت على تلك عند الذكور (0.636 ± 45.58 حورية/ يوم) عند التربية على حشرة من الفول، وكذلك الأمر بالنسبة للإناث وذكور المفترس المرباة على حشرة من الملفوف، ويبين اختبار T وجود فارق معنوي على مستوى 1% ($P > 0.01$). تتوافق هذه النتائج مع معظم الدراسات التي أُجريت على هذا المفترس (Farhadi وزملاؤه، 2011؛ Mandour، 2013؛ Sarhan وزملاؤه، 2011). ويُفسر ذلك بأن حجم الإناث أكبر من حجم الذكور وتحتاج طاقة أكثر لوضع البيض، وبالتالي فإن الإناث تستهلك أكثر من ما يستهلكه الذكور من حشرات من (Farhadi وزملاؤه، 2011).

جدول 12. مقارنة المقدرة الافتراضية بين إناث وذكور المفترس المرباة على كل نوع من الفرائس

الجنس					
الفريسة	الإناث Mean% ± SE	الذكور Mean% ± SE	درجة الحرية (df)	قيمة T المحسوبة	Sig. (p- value)
مَنَ الفول <i>A. fabae</i>	**56.80 ± 0.812	**45.58 ± 0.636	9	9.86	0.000
مَنَ الملفوف <i>B. brassicae</i>	**49.51 ± 0.631	**43.97 ± 1.229	9	5.04	0.001

** وجود فارق معنوي بحسب اختبار T عند مستوى معنوية 1%.

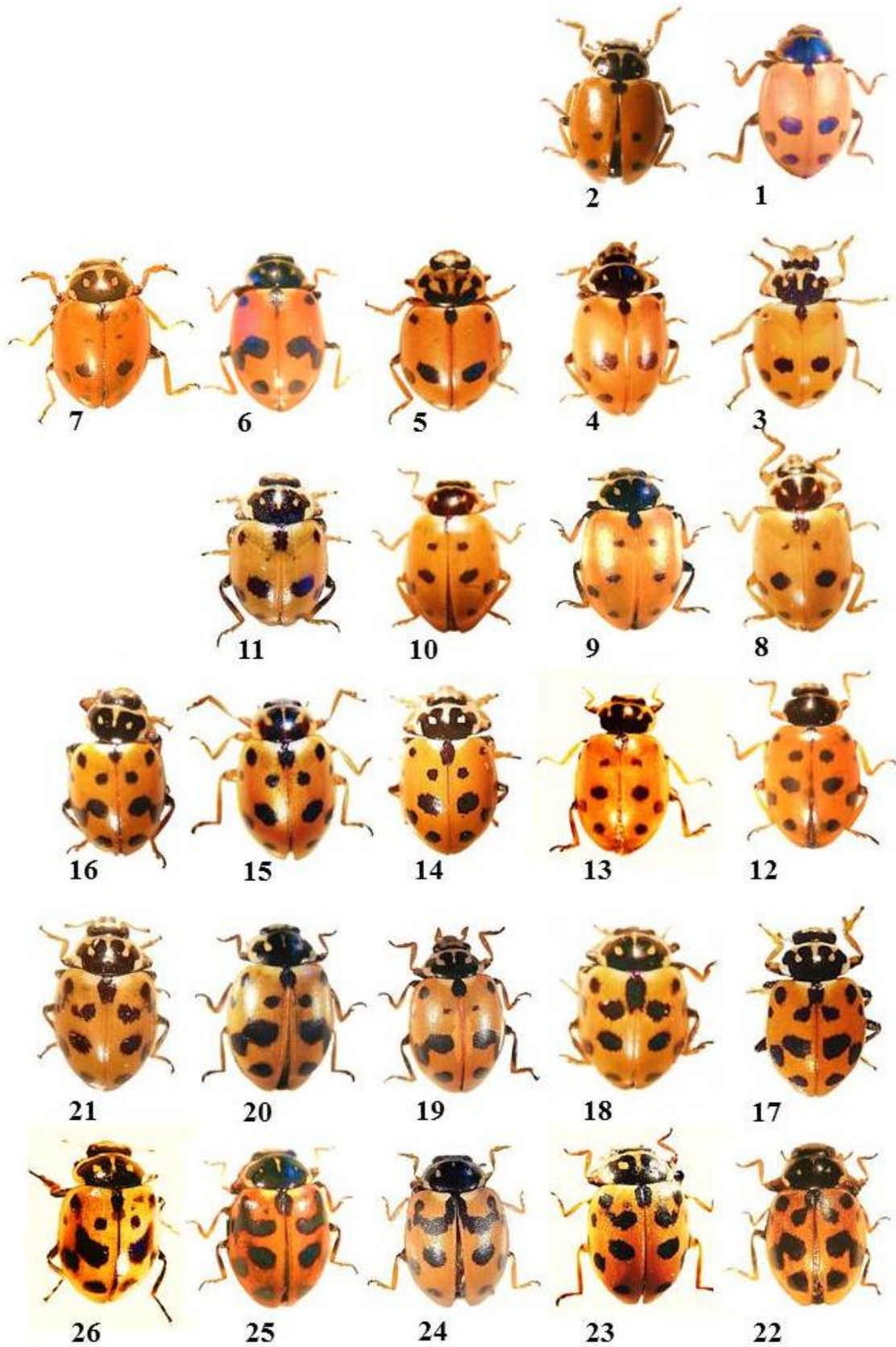
5.3. التعددية الشكلية للمفترس *H. variegata*

تناولت هذه الدراسة عدد ونمط البقع الموجودة في مواضع مختلفة على كل غمد، وأظهرت نتائج تحليل 212 عينة تم جمعها أن الأشكال المختلفة للعينات المجموعة انقسمت إلى أربع فئات حسب عدد البقع الموجودة على كل غمد (من 3 إلى 6) بقع بغض النظر عن موقع هذه البقع وإلى 26 شكلاً مختلفاً يتميز كل منها بعدد محدد للبقع وشكل هذه البقع وموضعها على كل غمد. لم يتم تضمين البقعة التي تقع وسط الدرع Scutellum بسبب وجودها في جميع أفراد هذه الدراسة.

أظهرت النتائج أن الأشكال المختلفة للمفترس *H. vareigata* هي كما يلي:

- شكلان بثلاث بقع على كل غمد (شكل 17، 1-2)
- 5 أشكال بأربع بقع على كل غمد (شكل 17، 3-7)
- 4 أشكال بخمس بقع على كل غمد (شكل 17، 8-11)
- 15 شكلاً بست بقع على كل غمد (شكل 17، 12-26)

قد تكون درجات الحرارة المختلفة هي السبب وراء تعدد الأشكال، فمع زيادة درجة الحرارة يتناقص حجم البقع تدريجياً وقد لا تظهر بعض البقع في درجات حرارة عالية، بالإضافة إلى ذلك قد يكون تعدد الأشكال ناتجاً عن الاختلاف الجيني (Hodek وزملاؤه، 2012). وفي معظم الحالات يبدو أن تعدد الأشكال يرتبط بالعوامل البيئية وربما بسلوك التمويه للاختباء من الأعداء الطبيعية (Willmer و Brakefield، 1985).



BSCRC, 2021

شكل 17. الأشكال المختلفة للمفترس *H. variegata* في محافظة دمشق - مزارع أبي جرش

6.3. شجرة القرابة المورفولوجية والفروقات المظهرية بين عينات المفترس *H.variegata* المجموعة

من مناطق الدراسة

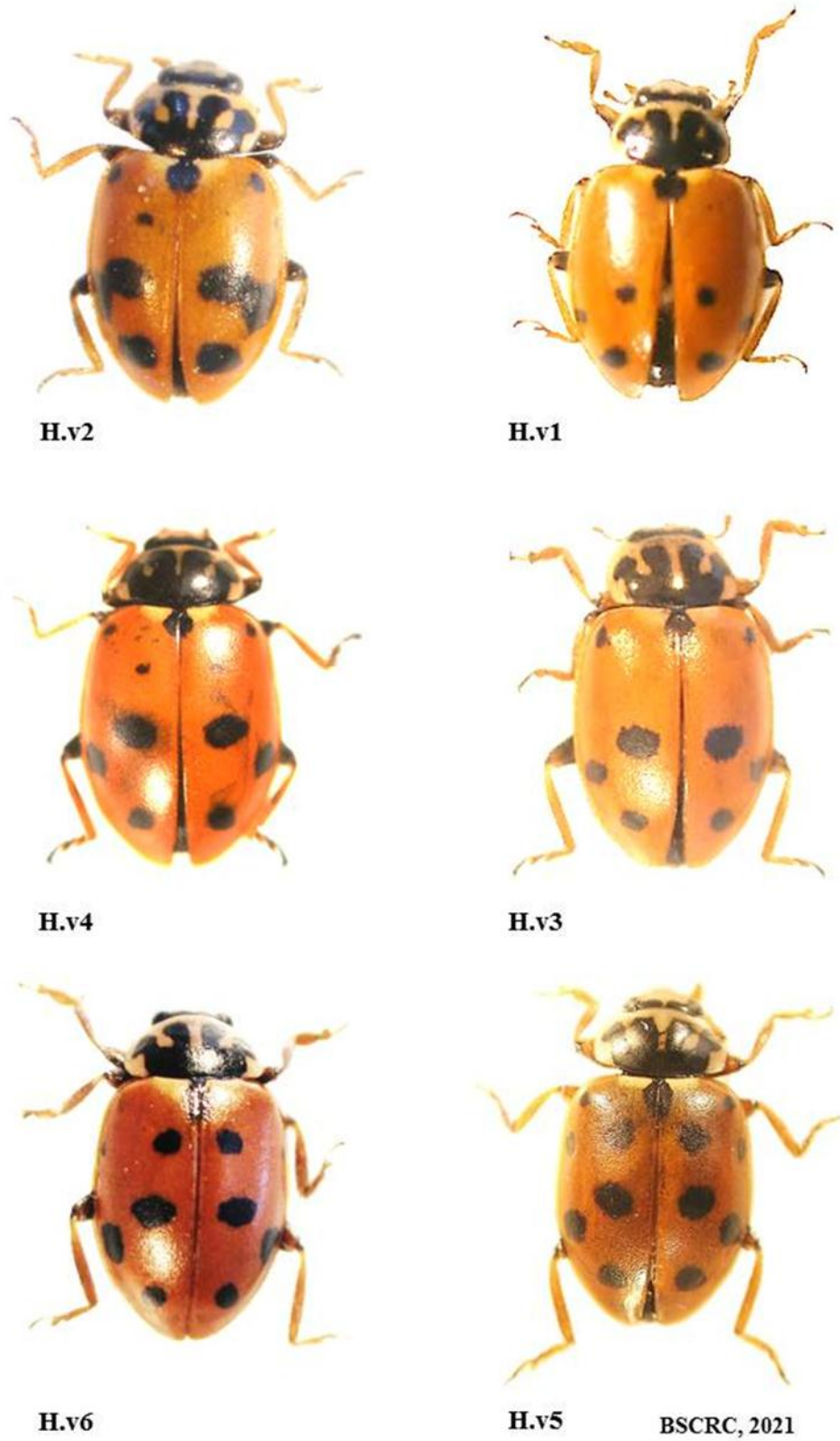
تناولت هذه الدراسة عدد من الصفات الشكلية (عدد وحجم البقع وتوزعها على الأغمد بالإضافة إلى وجود بقع مندمجة مع بعضها، وشكل البقعة التي تقع وسط الدرع Scutellum) لعينات المفترس المجموعة من مناطق الدراسة.

أظهرت النتائج أن الأشكال المختلفة للمفترس *H. vareigata* هي كما يلي:

- عينات منطقة دمشق بثلاث بقع على كل غمد (شكل 18، H.v1)
- عينات منطقة طرطوس بخمس بقع على كل غمد (شكل 18، H.v2)
- عينات منطقة حمص بأربع بقع على كل غمد (شكل 18، H.v3)
- عينات منطقة فديو بخمس بقع على كل غمد (شكل 18، H.v4)
- عينات منطقة جبلة بست بقع على كل غمد (شكل 18، H.v5)
- عينات منطقة السويداء بست بقع على كل غمد (شكل 18، H.v6)

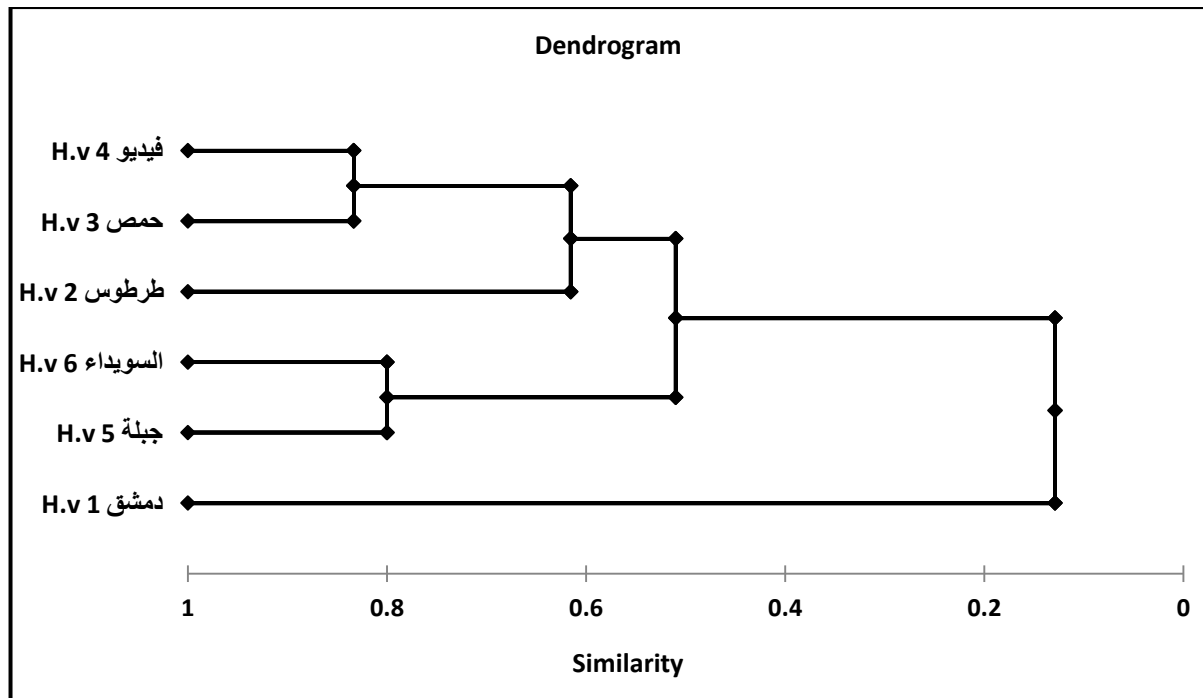
تم رسم شجرة القرابة المورفولوجية (الشكلية) لعينات المفترس بناءً على الصفات الشكلية سابقة الذكر، حيث أتبع نظام الترقيم الثنائي (1 للصفة الموجودة، 0 للصفة الغائبة). يبين الشكل (18) الأشكال المختلفة للمفترس *H. vareigata* في مناطق الدراسة.

يُلاحظ من الشكل (19) أن شجرة القرابة المورفولوجية للعينات المدروسة انقسمت إلى فرعين رئيسيين، ضم الفرع الأول العينات المجموعة من منطقة دمشق، أما الفرع الثاني فقد ضم العينات المجموعة باقي المناطق، والذي انقسم بدوره إلى تحت فرعين، ضم تحت الفرع الأول العينات المجموعة من منطقتي السويداء وجبلة (بيت ياشوط)، أما تحت الفرع الثاني فقد انقسم إلى مجموعتين، ضمت المجموعة الأولى العينات المجموعة من منطقة طرطوس، أما المجموعة الثانية فقد ضمت العينات المجموعة من مناطق حمص وفديو (اللاذقية).



BSCRC, 2021

شكل 18. الأشكال المختلفة للمفترس *H. vareigata* في مناطق الدراسة.
H.v1 - دمشق، H.v2 - طرطوس، H.v3 - حمص، H.v4 - اللاذقية (فديو)، H.v5 - جبلة (بيت ياشوط)،
H.v6 - السويداء.



شكل 19. شجرة القرابة المورفولوجية لعينات المفترس *H. variegata* المجموعة من المناطق المدروسة

7.3. التوصيف الجزيئي للعينات الحشرية للمفترس *H. variegata*

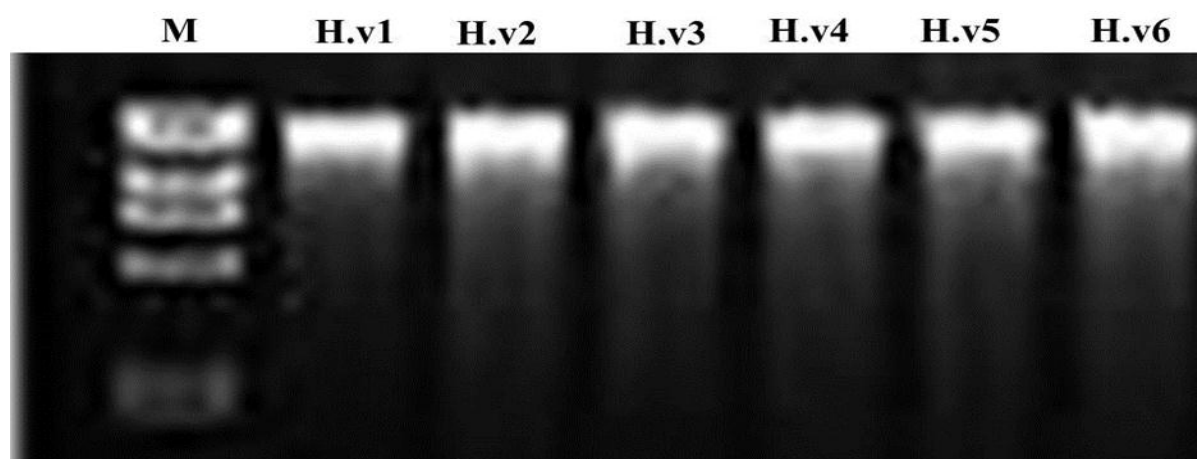
1.7.3. استخلاص الحمض النووي DNA للمفترس *H. variegata*

استُخلص الحمض النووي DNA من العينات الحشرية المدروسة للمفترس *H. variegata*، وقيس تركيزه ونقاوته بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer، وأظهر حساب النسبة بين قراءات تركيز عينات الـ DNA المستخلص من العينات الحشرية عند أطوال موجة 280/260 نانومتر قيمةً تتراوح بين 1.89 و2.04 وهي تشير إلى نقاوة جيدة للـ DNA، كما قدرت تراكيز عينات الـ DNA بين 0.53 – 1.52 في المحلول المنظم الذي خزنت فيه العينات (الجدول 13).

جدول 13. قراءات جهاز المطياف الضوئي عند أطوال موجات 280/260 نانومتر وتحديد تركيز ونقاوة عينات الحمض النووي DNA المستخلصة مقدراً بالميكروغرام/الميكروليتر

العينات الحشرية	OD 280/260	تركيز الـ DNA µg/µl
دمشق	1.89	1.52
طرطوس	2.00	0.62
حمص	1.90	0.53
فيديو	2.04	0.82
بيت ياشوط	1.84	0.64
السويداء	1.95	1.42

طبقت عملية الرحلان الكهربائي على هلامة الآغاروز 0.8% لمعرفة نوعية الحمض النووي، إذ يظهر الحمض النووي ذو النوعية الجيدة على شكل حزم Band أو عصابات مضيئة، وتتميز العينات الجيدة باحتوائها على جزيئات DNA ذات وزن جزيئي مرتفع لذلك نجد الـ DNA بأعلى الهلامة دالاً على نوعية جيدة عندما تكون خالية من التقطعات، أما عند حدوث تقطعات في شريط الـ DNA أثناء عمليات التحضير فإن ذلك يؤدي إلى الحصول على جزيئات DNA تتدرج في أطوالها وتظهر على هلامة الآغاروز على شكل خط مضيء طويل أسفل قطع الـ DNA السليمة تدعى Smeer. (الشكل 20).



شكل 20. هلامة الآغاروز بتركيز 0.8% لتحديد نوعية الحمض النووي DNA لعينات المفترس *H. variegata*
H.v1 - دمشق، H.v2 - طرطوس، H.v3 - حمص، H.v4 - فيديو، H.v5 - بيت ياشوط،
H.v6 - السويداء.

2.7.3. التعددية الشكلية Polymorphism الناتجة عن تطبيق تقنية SRAP

أظهرت نتائج الرحلان الكهربائي لنواتج الـ PCR للحمض النووي DNA للعينات الحشرية المدروسة أن 15 من أصل 19 زوجاً من البادئات المدروسة أعطت نتائج تضخيم بتطبيق تقنية SRAP، في حين أن أزواج البادئات ذات الرموز (SRAP-7، SRAP-8، SRAP-15، SRAP-17) لم تعطِ أية نتائج تضخيم، حيث أبدت أزواج البادئات الـ 15 فعالية كبيرة في الكشف عن التعددية الشكلية بين العينات الحشرية المدروسة، وبلغ العدد الكلي للحزم المتشكلة 101 حزمة منها 99 حزمة متعددة شكلياً Polymorphic وحزمتان وحيدتا التكرارية Monomorphic، وبنسبة تعددية شكلية بلغت 97.77%. تراوح عدد الحزم لأزواج البادئات بين 2 حزمة كأقل عدد مع زوج البادئات (SRAP-12) و 13 حزمة كأعلى عدد مع زوج البادئات (SRAP-1) بمتوسط بلغ 6.73 حزمة لكل زوج من البادئات، وتراوح عدد الحزم ذات التعددية الشكلية بين 2 حزمة مع زوج البادئات (SRAP-12) و 13 حزمة كأعلى عدد مع زوج البادئات (SRAP-1) بمتوسط بلغ 6.6 حزمة لكل زوج من البادئات. أعطت أزواج البادئات (SRAP-4، SRAP-9) أقل نسبة للتعددية الشكلية (83.33%)، بينما أعطت بقية أزواج البادئات أعلى نسبة للتعددية الشكلية بلغت 100% (الجدول 14).

إن ارتفاع النسبة المئوية للتعددية الشكلية (97.77%) يدل على فعالية تقنية SRAP في كشف التباينات الوراثية بين العينات الحشرية المدروسة، كما يُظهر الجدول (14) أن قيمة معامل التنوع الوراثي PIC تراوح بين (0.296) مع زوج البادئات (SRAP-13) و (0.375) مع زوج البادئات (SRAP-2) بمتوسط قدره 0.352. حيث يعكس ارتفاع قيمة PIC لدى هذه البادئات التعددية الشكلية المرتفعة فيها.

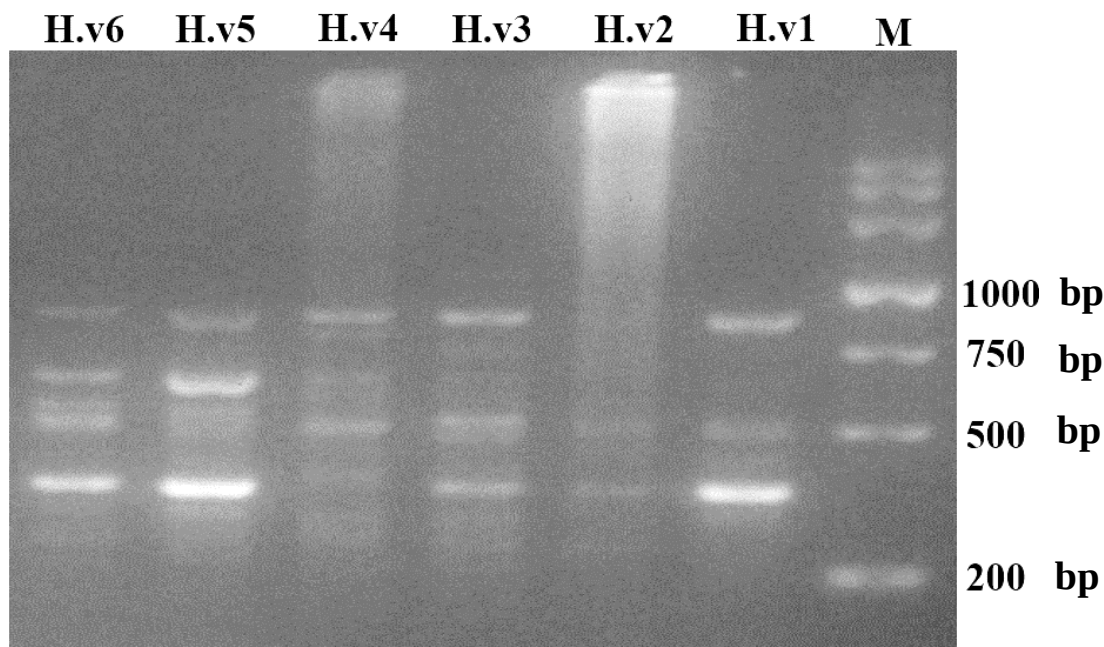
تتفق نتائج هذه الدراسة مع الدراسة التي قام بها Lin وزملاؤه عام 2009 عند دراسة التنوع الوراثي لعشر أنماط للمفترس *Harmonia axyridis* باستخدام تقنية SRAP، حيث استخدم 72 زوج من البادئات، نجح منها عشرة أزواج، أعطت 175 حزمة مضخمة منها 133 حزمة كانت متعددة شكلياً وبلغت نسبة التعددية الشكلية 76.04%.

جدول 14. رموز أزواج البادئات المستخدمة، عدد الحزم المضخمة، عدد الحزم المتعددة شكلياً، النسبة المئوية للتعددية الشكلية %، قيمة معامل التعددية الشكلية

رموز أزواج البادئات	عدد الحزم المضخمة	عدد الحزم المتعددة شكلياً	النسبة المئوية % للتعددية الشكلية	معامل التعددية الشكلية PIC
SRAP-1	13	13	100	0.353
SRAP-2	10	10	100	0.375
SRAP-3	8	8	100	0.353
SRAP-4	6	5	83.33	0.365
SRAP-5	6	6	100	0.355
SRAP-6	5	5	100	0.368
SRAP-9	6	5	83.33	0.368
SRAP-10	3	3	100	0.374
SRAP-11	6	6	100	0.365
SRAP-12	2	2	100	0.328
SRAP-13	5	5	100	0.296
SRAP-14	5	5	100	0.370
SRAP-16	11	11	100	0.305
SRAP-18	7	7	100	0.360
SRAP-19	8	8	100	0.341
المجموع	101	99		
المتوسط	6.73	6.6	97.77	0.352

ويُظهر الشكل (21) صورة هلامة الآغاروز 2% التي توضح التعددية الشكلية باستخدام زوج

البادئات (SRAP-6) للعينات الحشرية المدروسة.



شكل 21. نواتج التضخيم باستخدام زوج البادئات (SRAP-6) لعينات المفترس *H. variegata*.
M سلم جزيئي، H.v1 - دمشق، H.v2 - طرطوس، H.v3 - حمص، H.v4 - فديو، H.v5 - بيت ياشوط،
H.v6 - السويداء.

3.7.3. تحديد درجة القرابة الوراثية بين العينات الحشرية المدروسة

دُرست درجة القرابة الوراثية للمفترس *H. variegata* المجموع من مناطق مختلفة، بتطبيق مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) Percent Disagreement Values، حيث يدل ارتفاع قيم هذه المصفوفة على وجود اختلاف وراثي وبازديادها يزداد التباين الوراثي بين العينات المدروسة.

ويلاحظ من الجدول (15) أن قيم النسب المئوية لعدم التوافق PDV بالنسبة لتقنية SRAP قد تراوحت

بين 0.2719 بين العينات المجموعة من منطقتي دمشق والسويداء وهذا يدل على وجود درجة قرابة وراثية عالية بينهما، و0.9045 بين العينات المجموعة من منطقتي دمشق وفديو (اللاذقية)، ومنطقتي حمص وفديو

(اللاذقية)، مما يدل على وجود تباين وراثي بينهما. وهذا يعود إلى أن العينات الحشرية قد جمعت من مناطق جغرافية مختلفة. وكان المتوسط العام لقيم عدم التوافق $PDV=0.5$.

سُجلت أعلى درجة قرابة وراثية بين العينات المجموعة من منطقتي دمشق والسويداء وتلتها درجة القرابة بين العينات المجموعة من منطقتي طرطوس وبيت ياشوط $PDV=0.3037$ ، ثم العينات المجموعة من منطقتي دمشق وحمص حيث $PDV=0.3365$ (الجدول 15).

جدول 15. مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق PDV

فديو	بيت ياشوط	طرطوس	حمص	السويداء	دمشق
دمشق	0				
السويداء	<u>0.2719</u>	0			
حمص	0.3365	0.3365	0		
طرطوس	0.5188	0.5188	0.6931	0	
بيت ياشوط	0.5596	0.5596	0.5596	0.3037	0
فديو	<u>0.9045</u>	0.6022	<u>0.9045</u>	0.4796	0.3704

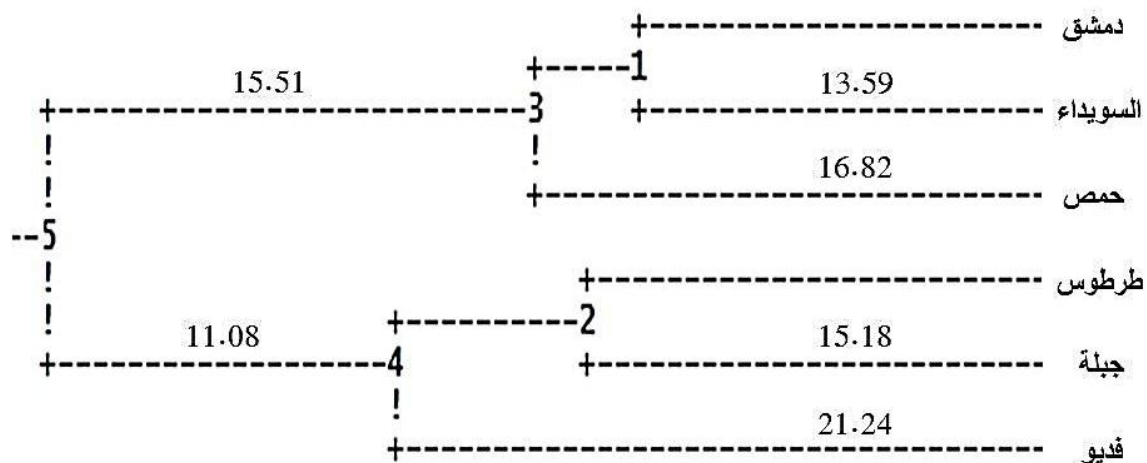
4.7.3. التحليل العنقودي

يسمح التحليل العنقودي بتقسيم العينات المدروسة إلى مجموعات تعكس درجة القرابة الوراثية فيما بينها. أُجري التحليل العنقودي للنتائج التي تم الحصول عليها ورسمت شجرة القرابة الوراثية بين العينات المدروسة للمفترس *H. variegata*.

يُلاحظ من الشكل (22) أن شجرة القرابة الوراثية للعينات المدروسة انقسمت إلى مجموعتين رئيسيتين (Clusters)، ضمت المجموعة الأولى (Clusters 1) العينات المجموعة من مناطق دمشق والسويداء وحمص، وانقسمت بدورها إلى تحت مجموعتين (Sub Cluster)؛ ضمت تحت المجموعة الأولى العينات المجموعة من

منطقتي دمشق والسويداء بمسافة وراثية قدرها 13.59 وكانت الأقرب لبعضها البعض وراثياً، أما تحت المجموعة الثانية فقد ضمت العينات المجموعة من منطقة حمص في مجموعة منفصلة وبمسافة وراثية قدرها 16.82 وكانت الأبعد وراثياً.

أما المجموعة الثانية (Clusters 2) فقد ضمت العينات المجموعة من مناطق طرطوس وجبلة (بيت ياشوط) وفديو (اللاذقية)، وانقسمت أيضاً إلى تحت مجموعتين، ضمت تحت المجموعة الأولى العينات المجموعة من منطقتي طرطوس وجبلة في مجموعة منفصلة بمسافة وراثية قدرها 15.18 وكانت الأقرب وراثياً، أما تحت المجموعة الثانية فقد ضمت العينات المجموعة من منطقة فديو (اللاذقية) في مجموعة منفصلة وبمسافة وراثية قدرها 21.24 وكانت الأبعد وراثياً. وبذلك استطاعت تقنية SRAP تحديد درجة القرابة الوراثية بين العينات المدروسة حسب توزيعها الجغرافي.



شكل 22. شجرة القرابة الوراثية للعينات المدروسة باستخدام تقنية SRAP وفق برنامج POPGEN (1.32) وبطريقة UPGAMA

تتفق هذه النتائج مع نتائج الدراسة التي قام بها Yari وزملاؤه عام 2014 عند دراسة التنوع الوراثي لأحد عشر نمطاً للمفترس *Hippodamia variegata* باستخدام تقنية RAPD في محافظة لرستان في إيران،

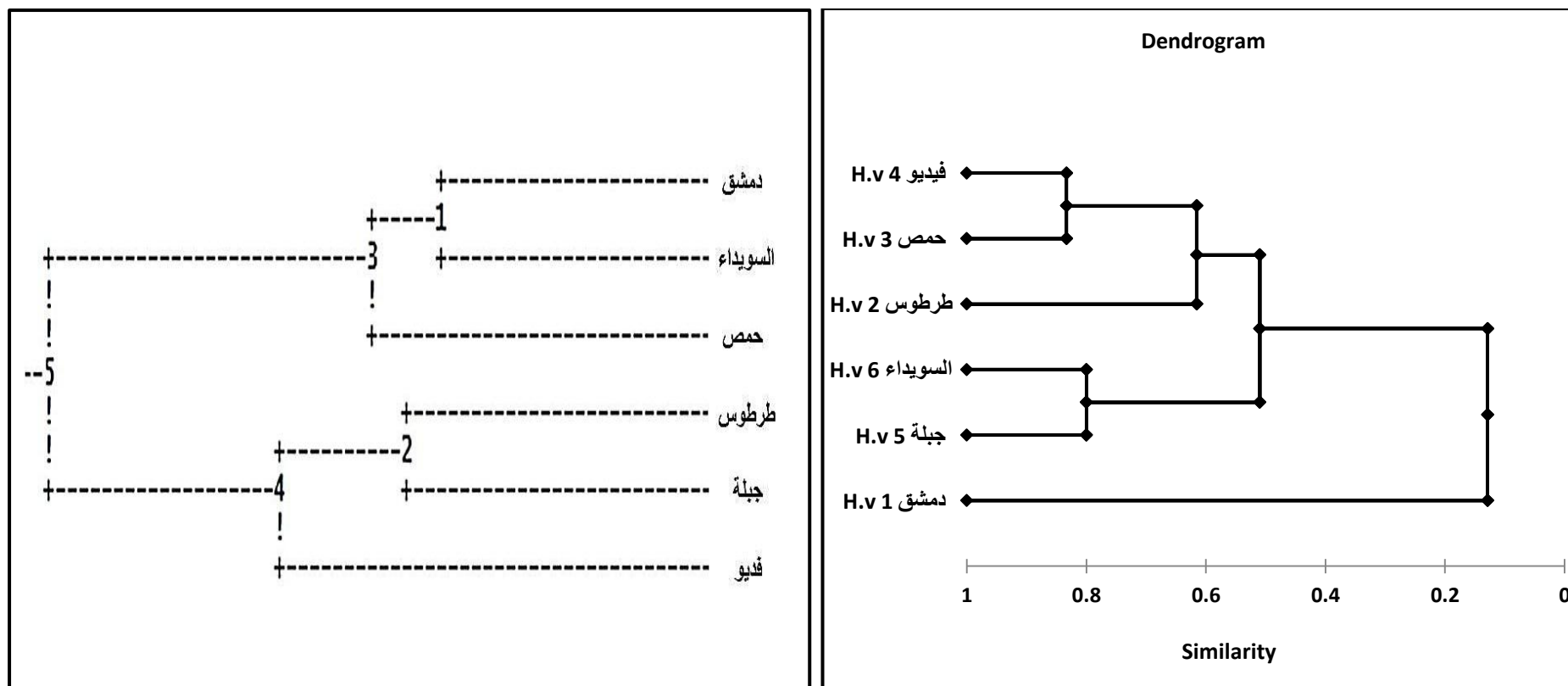
حيث استخدم 9 بادئات، أعطت 179 حزمة مضخمة، وأشارت نتائج التحليل العنقودي إلى وجود اختلافات وراثية عالية بين المجموعات التي تمت دراستها في محافظة لرستان في إيران.

5.7.3. المقارنة بين شجرة القرابة المورفولوجية وشجرة القرابة الوراثية لعينات المفترس المدروسة

إن الشكل أو الطراز المظهري Phenotype لفرد ما هو التعبير الآني عن التركيب الوراثي ضمن ظروف بيئية محددة، أما الطراز الوراثي Genotype لفرد ما فهو مجموعة المورثات التي تؤثر في صفاته، فمهما اختلفت ظروف البيئة فإن التركيب الوراثي يظل ثابتاً، في حين أنّ الشكل الظاهري يتغير بتغير الظروف البيئية، ويمكن التعبير عن ذلك كما يلي:

مظهر الفرد $P = \text{تركيبه الوراثي } G + \text{تأثير البيئة } E + \text{تفاعل التركيب الوراثي مع البيئة } GE$.

يبين الشكل (23) المقارنة بين شجري القرابة المورفولوجية والوراثية لعينات المفترس *H. variegata* المجموعة من المناطق المدروسة، حيث وُجد أن العينات المجموعة من منطقتي طرطوس واللاذقية (فديو) كانت متقاربة مورفولوجياً ووراثياً وهذا يدل على أن تأثير البيئة عليها محدود وبالتالي يمكن اعتبارها طرز وراثية، في حين كانت العينات المجموعة من مناطق دمشق والسويداء وحمص متقاربة وراثياً ومتباعدة مورفولوجياً، وبالتالي فإن تأثير البيئة على هذه العينات كان كبيراً، وبالتالي يمكن اعتبارها طرز بيئية فقط، وكذلك العينات المجموعة من منطقة جبلة (بيت ياشوط)، فقد كانت متقاربة وراثياً ومتباعدة مورفولوجياً مع العينات المجموعة من مناطق طرطوس وفيدو (اللاذقية)، وبالتالي يمكن اعتبار العينات المجموعة من منطقة جبلة (بيت ياشوط) طرز بيئية فقط.



شجرة القرابة الوراثية لعينات المفترس *H. vareigata* المجموعة من المناطق المدروسة

شجرة القرابة المورفولوجية لعينات المفترس *H. vareigata* المجموعة من المناطق المدروسة

شكل 23. المقارنة بين شجرة القرابة المورفولوجية وشجرة القرابة الوراثية لعينات المفترس المدروسة

الخاتمة

تم في هذا البحث دراسة تأثير نوع الفريسة في مدة تطور المفترس *Hippodamia variegata* وفي معدل البقاء لأطواره غير الكاملة، وفي الخصوبة الظاهرية والخصوبة الحقيقية، وفي المقدرة الافتراضية لمختلف أطوار المفترس، كما تم دراسة التعددية الشكلية لأفراد المفترس *H. variegata* في منطقة الدراسة، وأخيراً تم دراسة درجة القرابة الوراثية للمفترس *H. variegata* في مناطق مختلفة من سورية باستخدام تقنية SRAP.

بيّنت نتائج الدراسة أن هناك فروقات ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 0.01 لتأثير لفريسة المستخدمة في التربية المخبرية في الخصائص الحياتية المختلفة للمفترس *H. variegata*، والخصوبة والكفاءة الافتراضية للمفترس. حيث اختلفت دورة حياة المفترس *H. variegata* باختلاف الفريسة المستخدمة في عملية التربية، حيث كانت مدة تطور الأطوار المختلفة للمفترس المربى على من الفول أقصر مما هي من المفترس المربى على من الفول، كما اختلف معدل البقاء للأطوار غير الكاملة للمفترس *H. variegata* باختلاف الفريسة المربى عليها المفترس، فكان معدل البقاء للأطوار المختلفة للمفترس المربى على من الملفوف أقل مما هي على من الفول، كما كانت فترة وضع البيض ومدة حياة الأنثى والخصوبة الكلية Fecundity والخصوبة الحقيقية Fertility ونسبة فقس البيض لإناث المفترس *H. variegata* للمفترس المربى على من الفول أعلى مما هي للمفترس المربى على من الملفوف. أظهرت أفراد المفترس العديد من الأشكال المتباينة ضمن المنطقة المدروسة، والتي تختلف بعدد وحجم وشكل البقع وتوزعها على الغمد.

أظهرت نتائج الرحلان الكهربائي لنواتج الـ PCR للحمض النووي DNA للعينات الحشرية المدروسة أن 15 من أصل 19 زوج من البادئات المدروسة أعطت نتائج تضخيم بتطبيق تقنية SRAP، حيث أبدت أزواج البادئات الـ 15 فعالية كبيرة في الكشف عن التعددية الشكلية بين العينات الحشرية المدروسة. إن ارتفاع النسبة المئوية للتعددية الشكلية (97.77%) يدل على فعالية تقنية SRAP في كشف التباينات الوراثية بين العينات الحشرية المدروسة. تراوح قيمة معامل التنوع الوراثي PIC بين (0.296 – 0.325). حيث يعكس ارتفاع قيمة PIC لدى هذه البادئات التعددية الشكلية المرتفعة.

تراوحت قيم النسب المئوية لعدم التوافق PDV بالنسبة لتقنية SRAP بين 0.2719 بين العينات المجموعة من منطقتي دمشق والسويداء وهذا يدل على وجود درجة قرابة وراثية عالية بينهما، و0.9045 بين العينات المجموعة من منطقتي دمشق وفديو (اللاذقية)، ومنطقتي حمص وفديو (اللاذقية)، مما يدل على وجود تباين وراثي بينهما. وهذا يعود إلى أن العينات الحشرية قد جمعت من مناطق جغرافية مختلفة. انقسمت شجرة القرابة الوراثية للعينات المدروسة إلى مجموعتين رئيسيتين، ضمت المجموعة الأولى العينات المجموعة من مناطق دمشق والسويداء وحمص، وانقسمت بدورها إلى تحت مجموعتين، ضمت تحت المجموعة الأولى العينات المجموعة من منطقتي دمشق والسويداء بمسافة وراثية قدرها 13.59 وكانت الأقرب لبعضها البعض وراثياً، أما تحت المجموعة الثانية فقد ضمت العينات المجموعة من منطقة حمص في مجموعة منفصلة وبمسافة وراثية قدرها 16.82 وكانت الأبعد وراثياً. أما المجموعة الثانية فقد ضمت العينات المجموعة من مناطق طرطوس وجبل (بيت ياشوط) وفديو (اللاذقية)، وانقسمت أيضاً إلى تحت مجموعتين، ضمت تحت المجموعة الأولى العينات المجموعة من منطقتي طرطوس وجبل في مجموعة منفصلة وبمسافة وراثية قدرها 15.18 وكانت الأقرب وراثياً، أما تحت المجموعة الثانية فقد ضمت العينات المجموعة من منطقة فديو (اللاذقية) في مجموعة منفصلة وبمسافة وراثية قدرها 21.24 وكانت الأبعد وراثياً.

الاستنتاجات

1. اختلفت معظم المؤشرات الحيوية المدروسة للمفترس باختلاف الفريسة المستخدمة في عملية التربية.
2. تفوقت أفراد المفترس الناتجة عن التربية على حشرة مَنّ الفول في معظم المؤشرات الحيوية المدروسة على الأفراد الناتجة عن التربية على حشرة مَنّ الملفوف.
3. هناك تباين وتعدد شكلي كبير للمفترس من حيث عدد وحجم البقع وشكلها وتوزيعها على الأغصان والصدر الأول.
4. أثبتت تقنية SRAP فعاليتها في كشف التباينات الوراثية بين العينات الحشرية المدروسة المجموعة من مناطق مختلفة.

5. كان للتوزيع الجغرافي تأثير على درجة القرابة الوراثية للمفترس حيث سُجلت أعلى درجة قرابة وراثية بين العينات المجموعة من منطقتي دمشق والسويداء نظراً للتشابه في الظروف المناخية المختلفة.

المقترحات والتوصيات

1. استخدام حشرة مَنّ الفول كفريسة للمفترس *H. variegata* في التربية الكمية لهذا المفترس لاستخدامه في برامج مكافحة الحيوية لحشرات المَنّ.
2. متابعة إجراء الدراسات للوصول إلى أفضل عائل حشري كفريسة لهذا المفترس، والذي يعطي أعلى قيم لمؤشرات الحيوية.
3. إجراء دراسات لمحاولة إيجاد عائل بديل لتربية المفترس مخبرياً.
4. اعتماد تقنية SRAP كتقنية مهمة في دراسة التنوع الوراثي للحشرات للكشف عن درجة القرابة الوراثية فيما بينها.
5. انتخاب مؤشرات جزيئية باستخدام تقنية SRAP أو غيرها من التقنيات تساعد في انتخاب المجتمعات المدروسة ذات المؤشرات الحياتية الأعلى لإكثارها كمياً دون اللجوء إلى التربية على عوائل متعددة لمعرفة ذلك.

المراجع

1. خليل، نذير، ومراد، عبد الرحمن. (2005). مساهمة في دراسة قبيلة Coccinellini من خنافس أبي العيد (الدعسوقيات) (Coccinellidae, Coleoptera) في جنوب سورية. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية. المجلد 21. العدد الأول. ص - ص 153 - 169.
2. Aalbersberg, Y. K., M. C. Van der Westhuizen and P. H. Hewitt. (1988). Natural enemies and their impact on *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Hemiptera: Aphididae) populations. **Bulletin of entomological research**, 78(1): 111-120.
3. Abd ElAzim, A. M., E. H. Khashaba, and S. A. Ibrahim. (2019). Genetic polymorphism among seven entomopathogenic nematode species (Steinernematidae) revealed by RAPD and SRAP analyses. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**. 29(1): 1-7.
4. Alan, K. (1979). Pyrethroids and the adults of *Adonia variegata*. **Zashchita Rastitelna**. 27: 17-20
5. Alhmedi, A., É. Haubruge, and F. Francis. (2010). Intraguild interactions implicating invasive species: *Harmonia axyridis* as a model species. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**. 14(1): 187-201.
6. Ali, M., G. Raza, S. Ali, S. I. Anjum, and I. Hussain. (2018). The Tribe Coccinellini Weise (Coleoptera: Coccinellidae) in Sindh, Pakistan. **The Coleopterists Bulletin**. 72(3): 629-638.
7. Andres, J. A., and A. Cordero. (1999). The inheritance of female color morphs in the damselfly *Ceriagrion tenellum* (Odonata, Coenagrionidae). **Heredity**. 82: 328-335.
8. Araya, J. E., P. Arretz, L. Lamborot and M. A. Guerrero. (1997). Natural control by predators of *Rachiplusia nu* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) on *Phaseolus* beans in central Chile. **Journal of Plant Diseases and Protection**. 104(2): 147-152.
9. Belikova, E. V., and E. M. Kosaev. (1985). The biology of the most important species of Coccinellidae and their role in controlling aphids in a cotton-lucerne rotation. **Biologicheskikh Nauk**. 5: 61-63.

10. Biranvand, A., and J. Shakarami. (2015). First report of 18 morphs of *Hippodamia variegata* Goeze (Col.: Coccinellidae) in Iran. **Entomol Ornithol Herpetol.** 4(1): 1-3.
11. Biranvand, A., O. Nedvěd, R. Nattier, E. Nepaeva and D. Haelewaters. (2020). Review of the genus *Hippodamia* (Coleoptera: Coccinellidae) in the Palearctic region. **Oriental Insects.** 55(2): 293-304.
12. Biranvand, A., R. Jafari; and M. Z Khormizi. (2013). Polymorphism of *Hippodamia vareigata* Goeze (Col.: Coccinellidae) in Lorestan province, Iran. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences.** 5(21): 2655-2659.
13. Blackman, R. L. (1967). Selection of aphid prey by *Adalia bipunctata* L. and *Coccinella 7- punctata* L. **Annals of Applied Biology.** 59(3): 331-338.
14. Blackman, R. L., V. F. Eastop. (2000). **Aphids on the world's crops: an identification and information guide, 2nd edition.** John Wiley and Sons. New York. USA. p: 476.
15. Blehman, A. V. (2007). Variability of pronotum patterns in ladybird beetle *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera, Coccinellidae). **Ekol. Genet.** 5(2): 25–36.
16. Brakefield, P. M. (1985). Polymorphic Müllerian mimicry and interactions with thermal melanism in ladybirds and a soldier beetle: a hypothesis. **Biological Journal of the Linnean Society.** 26(3): 243-267.
17. Brakfeild, P. M., and P. G. Willmer. (1985). The basis of thermal melanism in the ladybird *Adalia bipunctata*: Differences in reflectance and thermal properties between the morphs. **Heredity.** 54: 9–14.
18. Bridges, M., Jones, A. M. E., Bones, A. B., Hodgson, C., Cole, R., Bartlett, E., Walls grove, R., Karapapa, V. K., Watts, N. and J. T. Rossiter.(2002). Spatial organization of the glycosinolate-myrosinase system in brassic specialist aphids is similar to that of the host plant. Proceedings of the Royal Society of London. Series B. **Biological Sciences.** 269(1487): 187-191.
19. Budak, H., R. C. Shearman, I. Parmaksiz, R. E. Gaussoin, T. P. Riordan, and I. Dweikat. (2004b). Molecular characterization of buffalograss germplasm using

- sequence-related amplified polymorphism markers. **Theoretical and Applied Genetics** 108(2): 328-334.
20. Budak, H., R. C. Shearman, R. E. Gaussoin, and I. Dweikat. (2004a). Application of sequence-related amplified polymorphism markers for characterization of turfgrass species. **HortScience**. 39(5):955-958.
 21. **CABI**. (2021). *Hippodamia variegata* (Online). Accessed January 05, 2021 at: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/27226#toreferences>
 22. Caillaud, M. C., and J. E. Losey. (2010). Genetics of color polymorphism in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. **Journal of Insect Science** 10(95): 1-13.
 23. Castonguay, Y., J. Cloutier, A. Bertrand, R. Michaud and S. Laberge. (2010). SRAP polymorphisms associated with superior freezing tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* spp. sativa). **Theoretical and Applied Genetics**. 120(8): 1611–1619.
 24. Cenis, J. L., P. Perez, and A. Fereres. (1993). Identification of aphid (Homoptera: Aphididae) species and clones by random amplified polymorphic DNA. **Annals of the Entomological Society of America**. 86(5): 545-550.
 25. Chesnokov, Y. V., and A. M. Artemyeva. (2015). Evaluation of the measure of polymorphism information of genetic diversity. **Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya**. 50(5): 571-578.
 26. Cordero, A. (1990). The inheritance of female polymorphism in the damselfly *Ischnura elegans* (Rambur) (Odonata: Coenagrionidae). **Heredity**. 64: 341-346.
 27. De-Jong, P. W., and P. M. Brakefield. (1998). Climate and change in clines for melanism in the two spot ladybird, *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Proceedings of the Royal Society of London B. Biological Science**. 265: 39-43.
 28. Deng, C. L., R. Y. Qin, J. Gao, Y. Y. Jia, Y. X. Ren, W. J. Gao, and L. D. Lu. (2013). SRAP analysis of DNA base sequence changes in lotus mutants induced by Fe (+) implantation. **Genetics and Molecular Research**. 12(1): 335-343.

29. Dixon, A. F. G. (2000). **Insect predator-prey dynamics: ladybird beetles and biological control**. Cambridge University Press. Cambridge. 257 p.
30. Dolenska, M., O. Nedved, P. Vesely, M. Tesarova, and R. Fuchs. (2009). What constitutes optical warning signals of ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) towards bird predators: colour, pattern or general look?. **Biological Journal of the Linnean Society**. 98(1): 234-242.
31. Edmunds, M. (1974). **Defence in animals: a survey of anti-predator defences**. Longman Publishing Group. p: 357.
32. El-Habi, M., A. Sekkat, L. El-Jadd and A. Boumezzough. (2000). Biology of *Hippodamia variegata* Goeze (Col., Coccinellidae) and its suitability against *Aphis gossypii* Glov (Hom., Aphididae) on cucumber under greenhouse conditions. **Journal of Applied Entomology**. 124(9/10): 365-374.
33. El-Hag, E. A. (1992). Potential role of indigenous Coccinellidae in regulation of aphid populations in Central Arabia wheat fields. **Tropical Pest Management**. 38(4), 425–430.
34. El-Hag, E. A., A. A. Rokaibah and A. A. Zaitoon. (1996). Natural enemies of cereal aphids in sprinkler-irrigated wheat in central Saudi Arabia. **Bulletin of Faculty of Agriculture**. University of Cairo. 47(4): 649-663.
35. El-Hag, E. T. E., and A. A. Zaitoon. (1996) . Biological parameters for four coccinellid species in central Saudi Arabia. **Biological Control**. 7(3): 316-319.
36. Ercan, F. S., S. Oztemiz, S. Ozcan, and A. S. Tuncbilek. (2012). Detection of genetic polymorphism by RAPD-PCR in two *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) species in Turkey. **Turk Entomol Derg-tu**. 36 (2): 177-182.
37. Fan, G. H., and J. F. Zhao. (1988). Functional response of *Adonia variegata* to cotton aphids. **Nat Econ Insect**. 10(4): 187–190.
38. Farhadi, R., H. Allahyari and H. Chi. (2011). Life table and predation capacity of *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae) feeding on *Aphis fabae* (Homiptera: Aphididae). **Biological Control**. 59(2): 83-89.

39. Ferriol, M., B. Pico, and F. Nuez. (2003). Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. **Theoretical and Applied Genetics**. 107(2): 271–282.
40. Forsman, A. (1999). Reproductive life history variation among color morphs of the pygmy grasshopper *Tetrix subulata*. **Biological Journal of the Linnean Society** 67(2): 47-261.
41. Forsman, A., K. Ringblom, E. Civantos, and J. Ahnesjo. (2002). Coevolution of color pattern and thermoregulatory behavior in polymorphic pygmy grasshoppers *Tetrix undulate*. **Evolution**. 56(2): 349-360.
42. Franzmann, B. A. (2002). *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae), a predacious ladybird new in Australia. **Australian Journal of Entomology**. 41(4): 375-377.
43. Goeze, J. A. E. (1777). Entomologische Beyträge zu des Ritter Linné zwölften Ausgabe des Natursystems. **Erster Theil. Leipzig**. p: 763.
44. Gordon, R. D. (1985). The Coccinellidae (Coleoptera) of America north of Mexico. **Journal of the New York Entomological Society**. 93(1): 1-912.
45. Gordon, R. D. (1987). The first North American records of *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of the New York Entomological Society**. 95(2): 307–309.
46. Gordon, R. D., and N. Vandenberg. (1991). Field guide to recently introduced species of Coccinellidae (Coleoptera) in North America, with a revised key to North American genera of Coccinellini. **Proceedings of the Entomological Society of Washington**. 93(4): 845-864.
47. Grigorov, S. (1977). Biological peculiarities of some ladybird beetle attacking aphids. **Oecologia**. 87(4): 401-408.
48. Gulsen, O., A. Uzun, I. Canan, U. Seday, and E. Canihos. (2010). A new citrus linkage map based on SRAP, SSR, ISSR, POGP, RGA and RAPD markers. **Euphytica**. 173(2): 265-277.
49. Gumovskaya, G. N. (1985). The coccinellid fauna. **Zashchita Rastenii**. 11: 43.

50. Hagen, K. S. (1962). Biology and ecology of predaceous Coccinellidae. **Annual review of entomology**. 7(1): 289-326.
51. Hamed, S. F., V. K. Sud and N. P. Kashyap. (1975). *Adonia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae), an important predator of the Indian grain aphid *Macrosiphum (Sitobion) miscanthi* Tak. Kulu Valley (Himachal Pradesh). **Indian Journal of Entomology**. 37(2): 209-210.
52. Hashemi, M., F. Nabipour, R. Yari, and R. Jafari. (2018). The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis for studies of genetic variation in populations of *Hippodamia variegata* (Col.:Coccinellidae) in Lorestan provinces, Iran. **Iranian Journal of Entomological Research**. 9(4): 393-400.
53. Hattingh, V., and M. J. Samways. (1990). Absence of intraspecific interference during feeding by the predatory ladybirds *Chilocorus spp.* (Coleoptera: Coccinellidae). **Ecological Entomology**. 15(4): 385–390.
54. Higashi, S., and C. P. Peeters. (1990). Worker polymorphism and nest structure in *Myrmecia brevinoda* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Australian Journal of Entomology**. 29: 327-331.
55. Hodek, I. (1960). The influence of various aphid species as food for two ladybirds *Coccinella 7-punctata* L. and *Adalia bipunctata* L. **In The Ontogeny of insects (Proceedings of the Symp. Praha, 1959)**. pp: 314-316.
56. Hodek, I. (1973). **Biology of Coccinellidae. Czechoslovak Academy of Science**. Prague. Czechoslovakia. p: 260.
57. Hodek, I. (1996). Food relationships. In Hodek I. and Hončák A. (eds). Ecology of Coccinellidae. Kluwer Academic Publishers. **Dordrecht**. pp: 143–238.
58. Hodek, I., and A. Honek. (1996). Ecology of Coccinellidae. **Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands**. 10: 978-94.
59. Hodek, I., H. F. van Emden, and A. Honek. (2012). **Ecology and behaviour of the ladybird beetles (Coccinellidae)**. Wiley-Blackwell. UK. 600 pp.

60. Hoekstra, H. E., and M. W. Nachman. (2003). Different genes underlie adaptive melanism in different populations of rock pocket mice. **Molecular Ecology**. 12(5): 1185-1194.
61. Honek, A. (1985). Habitat preference of aphidophagous coccinellids (Coleoptera). **Entomophaga**. 30(3): 253-264.
62. Honek, A., Z. Martinkova, P. Saska, and A. F. G. Dixon. (2012). Temporal variation in elytral colour polymorphism in *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae). **European Journal of Entomology** 109(3): 389–394.
63. Iperti, G. (1966). Comportement naturel des coccinelles aphidiphages du sud-est de la France. leur type de spécificité, leur action prédatrice sur *Aphis fabae* L. **Entomophaga**. 11(2): 203-210.
64. Jafari, R. (2011). Biology of *Hippodamia Variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae), on *Aphis Fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae). **Journal of Plant Protection Research**. 51(2): 190-194.
65. Jervis, M. A., M. J. W. Copland and J. A. Harvey. (2005). The life cycle. In: Jervis, M. A, Editor. **Insects as Natural Enemies** - A Practical Perspective. pp: 73-165. Springer.
66. Ji, Y. J., W. U. YC, and D. X. Zhang. (2005). Novel polymorphic microsatellite markers developed in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Insect Science**. 12: 331-334.
67. Jiggins, F. M., and M. C. Tinsley. (2005). An Ancient Mitochondrial Polymorphism in *Adalia bipunctata* Linked to a Sex-Ratio-Distorting Bacterium. **Genetics Society of America**. 171(3): 1115–1124.
68. Kalushkov, P., and I. Hodek. (2001). New essential aphid prey for *Anatisocellata* and *Calvia quatuordecimguttata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Biocontrol Science and Technology**. 11(1): 35 – 39.
69. Karagounis, C., A. K. Kourdoumbalos, J. T. Margaritopoulos, G. D. Nanos and J. A. Tsitsipis. (2006). Organic farming-compatible insecticides against the aphid *Myzus persicae* (Sulzer) in peach orchards. **Journal of Applied Entomology**. 130(3): 150-154.

70. Katsarou, I., J. T. Margaritopoulos, J. A. Tsitsipis, D. C. Perdikis and K. D. Zarpas. (2005). Effect of temperature on development, growth and feeding of *Coccinella septempunctata* and *Hippodamia convergens* reared on the tobacco aphid, *Myzus persicae nicotianae*. **BioControl**. 50(4): 565-588.
71. Kavallieratos, N. G., C. G. Athanassiou, Z. Tomanovic, G. D. Papadopoulos, and B. J. Vayias. (2004). Seasonal abundance and effect of predators (Coleoptera, Coccinellidae) and parasitoids (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) on *Myzus persicae* (Hemiptera, Aphidoidea) densities on tobacco: a two-year study from Central Greece. **Biologia-Bratislava**. 59(5): 613-620.
72. Kavallieratos, N. G., G. J. Stathas, C. G. Athanassiou and G. T. Papadoulis. (2002). *Dittrichia viscosa* and *Rubus ulmifolius* as reservoirs of aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) and the role of certain coccinellid species. **Phytoparasitica**, 30(3): 231-242.
73. Khan, A. A., F. A. Zaki, Z. H. Khan and R. A. Mir. (2009). Biodiversity of predaceous ladybird beetles (Coleoptera: Coccinellidae) in Kashmir. **Journal of Biological Control**. 23(1): 43-47.
74. Khnzorian, S. M. I. (1982). **Les Coccinelles Coleopteres-Coccinellidae**. Tribu Coccinellini desregions Palearctique et Orientale. Paris. p:568.
75. Khormizi, A., A. A. pour, A. Beiranvand and H. Pourbehi. (2013). Polymorphism of *Hippodamia variegata* Goeze (Col.: Coccinellidae) in central region of Iran. Intl. Res. **J. Appl. Basic. Sci.** 4 (12): 4102-4105.
76. Komarek, S. (2003). **Mimicry, aposematism and related phenomena: mimetism in nature and the history of its study**. Lincom Europa.p:164.
77. Kontodimas, D. C., and G. J. Stathas. (2005). Phenology, fecundity and life table parameters of the predator *Hippodamia variegata* reared on *Dysaphis crataegi*. **Biocontrol**. 50(2): 223-233.
78. Kosaki, A., and R. Yamaoka. (1996). Chemical composition of footprints and cuticular lipids of three species of lady beetles. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology**. 40(1): 47-53.

79. Krafsur, E. S., J. J. Obrycki, and P. Nariboli. (1996). Gene flow in colonizing *Hippodamia variegata* ladybird beetle populations. **Journal of Heredity**. 87(1): 41-47.
80. Lanzoni, A., G. Accinelli, G. G. Bazzocchi and G. Burgio. (2004). Biological traits and life table of the exotic *Harmonia axyridis* compared with *Hippodamia variegata*, and *Adalia bipunctata* (Col., Coccinellidae). **Journal of Applied Entomology**. 128(4): 298-306.
81. Lee, J. H., and T. J. Kang. (2004). Functional response of *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) to *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: aphididae) in the laboratory. **Biological control**. 31(3): 306-310.
82. Li, G., and C. F. Quiros. (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. **Theoretical and Applied Genetics**. 103(2-3): 455-461.
83. Li, Q.Y., S. J. Dong, W. Y. Zhang, R. Q. Lin, C. R. Wang, D. X. Qian, Z. R. Lun, H. Q. Song, and X. Q. Zhu. (2009). Sequence-related amplified polymorphism, an effective molecular approach for studying genetic variation in *Fasciola* spp. Of human and animal health significance. **Electrophoresis**. 30(2): 403-409.
84. Li, W., Z. Lin, and X Zhang. (2007). A novel segregation distortion in intraspecific population of Asian cotton (*Gossypium arboreum* L.) detected by molecular markers. **Journal of genetics and genomics**. 34(7): 634-640.
85. Li, X. Y., J. Li, Z. J. Zhao, F. Yang, Q. W. Fu, H. S. Liu, D. D. Wang, Y. C. Yang, and R. Y. Wang. (2014). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) for studying genetic diversity and population structure of plants and other living organisms: a protocol. **Journal of Animal and Plant Sciences**. 24(5): 1478-1486.
86. Liepert, C., and K. Dettner. (1996). Role of cuticular hydrocarbons of aphid parasitoids in their relationship to aphid-attending ants. **Journal of Chemical Ecology**. 22(4): 695–707.

87. Lin, C., C. Defu, Z. Shengming, and Y. Aihong. (2009). SRAP analysis of Different Splash Types of *Harmonia axyridis* in maoershan Region, Heilongjiang Province. **Journal of Northeast Forestry University**. 37(5): 15-22.
88. Mandour, N. S. (2009). Development, survival, feeding consumption and reproduction of the convergent lady beetle, *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae) feeding on three aphid species. **Agric. Res. J.** Suez Canal University. 9(1): 103-108.
89. Mandour, N. S. (2013). Effect of Five Aphid Species on Life History Attributes of the Variegated Lady Beetle, *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**. 23(1): 151- 157.
90. Mandour, N. S., N. A. S. El-Basha and T. X. Liu. (2006). Functional response of the ladybird, *Cydonia vicina nilotica* to cowpea aphid, *Aphis craccivora* in the laboratory. **Insect Science**. 13(1): 49-54.
91. Maniatis, T., E .F. Fritsch, and J. Sambrook. (1982). **Molecular cloning – Laboratory manual**. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. p:2000.
92. Margaritopoulos, J. T., P. J. Skouras, P. Nikolaidou, J. Manolikaki, K. Maritsa, K. Tsamandani, O. M. Kanavaki, N. Bacandritsos, K. D. Zarpas, and J. A. Tsitsipis. (2007). Insecticide resistance status of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) populations from peach and tobacco in mainland Greece. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**. 63(8): 821-829.
93. Matena, J. (1995). Polymorphism of *Chironomus plumosus* (Diptera: Chironomidae) males from a temperature fish-pond population. **European journal of entomology**. 92: 699-703.
94. Michaud, J. P. (2005). On the assessment of prey suitability in aphidophagous Coccinellidae. **European Journal of Entomology**. 102(3): 385-390.
95. Michie, L. J., F. Mallard, M. E. N. Majerus, and F. M. Jiggins. (2010). Melanic through nature or nurture: genetic polymorphism and phenotypic

- plasticity in *Harmonia axyridis*. **Journal of evolutionary biology**. 23(8): 1699–1707.
96. Mokbel, E. S. S., and A. I. Mohamed. (2009). Development of resistance in field strain of *Aphis craccivora* to the dinotefuran insecticides from the new class neonicotinoids and its effect on some enzymes content. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**. C, Physiology and Molecular Biology. 1(1): 65-69.
 97. Mulsant, É. (1846). Histoire naturelle des Coléoptères de France. **Sulcicolles-Securipalpes**. Paris. p: 280.
 98. Nadeem, M. A., M. A. Nawaz, M. Q. Shahid, Y. Doğan, G. Comertpay, M. Yıldız,, ... & F. S. Baloch,. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**. 32(2): 261-285.
 99. Natskova, V. (1973). The effect of aphid predators on the abundance of aphids on peppers. **Rastitelna Zashchita**. 21(2): 20–22.
 100. Nedved, O. (1999). Host complexes of predaceous ladybeetles (Col., Coccinellidae). **J. Appl. Entomol.** 123: 73–76.
 101. Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 70(12): 3321-3323.
 102. Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**. 89(3): 583-590.
 103. Nicoli, G., L. Limonta, C. Gavazzuti and M. Pozzati. (1995). The role of hedges in the agroecosystem. 1: Initial studies on the Coccinellidae predators of aphids [Emilia-Romagna]. **Informatore Fitopatologico**. 45(7–8): 58-64.
 104. Obrycki, J. J., and C. J. Orr. (1990). Suitability of three prey species for Nearctic populations of *Coccinella septempunctata*, *Hippodamia variegata*, and *Propylea quatuordecimpunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Economic Entomology**. 83(4): 1292-1297.
 105. Obrycki, J. J., J. D. Harwood, T. J. Kring and R. J. O’Neil. (2009). Aphidophagy by Coccinellidae: application of biological control in agroecosystems. **Biological control**. 51(2): 244-254.

106. Ogenga-Latigo, M. W. (1994). Species range and abundance of insect predators of the bean aphid, *Aphis fabae* Scop.(Homoptera: Aphididae) on common beans in Kenya. **International Journal of Tropical Insect Science**. 15(1): 55-59.
107. Okamoto, H. (1966). Three problems of prey specificity of aphidophagous coccinellids. In: Hodek, I, Editor. **Ecology of Aphidophagous Insects**. pp: 45–46.
108. Omkar., and B. E. James. (2004). Influence of prey species on immature survival, development, predation and reproduction of *Coccinellatransversalis* Fabricius (Col., Coccinellidae). **Journal of Applied Entomology**. 128 (2): 150–157.
109. Omkar., and S. Srivastava. (2003). Influence of six aphid prey species on development and reproduction of a ladybird beetle, *Coccinella septempunctata*. **BioControl**. 48(4): 379-393.
110. Pervez, A., A. D. H. N. Maia, H. Bozdoğan. (2020). Reproduction and demography of an Aphidophagous ladybird, *Hippodamia variegata* on six aphid species. **International Journal of Tropical Insect Science**. 40(3): 541-548.
111. Pervez, A., and S. Omkar. (2004). Prey-dependent life attributes of an aphidophagous ladybird beetle, *Propylea dissecta* (Coleoptera: Coccinellidae). **Biocontrol Science and Technology**. 14(4): 385-396.
112. Petranka, J. W., A. W. Rushlow, and M. E. Hopey. (1998). Predation by Tadpoles of *Rana sylvatica* on Embryos of *Ambystoma maculatum*: Implications of Ecological Role Reversals by *Rana* (Predator) and *Ambystoma* (Prey). **Herpetologica**. 54(1): 1-13.
113. Raboudi, F., A. Ben Moussa, H. Makni, M. Marrakchi and M. Makni. (2002). Serological detection of plant viruses in their aphid vectors and host plants in Tunisia. **EPPO Bulletin**. 32(3): 495-498.
114. Raimundo, A. A., A. van Harten and H. Fürsch. (2000). An annotated checklist of the Coccinellidae (Insecta: Coleoptera) of Yemen. **Fauna of Arabia**. 18: 211-244.

115. Robarts, D. W., and A. D. Wolfe. (2014). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers: A potential resource for studies in plant molecular biology1. **Applications in plant sciences**. 2(7): 1400017.
116. Rogers, C. E., H. B. Jackson, R. D. Eikenbary, and K. J. Starks. (1971). Sex determination in *Propylea 14-punctata* (Coleoptera: Coccinellidae), an important predator of aphids. **Annals of the Entomological Society of America**. 64(4): 957–959.
117. Rohacek, J. (2012). Wing polymorphism in European species of Sphaeroceridae (Diptera). **Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae**. 52(2): 535-558.
118. Rohacek, J., and K. N. Barber. (2005). Revision of the new world species of *Stiphrosoma* Czerny (Diptera: Anthomyzidae). **Beiträge zur Entomologie**. 55(1): 1–107.
119. Sadeghi, E. and M. Esmaili, (1992). Preying habits and hibernation site of *Coccinella septempunctata* L., *Hippodamia (Adonia) variegata* (Goeze), *Psyllobora vigintiduopunctata* L. in Karaj. **Journal of Entomological Society of Iran**. 11(1-2): 5–8.
120. Sarhan, A. A., N. A. El-Basha, N. S. Mandour and D. S. Abd El-Motaal. (2011). Effect of different types of preys on the development, prey consumption and reproductive biology of *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**. 21(2): 297-304.
121. Schonrogge, K., M. G. Gardner, G. W. Elmes, E. K. V. Napper, D. J. Simcox, J. C. Wardlaw, J. Breen, B. Barr, J. J. Knapp, J. A. Pickett, and J. A. Thomas. (2006). Host propagation permits extreme local adaptation in a social parasite of ants. **Ecology Letters**. 9:1032–1040.
122. Shafiei, M., A. P. Moczek and H. F. Nijhout. (2001). Food availability controls the onset of metamorphosis in the dung beetle *Onthophagus taurus* (Coleoptera: Scarabaeidae). **Physiological Entomology**. 26(2): 173–180.

123. Shah, M. A., and A. A. Khan. (2014). Qualitative and quantitative prey requirements of two aphidophagous coccinellids, *Adalia tetraspilota* and *Hippodamia variegata*. **Journal of Insect Science**. 14(1): .1-19.
124. Shah, M. A., and A. A. Khan. (2014). Qualitative and Quantitative Prey Requirements of two Aphidophagous Coccinellids, *Adalia tetraspilota* and *Hippodamia variegata*. **Journal of Insect Science**. 14(72): 1–19.
125. Singh, S. P. (2004). Augementative biocontrol in India. In: Singh SP, Murphy ST, Ballal CR, Editors. **Proceedings of the ICAR-CABI Workshop**. Project Directorate of Biological Control, Banglore. p: 1-20.
126. Singh, T. V. K., K. M. Singh, and R. N. Singh. (1991). Influence of intercropping: III natural enemy complex in groundnut. **Indian Journal of Entomology**. 53: 63-68.
127. Skouras, P. J., and G. J. Stathas,. (2015). Development, growth and body weight of *Hippodamia variegata* fed *Aphis fabae* in the laboratory. **Bulletin of Insectology**. 68(2): 193-198.
128. Sneath, P. H. A., and R. R. Sokal. (1973). Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. **W.H. Freeman. Systematic Zoology**. 24(2): 263-268.
129. Soares, A .O., D. Coderre, and H. Schanderl. (2001). Fitness of two phenotypes of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). **European Journal of Entomology**. 98(3): 287–293.
130. Song, H. Q., X. H. Mo, G. H. Zhao, J. Li, F.C. Zou, W. Liu, X. Y. Wu, R. Q. Lin, Y. B. Weng, and X. Q. Zhu. (2011). Electrophoretic detection of genetic variability among *Schistosoma japonicum* isolates by sequence-related amplified polymorphism. **Electrophoresis**. 32(11): 1364-1370.
131. Sun, S. J., W. Gao, S. Q. Lin, J. Zhu, B. G. Xie, and Z. B. Lin. (2006). Analysis of genetic diversity in *Ganoderma* population with a novel molecular marker SRAP. **Applied Genetics and Molecular. Biotechnology**. 72(3): 537-543.

132. Symondson, W. O. C., K. D. Sunderland and M. H. Greenstone. (2002). Can generalist predators be effective biocontrol agents?. **Annual review of entomology**. 47(1): 561-594.
133. Tomiuk, J., K. Wohrmann, I. Bohm, and J. Stamp. (1990). Variability of quantitative characters and enzyme loci in rose aphid populations. **Entomologist**. 109(2): 84-92.
134. Wang J., C. Liyon and D. Yang. (2004). A study on the hunger tolerance of *Hippodamia variegata* in north Xingjean. **J. China Cott.** 31 (5): 12-14.
135. Wang, K. Y., T. X. Liu, C. H. Yu, X. Y. Jiang and M. Q. Yi. (2002). Resistance of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) to fenvalerate and imidacloprid and activities of detoxification enzymes on cotton and cucumber. **Journal of Economic Entomology**. 95(2): 407-413.
136. Wang, Y. H., B. S. Liu, H. Z. Fu and L. N. Gu, (1984). Studies on the habits and bionomics of *Adonia variegata* (Goeze). **Insect knowledge Kunchong Zhishi**. 21: 19-22.
137. Weber, D. C., and J. G. Lundgren. (2009). Assessing the trophic ecology of the Coccinellidae: their roles as predators and as prey. **Biological Control**. 51(2): 199-214.
138. Weber, G. (1985). On the ecological genetics of *Sitobion avenae* (F.) (Hemiptera, Aphididae). **Zeitschrift fur Angewandte Entomologie**. 100: 100-110.
139. Weising, K., H. Nybom, K. Wolff, and W. Meyer. (1995). **DNA fingerprinting in plants and fungi**. CRC press.Inc., London. p: 336.
140. Wheeler, A. G., and C. A. Stoops. (1996). Status and spread of the Palearctic lady beetles *Hippodamia variegata* and *Propylea quatuordecimpunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) in Pennsylvania, 1993-1995. **Entomological News**. 107(5): 291-298.
141. Xie, X. M., F. Zhou, X. Q. Zhang and J. M. Zhang (2009). Genetic variability and relationship between MT-1 elephant grass and closely related cultivars assessed by SRAP markers. **Journal of Genetics**. 88(3): 281-290.

142. Yang, C. J., F. Yuan, B. Z. Hua, J. J. Sun, Y. X. Lei and S. F. Zhao. (1997). Spatial distribution patterns and sampling techniques of *Hippodamia variegata* (Goeze) on the tobacco fields in northern Shaanx. **Entomological Knowledge**. 34: 283-288.
143. Yari, R., M. Hashemi, R. Jafari. (2016). **Study of genetic diversity in *Hippodamia variegata* (col: coccinellidae) (goeze) on lorestan province using RAPD markers**. International Symposium on Animal Science. 24-25 November 2016, Belgrade-Zemun, Serbia.
144. Yu, M., B. Ma, X. Luo, L. Zheng, X. Xu, and Z. Yang. (2008). Molecular diversity of *Auricularia polytricha* revealed by inter-simple sequence repeat and sequence-related amplified polymorphism markers. Current. **Microbiology**. 56(3): 240-245.
145. Zakharov, I. A. (2003). Industrial melanism and its dynamics in populations of the two-spot ladybird *Adalia bipunctata* L. **Usp. Sovr. Biol.** 123: 3–15.
146. Zare, M., R. Jafari, L. Dehghan Dehnavi, and S. Javan. (2012). Polymorphism of *Adalia bipunctata* Mulsant (Col.: Coccinellidae) in center of Iran. **Global Advanced Research Journal of Microbiology**. 1(2): 27-32.
147. Zhang, D. X. (2004). Lepidopteran microsatellite DNA: redundant but promising. **Trends in Ecology and Evolution**. 19(10): 507-509.
148. Zhang, W., H. He, Y. Guan, H. Du, L. Yuan, Z. Li, D. Yao, J. Pan and R. Cai. (2010). Identification and mapping of molecular markers linked to the tuberculate fruit gene in the cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Theoretical and Applied Genetics**. 120(3): 645-654.
149. Zuniga, E., R. Van den Bosch, J. J. Drea, and F. Gruber. (1986). Control biológico de los áfidos (Homoptera: Aphididae) de los cereales en Chile. 2. Obtención, introducción y cuarentena de depredadores y parasitoides. **Agricultura Técnica**. 46(4):479-487.

Abstract

The study was conducted during the period between 2015 - 2020. The purpose of this study was to determine the effect of the diets on the biological indicators of the variegated ladybug, *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae). The diets covered two different types of aphids; black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. and cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae). under controlled conditions in the laboratory. Individuals fed on *A.faba* displayed significantly the shorter larval and generation developmental time 9.17 and 16.19 days, respectively, and Higher survival rate for immature stages 57.00%. On the other hand, females fed on *A. faba* displayed significantly higher daily fecundity 25.13 eggs/female, total fecundity 886.20 eggs/female, real fertility 713.63 fertile eggs/female compared with those fed on *B.brassicae*. Individuals fed on *A.faba* displayed significantly the highest Predation Efficiency for larval stage 30.16 Nymph/Larva/day, also highest Predation Efficiency for adult (females) 56.80 Nymph/females/day.. The research also aimed to study the Polymorphism of the predator individuals, the results showed that the different shapes of the collected samples were divided into into 26 different shapes, each characterized by a specific number of spots and the position and shape of these spots on each elytron. The study also aimed to determine the genetic diversity of the aphid predator; *H. variegata* in different areas of Syria using the SRAP technique (Sequence-related Amplified polymorphism). The number of amplified fragments was 101 bands, 99 of which were polymorphic with a polymorphism rate of 97.99%. The study results of the degree of genetic diversity of the predator's individuals *H. variegata* showed that the highest value for percent disagreement values was 0.904 between samples from (Damascus and Fedio-Latakia) and (Homs and Fedio-Latakia), whereas the lowest value for percent disagreement values was 0.271 between samples (Damascus and Sweida). The phylogenetic tree showed that the studied populations were divided according to their geographical distribution into two main groups.

Key words: aphid, predator, Development, Predation, Genetic, diversity, SRAP.

Syrian Arab Republic
Damascus University
Faculty of Agriculture
Department of Biotechnology



Effect of prey in some biological characteristics of predator *Hippodamia variegata* and determine genetic similarity for some of its biotypes

This thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for degree of
master in Biotechnology

Present by

Alaa Mohamad

Supervision

Prof. Dr. Salam Lawand

Co-supervisor

Dept. of Plant Protection

Faculty of Agriculture

Damascus University

Prof. Dr. Abdul Nabi Basheer

Principal supervisor

Dept. of Field Crops

Faculty of Agriculture

Damascus University

2021