جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة البصرة
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

دراسة تشخيصيّة مظهريّة وجزيئيّة لبعض حشرات الحبوب المخزونة في محافظة ميسان

أطروحة تقدم بها إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة البصرة

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة دكتوراه فلسفة علوم في علوم الحياة

الطالبة
فاطمة قاسم حمدان
ماجستير علوم حياة 2016

بإشراف
أ. د. ضياء خليف كريم

1445هـ 2024م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ لاَ يُكَلِّفُ اللّهُ نَفْسًا إِلاَّ وُسْعَهَا لَهَا مَا كَسَبَتْ وَعَلَيْهَا مَا اكْتَسَبَتْ رَبَّنَا لاَ تُؤَاخِذْنَا إِن نَّسِينَا أَوْ أَخْطَأْنَا رَبَّنَا وَلاَ تَحْمِلْ عَلَيْنَا إِصْرًا كَمَا حَمَلْتَهُ عَلَى الَّذِينَ مِن قَبْلِنَا رَبَّنَا وَلاَ تُحَمِّلْنَا مَا لاَ طَاقَةَ لَنَا بِهِ وَاعْفُ عَنَّا وَاغْفِرْ لَنَا وَارْحَمْنَا أَنتَ مَوْلاَنَا فَانصُرْنَا عَلَى الْقَوْمِ الْكَافِرِينَ ﴾

صدق اللّه العلي العظيم

(سورة البقرة ،الآية ٢٨٦)

توصية الأستاذ المشرف

أقّر بأن اعداد هذه الاطروحة الموسومة (دراسة تشخيصية مظهرية وجزيئية لبعض حشرات الحبوب المخزونة في محافظة ميسان) والمقدمة من الطالبة (فاطمة قاسم حمدان) قد جرى تحت اشرافي في قسم علوم الحياة –كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة البصرة وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة / علم الحشرات .

التوقيع :

المشرف : د.ضياء خليف كريم

الدرجة العلمية : أستاذ

التاريخ : / / /

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصية المقدمة من الأستاذ المشرف أحيل هذه الاطروحة إلى لجنة المناقشة لدراستها و بيان الرأي فيها .

التوقيع :

الاسم : د.عماد يوسف عواد

الدرجة العلمية : أستاذ

التاريخ : / / /

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية تشخيص الآفات الحشرية من رتبة غمدية الاجنحة Coleoptera التي تصيب الحبوب المخزونة والتمر المجفف في محافظة ميسان خلال الفترة من كانون الثاني سنة 2021 لغاية كانون الأول سنة 2022 و جمعت عينات الحبوب المصابة من الشركة العامة لتجارة الحبوب بفروعها الثلاثة والأسواق المحلية والرئيسية و المنازل في محافظة ميسان في حين التمر المجفف جمع من الاسواق المحلية والرئيسية فقط وبينت نتائج الدراسة التشخيصية المظهرية الحالية تسجيل ثمانية أنواع تصيب الحبوب المخزونة و جميعها تعود إلى رتبة غمدية الاجنحة Coleoptera و متطفل واحد يعود إلى رتبة غشائية الاجنحة Hymenoptera وتضمنت الدراسة التشخيصية وصفاً مظهرياً للكاملات و اليرقات لنوعين مع عمل مفتاح تشخيصي للأنواع المحلية المشخصة وهي كما يأتي :

Kingdom: Animalia
Phylum: Arthropoda
Class: Insecta
Subclass :Petrygota
Division: Endopetrygota
Order: Coleoptera Linnaeus,1758
Sub order :Polyphaga Emery,1886
1-Family: Tenebrionidae Latreille,1802
Subfamily :Tenebrioninae Latreille,1802
Genus:*Tribolium* Macleay,1825
Species*: T. castaneum* (Herbst,1797)
Genus:*Latheticus* Waterhouse,1880
Species: *L. oryzae* Waterhouse,1880
2- Family: Silvanidae Kirby ,1837
Subfamily: silvaninae Kirby,1837
Genus: *Oryzaephilus* Ganglbauer,1899
Species: *O. mercator*(Fauvel,1889)
3- Family: Dermestidae Latreille,1804
Subfamily: Megatominae Leach,1815
Genus: *Trogoderma* Dejean,1821
Species *:T. granarium* Everts,1898
4- Family: Bostrichidae Latereille,1802
Sub family: Dinoderinae C.G. Thomson,1863
Genus: *Rhyzopertha* Stephens,1830
Species: *R. dominica* (Fabricus,1792)
5- Family: Chrysomelidae

Subfamily:Bruchinae Latreille,1802
Genus:*Callsobruchus* Pic,1902
Species: *C. maculatus* Fabricius,1775
6- Family:Laemophloeidae
Genus: *Cryptolestes* Ganglbauer, 1899
Species *:C. ferrugineus* Stephanus ,1831
7-Family:curculionidae
Subfamily:Dryophthorinae Schonher,1825
Genus:*Sitophilus* Schoenherr,1838
Species: *S. oryzae* (Linnaeus,1763)
Order:Hymenoptera
Family:Petromalidae
Sub family:Pteromalinae
Genus :*Anisopetromalus*
8- Species: *A. calandrae* (Howard,1881)

كما تطابقت نتائج التشخيص الجزيئي مع التشخيص المظهري للأنواع الخمسة من الآفات التي جمعت من مناطق مختلفة من محافظة ميسان والتي تصيب الحبوب المخزونة و التمر المجفف وهذه الآفات الحشرية هي *Tribolium castaneum* و *Oryzaephilus mercator* و *Callsobruchus maculatus* و *Rhyzopertha dominica* و *Trogoderma granarium* والمتطفل الواحد هو *Anisopetromalus calandrae* مع ايجاد العلاقات الوراثية التطورية بين كل نوع محلي والانواع المسجلة في انحاء مختلفة من العالم ، إذ تم استخلاص الحامض النووي للمايتوكوندريا mtDNA واستعملت تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لتضخيم قطعة من الجين *COI* . إذ ظهرت حزم الانواع بالوزن الجزيئي 700 زوج قاعدي كما ان جميع الانواع ارتبطت بدرجة حرارة 49 ° م ما عدا النوع *Rhyzopertha dominica* بلغت درجة حرارة الارتباط 48 م ° و بلغت نسبة تطابق الانواع المحلية مع الانواع المسجلة في انحاء مختلفة من العالم 100%.

كما بينت نتائج الكشف المبكر باستخدام تقنية Multiplex-PCR الكشف عن ستة أنواع من الآفات ففي التفاعل الأول شخص ثلاثة أنواع *Rhyzopertha dominica* و *Tribolium castaneum* و *Oryzaephilus mercator* بدرجة حرارة ارتباط 51 ° م إذ ظهر النوع الأول بالوزن الجزيئي 286 bp والنوع الثاني ظهر بالوزن الجزيئي 535bp والنوع الثالث بالوزن الجزيئي 200bp وبسبب مشاركة البرايمر ZBJR2c /ZBJ-ArtF1c بين نوعين *Latheticus oryzae* و *Callsobruchus maculatus* و ظهور الجين بنفس الوزن الجزيئي وبدرجة ارتباط نفسها 54 ° م فصل النوعين في تفاعلين مع النوع *Trogoderma granarium* أذ في تفاعل الثاني والثالث ظهر النوع

Trogoderma granarium بالوزن الجزيئي 210 bp والنوعين *Callsobruchus maculatus* و *Latheticus oryzae* ظهرا بالوزن الجزيئي 190bp .

الإهداء

إلـــــــــــى

أُمـــــي و أبـــــي

وزوجـــــي

فاطمة

شكر وتقدير

الحمدلله والشكر له كما ينبغي لجلال وجه وعظيم سلطانه ، عدد خلقه ورضا نفسه و زنة عرشه ومداد كلماته ، أن مَنّ عليَّ بإنجاز هذه الاطروحة والصلاة والسلام على افضل الخلق نبينا محمد وعلى آله الطيبين الطاهرين وسلم تسليماً كثيراً .

يسعدني وانا اضع اللمسات الاخيرة لأطروحتي هذه ان اتوجه بفائق الشكر والتقدير إلى استاذي المشرف الاستاذ الدكتور **ضياء خليف كريم** فقد منحني جل اهتمامه ووقته فكانت لملاحظته القيمة الرشيدة وتتبعها المستمر الاثر الاكبر في انجاز هذه البحث .

واتوجه بالشكر إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ووحدة الدراسات العليا ورئاسة واساتذة قسم علوم الحياة لإتاحة الفرصة لإكمال دراستي.

ويشرفني ان أتقدم بالشكر إلى مدير والعاملين في الشركة العامة لتجارة الحبوب فرع ميسان لما ابدي من تسهيلات خلال فترة البحث .

كما اقدم شكري وامتناني إلى زملائي وزميلاتي طلبة الدراسات العليا في القسم وبالأخص الأستاذ فاضل جبار فرحان ، سندس جعفر رزّاق ورحال جهاد حسين ومصطفى طاهر حاتم في كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة البصرة .

فاطمة

قائمة المحتويات

الفصل الاول		رقم الصفحة
1	المقدمة واستعراض المراجع	1
1.1	المقدمة	1
2.1	استعراض المراجع	4
1.2.1	نبذة تاريخية عن اصابة الحشرات للحبوب	4
2.2.1	الآفات الحشرية الشائعة للحبوب المخزونة	5
3.2.1	الدراسات التصنيفية و التشخيصية المظهرية لحشرات المخازن في العالم	7
4.2.1	الدراسات التصنيفية والتشخيصية لحشرات المخازن في العراق	10
5.2.1	الدراسات التشخيصية الجزيئية لحشرات المخازن في العالم	11
6.2.1	الدراسات التشخيصية الجزيئية لحشرات المخازن في العراق	14
7.2.1	استخدام التشخيص الجزيئي في الكشف المبكر عن الاصابات داخل الحبوب في العالم	15
8.2.1	استخدام التشخيص الجزيئي في الكشف المبكر عن الاصابات داخل الحبوب في العراق	16
الفصل الثاني		رقم الصفحة
2	المواد وطرائق العمل	17
1.2	الاجهزة والمواد والمحاليل الكيميائية المستعملة	17
1.1.2	المحاليل والمواد الكيميائية المستعملة	18
2.2	طرائق العمل	18
1.2.2	جمع العينات	18
2.2.2	عمل مزارع دائمية للأنواع في المختبر	22
3.2.2	طريقة أخذ العينات	22
3.2	الدراسة المظهرية	23
1.3.2	تحضير شرائح دائميه للحشرات	23
4.2	الدراسة الجزيئية	23
1.4.2	تحضير بعض المحاليل	23
1.1.4.2	صبغة بروميد الاثيديوم	23
2.1.4.2	صبغة بروموفينول الزرقاء	23
3.1.4.2	محلول TBE (Tris-Borate –Ethyl diaminetera acetic (acid	24

2.4.2	استخلاص DNA	24
1.2.4.2	الترحيل الكهربائي لناتج DNA	26
2.2.4.2	قياس تركيز الحامض النووي DNA	27
3.4.2	البادئات	27
4.4.2	برنامج تفاعل البلمرة المتسلسل	28
1.4.4.2	الترحيل الكهربائي لناتج تضخيم PCR	29
5.4.2	تحليل تتابع النيوكليوتيدات	29
6.4.2	التشخيص الوراثي	29
7.4.2	حفظ النواتج التسلسل الجزيئي في بنك الجينات	29
5.2	استخدام التشخيص الجزيئي في الكشف المبكر عن الاصابات داخل الحبوب	30
1.5.2	استخلاص الحامض النووي DNA	30
1.1.5.2	قياس تركيز الحامض النووي DNA	31
2.1.5.2	الترحيل الكهربائي لناتج استخلاص الحامض النووي DNA	32
2.5.2	البادئات	32
3.5.2	برنامج تفاعل البلمرة المتسلسل Multiplex-PCR	33
1.3.5.2	الترحيل الكهربائي لناتج تضخيم Multiplex-PCR	35
الفصل الثالث		رقم الصفحة
3	النتائج	37
1.3	الدراسة التشخيصية المظهرية	37
1.1.3	خنفساء الدقيق الصدئية الحمراء *Tribolium castaneum*	39
2.1.3	خنفساء الدقيق ذات الرأس الطويل *Latheticus oryzae*	49
3.1.3	خنفساء الحبوب التجارية *Oryzaephilus mercator*	57
4.1.3	خنفساء الحبوب الشعرية (الخابرا) *Trogoderma granarium*	66
5.1.3	ثاقبة الحبوب الصغرى *Rhyzopertha dominica*	75
6.1.3	خنفساء اللوبيا الجنوبية *Callsobruchus maculatus*	84
7.1.3	خنفساء الحبوب الصدئية الحمراء *Cryptolestes ferrugineus*	94
8.1.3	سوسة الرز*Sitophilus oryzae*	103
9.1.3	الدبور المتطفل *Anisopetromalus calandrae*	113
10.1.3	يرقات النوع *Tribolium castaneum*	121
11.1.3	يرقات النوع *Trogoderm granarium*	122
12.1.3	المفتاح التشخيصي لعزل انواع الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة في محافظة ميسان –جنوب العراق	124
2.3	الدراسة الجزيئية	125
1.2.3	استخلاص الحامض النووي DNA وتضخيمه	125

2.2.3	تقنية تفاعلات البلمرة المتسلسل PCR	125
3.2.3	تحليل الشفرات الوراثية وتحليل قطع تتابعات الجين mtCOXI	126
4.2.3	شجرة التطور Phylogenetic tree لجين mt COXI لخمسة انواع من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة و متطفل واحد في محافظة ميسان –جنوب العراق	128
3.3	استخدام التشخيص الجزيئي في الكشف المبكر عن الاصابة في الحبوب المخزونة	131
1.3.3	استخلاص الحامض النووي DNA وتضخيمه	131
2.3.3	خصوصية البادئات	132
3.3.3	تفاعلات البلمرة المتسلسل المتعدد الحزم Multiplex-PCR	132
الفصل الرابع		رقم الصفحة
4	المناقشة	135
1.4	الدراسة التشخيصية المظهرية	135
2.4	الدراسة الجزيئية	144
3.4	دراسة الكشف المبكر عن الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة	147
4.4	ملاحظات حقلية حول طريقة خزن الحبوب	149
	الاستنتاجات والتوصيات	151
	المصادر العربية والاجنبية	153
	الملاحق	184

قائمة الجداول

ت	العنوان	رقم الصفحة
1	الاجهزة المستعملة والشركة المصنعة	17
2	المحاليل والمواد الكيميائية المستعملة	18
3	عدة استخلاص DNA المجهزة من شركة Geneid	26
4	تتابع البادئ العام باللافقريات	27
5	برنامج عمل جهاز البلمرة لتضخيم البادئ العام للافقريات	28
6	برنامج عمل جهاز البلمرة لتضخيم البادئ العام للافقريات النوع *Rhyzopertha dominica*	28
7	تتابعات البادئات الخاصة بالأنواع الستة التي تم استخدامها في الدراسة الحالية	33
8	برنامج عمل جهاز البلمرة لتضخيم البادئات الخاصة بالانواع *R.dominica* و *O.mercator* و *T.castaneum*	34

9	برنامج عمل جهاز البلمرة لتضخيم البادئات الخاصة بالانواع *C.maculatus* و *T.granarium*	34
10	برنامج عمل جهاز البلمرة لتضخيم البادئات الخاصة بالانواع *T.granarium* و *L.oryzae*	35
11	نسبة التطابق الوراثي لقطع الجين mtCOXI المستهدف في انواع الخمسة من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة والمتطفل الواحد وارقام الانضمام في بنك الجينات	127

قائمة الصور

ت	العنوان	رقم الصفحة
1	اللوبيا الحمراء المصابة	19
2	الحمص المصاب	19
3	التمر المصاب	19
4	الحنطة المصابة	19
5	الصوامع الحديدية في الموقع الاول للشركة العامة لتجارة الحبوب فرع ميسان	20
6	مسقفات الخزن في الموقع الثالث للشركة العامة لتجارة الحبوب فرع ميسان	21
7	اكداس الخزن في الموقع الثاني للشركة العامة لتجارة الحبوب فرع ميسان	21
8	المظهر الظهري لأنثى النوع *Tribolium castaneum*	41
9	المظهر البطني لأنثى النوع *Tribolium castaneum*	41
10	المظهر الظهري لذكر النوع *Latheticus oryzae*	51
11	المظهر البطني لذكر النوع *Latheticus oryzae*	51
12	المظهر الظهري لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	59
13	المظهر البطني لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	59
14	المظهر الظهري لذكر للنوع *Trogoderma granarium*	68
15	المظهر البطني لذكر للنوع *Trogoderma granarium*	68
16	المظهر الظهري لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	77
17	المظهر البطني لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	77
18	المظهر الظهري لأنثى النوع *Callsobruchus maculatus*	86
19	المظهر البطني لأنثى النوع *Callsobruchus maculatus*	86
20	المظهر جانبي لأنثى النوع *Callsobruchus maculatus*	86

21	المظهر الظهري لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*	87
22	المظهر البطني لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*	87
23	المظهر الظهري للنوع *Cryptolestes ferrugineus*	96
24	المظهر البطني للنوع *Cryptolestes ferrugineus*	96
25	المظهر الظهري لذكر النوع *Sitophilus oryzae*	105
26	المظهر البطني لذكر النوع *Sitophilus oryzae*	105
27	المظهر جانبي لانثى متطفل النوع *Anisopetromalus calandrae*	115
28	المظهر البطني ليرقات النوع *Tribolium castaneum*	121
29	المظهر الظهري ليرقات النوع *Tribolium castaneum*	121
30	المظهر الظهري ليرقات النوع *Trogoderma granarium*	123
31	المظهر البطني ليرقات النوع *Trogoderma granarium*	123
32	المظهر Spicisetae ليرقات النوع *Trogoderma granarium*	123
33	المظهرHastisetae ليرقات النوع *Trogoderma granarium*	123
34	الترحيل الكهربائي لناتج تفاعلات البلمرة المتسلسل لتضخيم الجين mtCOI	125
35	الترحيل الكهربائي لناتج تفاعلات البلمرة المتسلسل لتضخيم الجين mtCOI	126
36	ناتج الترحيل الكهربائي لتفاعل البلمرة المتسلسل Multiplex-PCR لثلاثة أنواع في عينة الحنطة المصابة	133
37	ناتج الترحيل الكهربائي لتفاعل البلمرة المتسلسل Multiplex-PCR لنوعين في عينة الماش	133
38	ناتج الترحيل الكهربائي لتفاعل البلمرة المتسلسل Multiplex-PCR لنوعين في عينة الفاصوليا الحمراء	134

قائمة اللوحات

ت	العنوان	رقم الصفحة
1	الرأس وأجزؤه لأنثى النوع *Tribolium castaneum*	42
2	قرن الاستشعار لأنثى النوع *Tribolium castaneum*	42
3	ظهر الصدر الامامي Pronotum لأنثى النوع *Tribolium castaneum*	43
4	الصدر الاوسط والخلفي Meso and Metathorax لانثى النوع *Tribolium castaneum*	43
5	الغمد Elytron لأنثى النوع *Tribolium castaneum*	44
6	الجناح الخلفي الغشائي لأنثى النوع *Tribolium castaneum*	44
7	الارجل الامامية لأنثى النوع *Tribolium castaneum*	45
8	الارجل الامامية لذكر النوع *Tribolium castaneum*	45
9	الارجل الوسطى لأنثى النوع *Tribolium castaneum*	46

10	الارجل الخلفية لأنثى النوع *Tribolium castaneum*	46
11	الارجل الخلفية لذكر النوع *Tribolium castaneum*	47
12	البطن لذكر النوع *Tribolium castaneum*	47
13	البطن لأنثى النوع *Tribolium castaneum*	48
14	الرأس و أجزؤه لأنثى النوع *Latheticus oryzae*	51
15	الرأس وأجزؤه لذكر النوع *Latheticus oryzae*	52
16	قرن الاستشعار لذكر النوع *Latheticus oryzae*	52
17	ظهر الصدر الامامي Pronotum لذكر النوع *Latheticus oryzae*	53
18	الصدر الاوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكر النوع *Latheticus oryzae*	53
19	الجناح الامامي الغمد Elytron لذكر النوع *Latheticus oryzae*	54
20	الجناح الخلفي الغشائي لذكر النوع *Latheticus oryzae*	54
21	الارجل الامامية لذكر النوع *Latheticus oryzae*	55
22	الارجل الوسطى لذكر النوع *Latheticus oryzae*	55
23	الارجل الخلفي لذكر النوع *Latheticus oryzae*	56
24	البطن لذكر النوع *Latheticus oryzae*	56
25	الرأس وأجزؤه لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	60
26	قرن الاستشعار لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	60
27	ظهر الصدر الامامي Pronotum لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	61
28	الصدر الاوسط والخلفي Meso and Metathorax لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	61
29	الغمد Elytron لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	62
30	الجناح الخلفي الغشائي لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	62
31	الارجل الامامية لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	63
32	الارجل الوسطى لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	63
33	الارجل الخلفية لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	64
34	الارجل الخلفية لذكر النوع *Oryzaephilus mercator*	64
35	البطن لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*	65
36	الرأس وأجزؤه لذكر النوع *Trogoderma granarium*	69
37	قرن الاستشعار لذكر النوع *Trogoderma granarium*	69
38	قرن الاستشعار لأنثى النوع *Trogoderma granarium*	70
39	ظهر الصدر الامامي Pronotum لذكر النوع *Trogoderma granarium*	70
40	الصدر الاوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكر النوع *Trogoderma granarium*	71
41	الغمد Elytron لذكر النوع *Trogoderma granarium*	71
42	الغمد Elytron لأنثى النوع *Trogoderma granarium*	72

43	الجناح الخلفي الغشائي لذكر النوع *Trogoderma granarium*	72
44	الارجل الامامية لذكر النوع *Trogoderma granarium*	73
45	الارجل الوسطى لذكر النوع *Trogoderma granarium*	73
46	الارجل الخلفية لذكر النوع *Trogoderma granarium*	74
47	البطن لذكر النوع *Trogoderma granarium*	74
48	الرأس واجزؤه لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	78
49	قرن الاستشعار لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	78
50	ظهر الصدر الامامي Pronotum لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	79
51	الجانب البطني للحلقة الصدرية الأولى لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	79
52	الصدر الاوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	80
53	الغمد Elytron لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	80
54	الغمد Elytron لأنثى النوع *Rhyzopertha dominica*	81
55	الجناح الخلفي الغشائي لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	81
56	الارجل الامامية لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	82
57	الارجل الوسطى لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	82
58	الارجل الخلفية لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	83
59	البطن لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*	83
60	الرأس وأجزؤه لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*	87
61	قرن الاستشعار لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*	88
62	ظهر الصدر الامامي Pronotum لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*	88
63	الصدر الاوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*	89
64	الغمد Elytron لأنثى النوع *Callsobruchus maculatus*	89
65	الجناح الخلفي الغشائي لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*	90
66	الارجل الامامية لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*	90
67	الارجل الوسطى لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*	91
68	الارجل الخلفية لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*	91
69	البطن لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*	92
70	البطن لأنثى النوع *Callsobruchus maculatus*	92
71	الحلقة البطنية الأخيرة لأنثى النوع *Callsobruchus maculatus*	93
72	الرأس واجزؤه لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*	96
73	قرن الاستشعار لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*	97
74	ظهر الصدر الامامي Pronotum لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*	97
75	الجانب البطني للحلقة الصدرية الاولى لذكر النوع *Cryptolestes*	98

	ferrugineus	
98	الصدر الاوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*	76
99	الجناح الامامي الغمدي Elytron لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*	77
99	الجناح الخلفي الغشائي لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*	78
100	الارجل الامامية لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*	79
100	الارجل الوسطى لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*	80
101	الارجل الخلفية لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*	81
101	الارجل الخلفية لأنثى النوع *Cryptolestes ferrugineus*	82
102	البطن لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*	83
106	الرأس والخطم لذكر النوع *Sitophilus oryzae*	84
106	قرن الاستشعار لذكر لنوع *Sitophilus oryzae*	85
107	ظهر الصدر الامامي Pronotum لذكرالنوع *Sitophilus oryzae*	86
107	الصفيحة البطنية لصدر الامامي Pronotum للنوع *Sitophilus oryzae*	87
108	الصدر الأوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكر النوع *Sitophilus oryzae*	88
109	الغمد Elytron لذكرالنوع *Sitophilus oryzae*	89
109	الجناح الخلفي الغشائي لذكرالنوع *Sitophilus oryzae*	90
110	الارجل الامامية لذكر النوع *Sitophilus oryzae*	91
110	الارجل الوسطى لذكرالنوع *Sitophilus oryzae*	92
111	الارجل الخلفية لذكر النوع *Sitophilus oryzae*	93
111	المظهر الظهري لبطن ذكر النوع *Sitophilus oryzae*	94
112	الصفائح البطنية لبطن ذكر النوع *Sitophilus oryzae*	95
115	الرأس وأجزوُه لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*	96
116	قرن الاستشعار لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*	97
116	الصدر لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*	98
117	الجناح الامامي لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*	99
117	الجناح الخلفي لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*	100
118	الارجل الامامية لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*	101
118	الارجل الوسطى لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*	102
119	الارجل الخلفية لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*	103
119	البطن لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*	104
120	آلة وضع البيض لإناث النوع *Anisopetromalus calandrae*	105

قائمة الاشكال

ت	العنوان	رقم الصفحة
1	شجرة التطور لجين mtCOXI للمتطفل *Anisopetromalus calandrae* في محافظة ميسان- جنوب العراق	128
2	شجرة التطور لجين mtCOXI للنوع الاول من الآفات *Callsobruchus maculatus* في محافظة ميسان- جنوب العراق	129
3	شجرة التطور لجين mtCOXI للنوع الثاني من الآفات *Oryzaephilus mercator* في محافظة ميسان- جنوب العراق	129
4	شجرة التطور لجين mtCOXI للنوع الثالث من الآفات *Rhyzopertha dominica* في محافظة ميسان- جنوب العراق	130
5	شجرة التطور لجين mtCOXI للنوع الرابع من الآفات *Tribolium castaneum* في محافظة ميسان- جنوب العراق	130
6	شجرة التطور لجين mtCOXI للنوع الخامس من الآفات *Trogoderma granarium* في محافظة ميسان- جنوب العراق	131

قائمة الملاحق

ت	العنوان	رقم الصفحة
ملحق 1	أ . محاذاة متعددة التسلسل مظللة بأربعة ألوان الأخضر ، الأصفر ، الأزرق والوردي للدالة إلى الاختلافات و التشابه الموجود في تسلسلات المحددة لجين mtCOI للأنواع مختلفة من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة والذي تم تحليلها بواسطة Mega X . **A.multiple sequence alignment of the identified *Anisopteromalus calandrae* targeting partial region within COI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences.** **B.multiple sequence alignment of the identified *Callosobruchus maculatus* targeting partial region within COI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences.**	184

	C.multiple sequence alignment of the identified *Oryzaephilus mercator* targeting partial region within COI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences. **D. multiple sequence alignment of the identified *Rhyzopertha dominica* targeting partial region within COI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences.** **E. multiple sequence alignment of the identified *Tribolium castaneum* targeting partial region within COI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences.** **F. multiple sequence alignment of the identified *Trogoderma granarium* targeting partial region within COI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences.**	

الفصل الأول

المقدّمة واستعراض المراجع

1- المقدمة واستعراض المراجع

1.1- المقدمة Introduction

تعد الحبوب المخزونة Grain stored ثمار وبذور العائلة النجيلية Gramineae، كما ويستعمل مصطلح Cereal ليشير للحبوب ايضاً ، والحبوب أنواع منها حبوب للغذاء وحبوب العلف والبذور الزيتية ، وهي من المواد الاساسية للإنسان لكونها مصدراً للبروتينات و الكاربوهيدرات والالياف والاحماض الامينية والفيتامينات والنشا والمعادن ومضادات الاكسدة (Beloshapka *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2015) . ان المواد الغذائية عموماً والحبوب خصوصا ذات أهمية من الناحية الاقتصادية للكثير من شعوب العالم ، والتي تحتفظ بمخزون ستراتيجي يكفي عدة أشهر لمواجهة الكوارث الطبيعية الذي تحدث والنقص الحاصل في الانتاج السنوي (ابراهيم والناصر ، 2009). يتم نقل الحبوب بعد الحصاد لمسافات بعيدة وتخضع لفترات تخزين طويلة نسبياً وتعد الحبوب ومنتجاتها سلع يتم حفظها في التخزين وتمـثل امدادات غذائية عـــالمية مـــــــــهمة (Mason and Strait, 2019) .

يؤدي تخزين الحبوب دوراً رئيساً في ضمان توفير حبوب صحية وذات جودة عالية على مدار العام . تخزن الحبوب لفترة طويلة أو قصيرة بالاعتماد على مـــــدة استـــــهلاك هذه الحبـــــــوب (Moses *et al.*, 2015 ; Jayas, 2012) . تؤمن الحبوب المخزونة أكثر من 35% من غذاء سكان العالم وأكثر من 25% من السعرات للإنسان ويعد الكلوتين من البروتينات المهمة الذي يدخل في تركيب الحبوب المخزونة وفي صنـــــاعة الكثير من الـــمواد الغذائيـــة الرئيسـة Lantican *et al.*, 2005 ; Ling *et al.*, 2003) تحدث في أثناء فترة تخزين الحبوب خسائر كمية ونوعية بسبب الآفات ، هذه الآفات يمكن ان تتضمن الاحياء المجهرية مثل الفطريات والبكتريا ومفصليات الارجل مثل الحشرات والحلم والفقريات مثل القوارض والطيور (اسماعيل ، 2014) . ان نسبة الخسائر ما بعد الحصاد نتيجة اصابتها بآفات المخازن قدرت من 9% في الولايات المتحدة الامريكية و بقيمة 5 مليار دولار سنوياً إلى 20% في البلدان النامية وفي امريكا الشمالية واوروبا وصلت إلى 10% بينما في افريقيا وآسيا قدرت 30% (Pimentel *et al* ., 2007 ;Hill,2002;) . كما قدرت نسبة الخسائر التي تسببها حشرات المواد المخزونة في البذور الزيتية والحبوب من قبل منظمة الاغذية والزراعة FAO بنسبة (40%) في العالم وفي العراق قدرت بحوالي (10%) (اسماعيل ويوسف، 2018) . وتشير التسجيلات إلى ان ثلث محصول الحبوب العالمي يفقد كل عام في اثناء فترة التخزين بسبب هجـــوم الحشرات (Daglish *et al.*, 2018).

يعتمد التشخيص المظهري على الصفات المظهرية الخارجية المميزة لكل نوع ولجميع مراحل الحياة ابتداءً من الصفات الخاصة بالبيضة واليرقة والعذراء وصولاً إلى الكاملات ومن اهم هذه الصفات

الظاهرية وجود البقع واختفائها على الجسم والشعيرات وتوزيعها على مناطق مختلفة من الجسم ووجود او عدم وجود الاشواك على الارجل الخلفية والزوائد المتوزعة على كامـــل الجسم (العزاوي ومهدي ،1983) و في بعض الحالات يصبح التشخيص المظهري صعبا بسبب التغيرات التي تحدث في الشكل الخارجي ، نتيجة التباين في الظروف البيئية والمناخية (Barrett and Hebert , 2005) وفي هذه الحالة يصبح التشخيص الجزيئي هو الجزء المؤكد للتشخيص المـــظهري (Ball *et al*., 2005 ; Timm *et al*., 2007; Timm *et al*., 2008) و في السنوات الأخيرة اصبحت الواسمات او المؤشرات الجزيئية DNA Marker هي وسيلة لتأكيد تشخيص بعض الانواع وان الواسمات هي عبارة عن تتابعات من الحامض النووي يمكن من خلالها معرفة موقع معين على جينوم الكائن الحي ،هذا الموقع يستعمل لمعرفة العلاقات الوراثية بين الافراد والانواع لكون هذا الموقع يعكس المعلومات الوراثية المخزونة فيهم (Hebert *et al*., 2003) .

ومن بين مجموعتين من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة تعد الآفات الداخلية التي تتطور وتتغذى داخل الحبوب الاكثر ضرراً للحبوب المخزونة (Cotton, 1950) بالإضافة إلى انها تستهلك كميات كبيرة من الحبوب وتقلل من القيمة الاقتصادية للحبوب وايضاً تختفي وتقضي دورة حياتها داخل الحبوب وصولاً إلى طور العذراء وتعمل على اصابة الحبوب المصابة بالآفات الثانوية وتزيد من الضرر عن طريق ترك جلود الانسلاخ وترسيب البراز وكل هذا يؤدي إلى ارتفاع الرطوبة ودرجة الحرارة وارتفاع هذه العوامل يؤدي إلى نمو الفطريات وانتاج السموم الفطرية ،التي تقلل من جودة الحبوب وتؤثر على صحة الانسان (Shah and Khan, 2014) . و مثل هذه الآفات الداخلية لا يتم ازالتها والكشف عنها بسهولة بالطـــرق الاعتيادية (Toews *et al*., 2006 ; Perez-Mendoza *et al*., 2005).

من أكثر الآفات الداخلية انتشاراً في انحاء مختلفة من العالم هي خمسة أنواع أربعة منها تابعة لرتبة غمدية الاجنحة ثلاثة منها تعود إلى جنس *Sitophilus* وهذه الانواع *S. zeamais* و *S.oryzae* و *S.granarius* و النوع الرابع هو *Prostephanus truncates* (Horn, 1878) والنوع الخامس تابع لرتبة حرشفية الاجنحة والتي تعود لجنس *Sitotroga* و النوع هو *Sitotroga cerealella*(Olivier, 1789) وتعد هذه الانواع من الآفات الحشرية المهمة في المناطق الاستوائية و شبه الاستوائية (CABI, 2017).

و لغرض الكشف عن الاصابات الحشرية يتم اجراء اختبارات بشكل روتيني لعينات الحبوب من هذه الاختبارات هو استخدام المناخل وكل الطرائق المؤدية لتكسير الحبوب بهدف الكشف عن الحشرات المختبئة داخل الحبوب في اطوارها الكاملة وفي الحبوب التالفة أو الكشف عن بقايا الحشرات وعند استخدام مثل هذه الطرائق التقليدية والطرائق المستخدمة في الكشف عن الحشرات الموجودة في الحبوب

لا يمكن الكشف عن الآفات الداخلية في الحبوب (Brader *et al.*,2002 ; Hubert *et al.*,2009) بالإضافة إلى ذلك لا تكون بقايا الحشرات متكافئة في كل مرحلة من مراحل تطور الآفة فمثلا المراحل غير الكاملة والبيضة تكون كمية الكايتين فيها قليلة او لا تحتوي على الكايتين مما يبين الحاجة او الاهمية باستخدام طرائق للكشف المبكر عن اصابة الحبوب باختبارات أخرى (Brabec *et al.*, 2010) .

إن أعداد هذه الآفات الحشرية وكثافتها ترتبط ارتباطا وثيقاً بالظروف الجغرافية والمناخية ويتأثر انتشار الآفات في الحبوب بالمحتوى الرطوبي للحبوب والرطوبة النسبية للوسط الذي تتواجد فيه هذه الآفات الحشرية ودرجة الحرارة وهيكل التخزين وفترة التخزين والمعالجة وتكرار التبخير(ايمان وأخرون ,2014) . تتمتع جميع انواع الآفات تقريباً بمعدلات تكاثر عالية بشكل ملحوظ وفي غضون موسم واحد يمكن ان تتلف من 10-15 % من الحبوب وتلوث الباقي بروائح وتفرز بعض انواع الخنافس مادة Quinons والتي تم تسجيل اصابتها بالسرطان للحيوانات المختبرية كما ان بعض انواع السوس تقلل من انبات بعض البذور كما ان الاصابة بهذه الآفات تزيد من الرطوبة النسبية مما يؤدي إلى نمو الفطريات و هناك بعض الاشخاص الذي يعانون من الحساسية بسبب الهيكل الخارجي للحشرات والشعيرات وجلود الانسلاخ والبراز (Throne *et al.*,2003) . يوجد اكثر من 200 نوعٍ من الآفات الحشرية ، التي تصيب الحبوب المخزونة ومنتجاتها (Rajendran and Sriranjini ,2008) و تشكل الخنافس الغالبية العظمى من هذه الآفات التي تعود لرتبة غمدية الاجنحة وهي مسؤولة عن النسبة الاكبر من الخسائر التي تحدث في الحبوب المخزونة ، والتي قدرت بحوالي 57% جراء الاصابة بهذه الخنافس في افريقيا (Kumar and Kalita ,2017) .

وبالنظر للأهمية الاقتصادية للحشرات التي تصيب الحبوب المخزونة ولقلة الدراسات حول هذه الآفات من الناحية التصنيفية والجينية في محافظة ميسان لذا فقد صممت الدراسة لتحقيق الاهداف التالية :

1- مسح وعزل الحشرات المتواجدة في الحبوب المخزونة من مناطق مختلفة في محافظة ميسان.
2- التشخيص المظهري للأنواع اعتماداً على الصفات التصنيفية الخاصة مع تقديم وصف وعمل مفتاح تصنيفي شامل للأنواع المحلية .
3- اعتماد الجانب الجزيئي لتأكيد التشخيص عند الحاجة .
4- التحري عن الاصابة الداخلية للحبوب بالحشرات من خلال الكشف المبكر باستخدام التشخيص الجزيئي .

2.1-استعراض المراجع Literature Review

1.2.1- نبذة تاريخية عن أصابة الحشرات للحبوب

منذ ان بدء الانسان بزراعة المحاصيل قبل حوالي 10000 سنة هاجمت اعداد كبيرة من الحشرات جذوع الاشجار و اوراق الاشجار والفواكه المتعفنة ومخازن المواد الغذائية (Buckland, 1981). وعندما فاض انتاج الانسان للمحاصيل الغذائية كانت هناك حاجة لتخزين هذه المواد الغذائية او المحاصيل بفترات زمنية طويلة وبأمان هذا الامر ادى إلى ظهور مخازن الحبوب في المناطق الزراعية (Mason, 2002).

بعد ذلك بدء بناء مخازن واسعة وهذه المخازن استخدمت في تخزين المنتجات ونقلها ومعالجتها وتسويقها ما بعد الحصاد وخلال هذه العملية استمرت العديد من الحشرات بالتغذية على المضائف الطبيعية المفضلة ثم بعد ذلك غيرت مواقعها إلى هذه الهياكل التي استخـــدمت لتـــــخزين الحبوب (Campbell and Mullen,2004). تشير التقديرات إلى ان بين 8-70% من غذاء العالم يفقد بسبب الآفات الحشرية وغيرها من الآفات بعد الحصاد (Campbell and Arbogast ,2004).

وفي عام 1991 قدرت الخسائر الاقتصادية التي لحقت بمنتجات ما بعد الحصاد من الحشرات وحدها بحوالي خمسة مليار دولار امريكي والتي تعادل 9 مليارات دولار امريكي في الوقت الحاضر أما على مستوى العالمي و بلغت الخسائر ما بعد الحصاد أكثر من 100 مليار دولار (Mckay *et al.*,2017 ; Toews *et al.*,2006).

تحدث سلسلة من العمليات للمواد الغذائية بعد الحصاد مثل انسكاب للحبوب بكميات صغيرة أو كبيرة بالقرب من موقع الحصاد وتراكم الغبار على الحبوب المخزونة او تواجد اكوام القمامة بالقرب من مخازن الحبوب (Mahroof *et al.*,2010). و على سبيل المثال خلال المواسم الدافئة تزداد بسرعة كثافات سوسة الرز *Sitophilus oryzae* وخنفساء الحبوب الصدئية *Cryptolestes ferrugineus* وخنفساء ذات الاسنان المنشارية *Oryzaephilus surinamensis* في مناطق تخزين الحبوب ومصانع الاعلاف (Edde, 2012). بالإضافة إلى ذلك عند افراغ الحبوب والمواد الغذائية الاخرى المخزونة من الحاويات والمخازن وعدم تنظيفها بشكل كامل و وجود المواد المتبقية والتالفة في المخازن كل هذه العوامل تعد مصدر اصابة الحبوب بالآفات في الصوامع ، وعلى سبيل المثال في اوروبا ان 60-75% من الطعام أو المواد الغذائية الموجودة حول مخازن الاغذية كانت موبوءة بعث الحبوب المخزونة (Semeao *et al.*, 2013) .

كما سجل المصريون القدماء عدد من الآفات الحشرية التي تصيب الاعشاب المستخدمة في المحافظة على المومياءات و من هذه الآفات وجد450 نوعاً من الخنافس على اثنتين من المومياءات وان هذه الآفات التي سجلت كانت ضمن عائلة خنافس الجلود وخنافس جوز الهند وخنافس السجاد واثبتت الدراسات ان الانواع السابقة مازالت تتغذى على الاحشاء الداخلية للجثث وفي الاهرامات وجد ايضاً خبز مصاب بخنفساء الادوية المجففة *Stegobium paniceum* كما وجدت سوسة الحنطة *Sitophilus granarius* في حبوب الشعيرو خنفساء السكاير *Lasioderma serricorne* ايضاً قبل الميلاد مصاحبة للخبز والفواكه والحبوب في صندوق الملك توت عنخ آمون (اسماعيل ،2014) .

ان حركة الحشرات ايضا تؤدي إلى انتشار الاصابة عندما تكون الاجراءات الصحية سيئة في تلك الصوامع او مخازن الاغذية وحولها ومن المعروف ان العديد من حشرات المواد المخزونة بما في ذلك ثاقبة الحبوب الصغرى *Rhyzopertha dominica* لديها مكان في المزارع خارج مخازن المواد الغذائية إذ كانت في الاصل من حفارات الخشب على الاشجار (Stejskal *et al*., 2015). مثل هذا النوع أو الانواع الاخرى تنتشر بسهولة لمسافات كبيرة من أجل البحث على الغذاء والهجرة للوصول إلى مخازن الاغذية (Tilley *et al*., 2017).

اثبتت الدراسات ان خنفساء المستودع *Trogoderma variable* وعثة الحبوب الهندية *Plodia interpunctella* لهما القابلية على الطيران لمسافات تصل إلى 75 و136 مترا على التوالي من نقاط انطلاقها، كما وجدت *Trogoderma variable* قادرة على الهجرة إلى مصانع الاغذية في البيئة المحيطة (Hagstrum and Phillips, 2017) . وجد ايضاً ان النوعين السابقين خارج المخازن مما يشير إلى ان هذه الانواع تتواجد في الحقول ايضاً (Nayak and Daglish , 2018).واشارت الكثير من الدراسات انه تم الحصول على مجموعة متنوعة من أنواع الآفات التي تصيب المنتجات المخزونة بانتظام خارج مخازن الحبوب (Wacker, 2018).

وفي الآونة الاخيرة ظهرت مصائد حاوية على المبيدات الحشرية كطريقة فعالة وطويلة الامد لاستبعاد و حركة هذه الآفات وتقليلها بشكل كبير (Morrison *et al*., 2018).

2.2.1 - الآفات الحشرية الشائعة للحبوب المخزونة

هناك العديد من انواع الحشرات التي تتغذى على الحبوب المخزونة ومنتجاتها ، وهذه الحشرات أما تعود إلى رتبة غمدية الاجنحة أو إلى رتبة حرشفية الاجنحة (العراقي ,2010) والنسبة الاكبر من حشرات المخازن هي خنافس تابعة لرتبة غمدية الاجنحة Coleoptera وهي تعد من أكبر الرتب

الحشرية و عدد الانواع التي تم تشخيصها في العالم بحوالي 380000-400000 ألف نوع (Bouchard *et al*.,2011) , و سجلت حوالي 45 عائلة من الخنافس تابعة للرتبة تصيب المواد المخزونة والغالبية العظمي من الآفات ، التي تصيب الحبوب المخزونة هي تابعة للانواع التي تعود للعوائل Anobidae , Bostrichidae , Chrysomelidae , Curculionidae , Laemophloeidae , Dermestidae , Silvanidae , Tenebrionida, (Rees, 2004) هذه الآفات التابعة لرتبتين ذات تحول الكامل وتعد كل من اليرقات والكاملات من الخنافس قادرة على ان تسبب تلف الحبوب في حين الطور الضار لعثة الحبوب هو الطور اليرقي (Weinzierl and Higgin , 2008).

يمكن تصنيف هذه الآفات الحشرية بناءً على طبيعة التغذية إلى متغذيات داخلية و متغذيات خارجية و تتغذى الاولى داخل اللب بينما تستهلك الثانية الحبوب المتشققة ومخلفات الحبوب الاخرى والغبار بالإضافة إلى ذلك يمكن ملاحظة انواع اخرى بما في ذلك خنفساء الغريبة *Ahasverus advena* وخنفساء الفطر المشعرة*Typhaea stercorea* تتغذى على العفن أو الفطريات التي تنمو على الحبوب (Flanders, 2014) تحظى المتغذيات الداخلية مثل السوس بأهمية أكبر، لأنها من بين أكثر الآفات التي تتلف الحبوب المخزونة و تتطور يرقات السوسة داخل الحبوب ويمكن ان تسبب هذه الآفة دمارا شبه كامل عندما تترك الحبوب لفترة طويلة من الزمن و يتميز السوس عن بقية الخنافس بسهولة عن طريق الخرطوم الموجود في مقدمة الراس (Jacobs and Clavin, 2001).

تعد ثاقبة الحبوب الصغرى*Rhyzopertha dominica* آفة لمجموعة متنوعة من الحبوب و يرقاتها وكاملاتها تعمل ثقوباً في الحبات الكاملة غير التالفة وتعد الرائحة النتنة من أهم الادلة على تغذية هذه الآفات وكذلك وجود الغبـــــار وقشور بنية رقيقة على حبـــات الحبـــوب (Mason, 2010).

تتغذى يرقات العثة داخل الحبوب وتسبب رائحة كريهة ويمكن لعدة أجيال من العثة اكمال دورة حياتها و من ثمّ تؤدي إلى اضرار جسيمة (Rutschky and Calvin , 1990) ان افضل طريقة للتعامل مع المتغذيات الخارجية التي تستهلك غبار الحبوب و الحبوب المتشققة او مخلفات الحبوب الآخرى عند وجودها هي التهوية المناسبة وتنظيف الحبوب و من هذه المتغذيات الخارجية هي خنفساء *Cadelle* وخنفساء الطحين المتشابهة*T.confusum* وخنفساء الحبوب المسطحة *C.ferrugineus* وخنفساء الطحين الحمراء*T.castaneum* وخنفساء الطحين المسننة *O.surinamensis*(Obermeyer *et al*.,1991) و من الممكن ان الخنافس السابقة الذكر ان تتغذى ايضا على الحبوب التي تضررت بوساطة المتغذيات الداخلية كما تسبب يرقات عثة الحبوب

الهندية *Plodia interpunctella* ضرراً مباشراً للحبوب من خلال تغذيتها على الجنين كما تقلل هذه الآفة من جودة الحبوب عن طريق انتاج النفايات وبناء شبكات حريرية بين حبات الحبوب (Peairs, 2010).

يوجد تصنيف آخر لحشرات المخازن بالاعتماد على طبيعة التغذية إلى آفات اولية و ثانوية , النوع الاول من الآفات قدرة على اتلاف الحبوب الكاملة غير التالفة ، إذ تشترك بدورة حياتها مع الحبوب الكاملة و تضع بيوضها داخل الحبوب مما يؤدي في بعض الاحيان إلى اصابة خفية ان هذا النوع من الآفات تكون اضرارها اكثر إذ لم يتم ملاحظتها حتى تظهر افرادها فمن الصعب ادارتها والسيطرة عليها (Srivastava and Subramanian, 2016) . تسمى الآفات الثانوية باسم الحشرات النخالة لتواجدها على الحبوب المتضررة بالفعل ، أما من الآفات الاولية أو غيرها من الاضرار المتنوعة إذ تعيش بشكل عام على الحبات المكسورة او حطامها او البذور عالية الرطوبة . (Hagstrum and Subramanyam,2017) ، والاضرار التي تحدثها الآفات الثانوية ليست شديدة مثل الآفات الحشرية الاولية (Narayanasamy *et al.*,2009) .

تتغذى الآفات الثانوية ايضاً على الفطريات و الاعفان إذ تلوث الحبوب عند وجودها وتعمل على التمثيل الغذائي للفضلات مسببة ارتفاع نسبة الرطوبة و هذا يجعل الفطريات و الاعفان تتطور ومن ثم يشير إلى الحالة النهائية لتلف الحبوب (Rajendran ,2001) .

3.2.1- الدراسات التصنيفية والتشخيصية المظهرية لحشرات المخازن في العالم

ازداد في الآونة الاخيرة الاهتمام العالمي بدراسة حشرات المخازن وذلك للأهمية الاقتصادية لهذه الآفات وتأثيرها الكبير والواضح على اقتصاد معظم دول العالم فقد نشرت عدة مقالات وبحوث وكتب عن تشخيص الانواع التي تصيب الحبوب المخزونة ومنتجاتها معززة بصور ورسومات ومفاتيح تصنيفية منها :

في الولايات المتحدة الامريكية شخص Dowell *et al.*, (1999) 11 نوعا من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة باستخدام مطياف الاشعة تحت الحمراء وبناءً على فرضية ان لكل نوع تركيبه الكيميائي الخاص وبالاعتماد على هذا المطياف تم تحديد الآفات وتصنيفها إلى آفات اولية أو ثانوية كما حدد أكثر من 95% من أنواع للجنس *Callsobruchus* بشكل صحيح اعتماداً على كمية الدهون في الكيوتكل الذي ساهمت في التشخيص الصحيح للانواع.

و في جنوب افريقيا شخصا Appleeby and Gredland (2001) النوع *Callsobruchus subinnotatus* بشكل تفصيلي بالاعتماد على الاختلافات السلوكية والشكلية للكاملات وكان هنالك

نوعان من اشكال الكاملة لهذه الآفة هما الشكل النشط او الطيار Active والذي كانت متواجدة ومنتشرة في الحقول بسبب قابليتها على الطيران ، أما الشكل الثاني فهو الشكل الطبيعي او غير الطيار Normal الذي لم يكن له القابلية على الطيران وتواجد في المخازن اضافة إلى وجود اختلافات أخرى شملت نمط الغمد ولونه والخصوبة ودورة الحياة والتي تميز هذا النوع عن كل الانواع الأخرى الموجودة في هذا الجنس .

وصف Rees (2007) 17 نوعاً من انواع الآفات الموجودة في مخازن الحبوب في استراليا ، و قام بوصف الكاملات واليرقات والنوع المشابه للنوع الموصوف و نوع الآفة ، آفة اولية او ثانوية و المضائف التي تتغذى عليها والاهمية الاقتصادية ودورة الحياة لكل نوع والعديد من الخنافس الاخرى الموجودة في مخازن الحبوب .

في ايران ، محافظة مشهد سجل Asl *et al.*, (2009) 11 نوعاً من الآفات الحشرية من خمس عوائل و التي تعود إلى رتبتين هما غمديات وحرشفيات الاجنحة ,من أصل 74 عينة التي جمعت من الحبوب والفواكه المجففة والبقوليات لعشرة مواقع مختلفة و كانت الانواع هي سوسة البقول*C.maculatus* وعثة الطحين الهندية *Plodia interpunctella* وهما الاكثر تواجداً أما خنفساء الطحين الصدئية الحمراء وخنفساء الحبوب المنشارية فسجلت بشكل واسع في العينات الباقية كما سجل خمسة انواع من الطفيليات التي تهاجم آفات الحبوب المخزونة والتي كانت قادرة على مكافحة هذه الآفات في مخازن الحبوب في مشهد.

في سوريا وصف الرهبان وشهاب (2011) 13 نوعا من الخنافس ونوعين من حرشفية الاجنحة وعزز وصف الانواع بصور فوتوغرافية ودرست دورات الحياة وشخصت آفات أخرى مثل الاكاروسات والقوارض التي تعد من آفات المخازن.

أما في شرق فلندا فسجل Sorvari *et al.*, (2012) خنفساء الحبوب المنشارية *Oryzaephilus surinamensis* داخل كومة عش لنملة الخشب الحمراء *Formica rufa* اثناء مسح للافقريات الذي تعيش مع النمل Mymecophilous invertebrate.

في وادي لوغان من اقصى شمال الكاميرون إلى جنوب غرب تشاد شخصا Raoul and Leonard (2013) 12 نوعا من آلافات الحشرية ، التي تصيب الحبوب المخزونة في 290 قرية تابعة لهذا الوادي .

اعتمد Sousa *et al.*, (2013) في البرازيل تشخيص النوع *Sitophilus zeamais* على الشكل الظاهري للحبوب المصابة و شكل القناة الهضمية للنوع باستخدام المجهر الضوئي والمجهر الكتروني الماسح والمجهر الكتروني النافذ .

سجل Stejskal *et al.*, (2014) في براغ عاصمة جمهورية تشيك الانواع التابعة للأجناس من الخنافس وهي *Oryzaephilus* و*Sitophilus* و*Tribulium* وانواع من العث الاخرى التابعة لجنس *Plodia* على بذور القمح والشعير والذرة كما ظهرت بعض الآفات الخطيرة مثل *Sitotroga cereallela* و كان النوع *Sitophilus zemays* نادر تواجده في حين النوع *Bruchus pisorum* شائع جداً.

في افريقيا درس Barde *et al.*, (2014) دورة حياة النوع *C. maculatus* باستخدام القياسات المورفومترية للأطوار غير الكاملة وهي البيضة واليرقة والعذارى والكاملات ايضاً من الذكور والاناث لتميز هذه النوع عن الانواع الاخرى التابعة لنفس الجنس في افريقيا .

شخص Suiter *et al.*, (2014) في جورجيا النوع *Callsobruchus maculatus* بالاعتماد على الصفات التصنيفية الخاصة بقرون الاستشعار وفخذ الارجل الخلفية والزوائد الموجودة على هذه الجزء كما وصف ست انواع أخرى من الآفات الحشرية التي تصيب مختلف انواع الحبوب . شخص Fatima *et al.*, (2016) ذكور واناث النوع *C. maculatus* بالاعتماد على الصفات التصنيفية و ميزت كذلك الانواع التابعة للجنس بصفات مهمة وعززت ذلك بالصور التوضيحية في باكستان .

شخص Syarifah Zulaikha *et al.*, (2018) في ماليزيا الآفات التي تصيب الرز في مخازن الحبوب في ثلاثة مستودعات وكانت هناك اربعة انواع رئيسة من الآفات في جميع المستودعات وهي *O. surinamensis* و*T. castenum* و*Cadra cautella* و*S. oryzae* , إذ ان المعلومات التي تكون متعلقة بتنوع الآفات الحشرية في مستودعات الارز مفيدة جداً، لتنفيذ الادارة والسيطرة على تفشي الآفات الحشرية في حبوب الرز المخزونة .

أما في غانا شخص Manu *et al.*, (2018) انواع الآفات التي تصيب الذرة وكانت هناك ثلاثة انواع هي الاكثر وفرة في المستودعات وهي *Plodia interpunctella* و *Sitotroga cerealella* و *P. truncatus* و النوعين الاخيرين تم الحصول عليهما بمصائد وضعت في المزارع القريبة من المستودعات كما وجد النوعين *Sitophilus* spp. بشكل واسع في احد المستودعات .

سجل Alfazairy *et al.*, (2020) في مصر خمسة أنواع من الآفات الحشرية التي كانت أكثر وفرة وتلفاً للحبوب ومنتجاتها وهي *Laemophloeus turcicus* و *Rhyzopertha dominica* و *S.*

zeamais و*T. castenum* و *Plodia interpunctella* كما كان هناك تواجد لانواع من الابتدائيات الطفيلية الممرضة لحشرات المخازن .

أما في الهند سجل Banga *et al.*, (2020) 21 نوعاً من الآفات الرئيسة التي تصيب الحبوب المخزونة والعائدة إلى تسع عوائل إذ كانت الانواع التي تعود إلى رتبة غمدية الاجنحة 19 نوعاً في حين النوعين الآخرين تابعين لرتبة حرشفية الاجنحة .

في باكستان شخص Kousar *et al.*, (2021) النوع *O. surinamensis* بالاعتماد على الاطوار غير الكاملة مثل البيضة ،اليرقات ،العذارى والكاملات الذكور والاناث على التمور الجافة وشبه الجافة، كما اشار ايضاً إلى تميز الاطوار اليرقية الثالثة والرابعة بشراهة التغذية .

4.2.1- الدراسات التصنيفية و التشخيصية لحشرات المخازن في العراق

ان الدراسات التصنيفية والتشخيصية للحشرات التي تصيب الحبوب المخزونة في العراق قليلة وكان التركيز الاكثر على كيفية السيطرة وادارة ومكافحة هذه الآفات الحشرية بسبب الاضرار البالغة الجسيمة التي تسببها على المحاصيل في الحقول والمخازن بالإضافة إلى الامراض التي تحدثها للإنسان ومن هذه الدراسات التشخيصية على مستوى العراق هي :

شخصت سلمان (2013) مظهريا ذكور نوعين من خنافس الطحين هما خنافس الطحين الصدئية الحمراء *Tribulium castenum* والتي جمعت من قضاء الكاظمية في محافظة بغداد وخنفساء الطحين المتشابهة *Tribulium confusum* التي جمعت من قضاء راوه في محافظة الانبار وتضمنت الدراسة المظهرية جميع الصفات المظهرية لمناطق الجسم الثلاثة لكلا النوعين معززة بالأشكال توضيحية والصور الفوتوغرافية ورسومات للكاملتين فضلاً عن دراسة السؤات الذكرية لهما .

اعطى اسماعيل (2014) وصف للآفات المهمة التي تصيب الحبوب المخزونة بالاعتماد على الاطوار غير الكاملة من بيضة ويرقة وعذارى بالإضافة إلى الكاملات معززاً بدورة الحياة وشمل هذا الوصف 17 نوعاً من الخنافس يعود إلى رتبة غمدية الاجنحة و أربعة انواع من الفراشات التي تعود إلى رتبة حرشفية الاجنحة في مدينة الموصل .

شخصت جاسم (2019) خنفساء اللوبيا الجنوبية*Callsobruchus maculatus* لأربع مناطق مختلفة من المحافظة وهي الناصرية ، سوق الشيوخ ، قلعة سكر والجبايش معززاً ذلك بصورفوتوغرافية للذكور والاناث وللنوع نفسه .

درست عمران (2021) في محافظة البصرة دراسة حياتية ومظهرية لنوعين من الآفات والتي كانت الاكثركثافة وهما ثاقبة الحبوب الصغرى *Rhyzopertha. dominica* و *Orzaephilus surinamensis* من أصل تسعة أنواع قد شخصت و كانت جميعها تنتمي إلى رتبة غمدية الاجنحة و سجلت ايضاً الطفيلي *Cephalonima tarsalis* الذي يعود إلى رتبة غشائية الاجنحة في هذه الدراسة .

شخصت مزهر (2022) 12 نوعاً من خنافس الحبوب التابعة لرتبة غمدية الاجنحة والتي كانت تعود إلى عشرة اجناس وضمن سبعة عوائل استخدمت جين *COI* و*16sr* جمعت من مناطق مختلفة كما سجلت النوع *Attagenus brunneus* Faldermann,1835 لأول مرة في العراق .

5.2.1- الدراسات التشخيصية الجزيئية لحشرات المخازن في العالم

يعد التصنيف ضروري ومهم في معرفة الكائنات الحية وتشخيصها وهناك الكثير من الطرائق التي يمكن من خلالها دراسة الخصائص الوراثية والجزيئية والبروتينية والاستنساخ بالإضافة إلى صفات الشكل الظاهري وفي البحوث التشخيصية والتصنيفية يؤدي تطبيق مثل هذه التقنيات إلى جعل البيانات التي تم الحصول عليها جيدة من الناحية النوعية والكمية وتحسين مثل هذه البيانات ليست فقط من أجل وصف او تشخيص أو معرفة الانواع الجديدة فحسب بل لإعطاء معلومات أكثر عندما يتم تشخيص النماذج الجديدة (Engl *et al.*, 2018) .

ان تشخيص الكائنات الحية بالاعتماد على الصفات المظهرية تحتاج إلى خبراء ومصنفين ومختصين وهم قلة بالإضافة إلى ندرة تواجد المفتاح التصنيفي المناسب للأنواع قيد الدراسة لذلك لجأ العديد من العلماء إلى مناهج واساليب وطرائق أحدث و أفضل واسرع في تصنيف الكائنات الحية ومنها الدراسات الجزيئية (Ballare and Ware, 2011).

ان المنطقة الجينية Cytochrome Oxidase (COI) هو عبارة عن معقد بروتيني مؤلف من 13 وحدة ثانوية يوجد على الغشاء الداخلي للمايتوكوندريا و ينتج ما يصل 95% من طاقة الخلية في حقيقة النواة وتحفيز نقل الكترونات والبروتونات (Johnston and Rolff ,2013 ; Dalziel *et al.*, 2006) .

تضع بعض الاحيان الصفات المظهرية لبعض الانواع القريبة من بعضهما بسبب التشابه المظهري إذ تبدو و كأنها نوع واحد , لذلك فان التشابه المظهري لا يمثل دائما تشابهاً وراثياً (Brown *et al.*,2000) . بينت البحوث في مجال الوراثة الجزيئية ان الاختلافات التي تحصل في تتابعات الحامض النووي DNA هو اساس كل التباينات او التغيرات او التطورات التي تحصل في الصفات المظهرية وان

مقارنة هذه التتابعات بين الكائنات الحية تعد حساسة ومباشرة في تحديد التباين الوراثي وان تقنية تفاعلات البلمرة المتسلسل Polymease Chain Reaction(PCR) تجعل المقارنة بين هذه التتابعات عملية وان مثل هذه التقنية استخدمت لغرض تشخيص الانواع وتأكيد الدراسات المظهرية ودراسة التنوع الاحيائي وتطويره ((Grimaldi and Engel ,2005; Herbert *et al.*,2003 .

تناولت العديد من الدراسات الجانبين الجزيئي والوراثي للحشرات التي تصيب الحبوب المخزونة في انحاء مختلفة من العالم و من هذه الدراسات ما قام به Mestrovic *et al* وجماعته (2006) في كراوتيا إذ بين العلاقات التطورية لمجموعات الانواع الرئيسة الثلاثة التابعة لجنس *Tribulium* مستخدماً التحليل المتزامن 642bp للجزء الاكثر حفظا من الحامض النووي للمايتوكوندريا في المنطقة الجينية COI واظهرت النتائج ان الجنس *Tribulium* تم فصله إلى ثلاث مجموعات وهي مجموعة *brevioins* الذي يضم نوع واحد *T.brevioins* و المجموعة الثانية مجموعة *T.castenum* الذي تضم *T.castenum* و *T.freemani* و*T.madens* و *T.audax* والمجموعة الاخيرة هي مجموعة *T.confusum* الذي ضمت *T.confusum* و*T.anaphe* و *T.destructor* .

ولدراسة التباين الوراثي في تعدد الاشكال في ذكور النوع *C. maculatus* استخدم Gill و جماعته (2006) تقنية RAPD-PCR مستخدما اثنين من التتابعات النيكلوتيدية العشوائية الذي يضخم عدد متباين من الحزم لكل شكل من الاشكال في الهند .

وفي بولندا أستخدم (2008) Nowaczyk *et al.*, استخدم Random amplified Polymorphic DNA(RAPD-PCR) لمعرفة التنوع الجيني بين الجماعات العشرة التابعة لجنس *Sitophilus* التي جمعت من اماكن ومصادر مختلفة شملت بولندا و اوروبا وبريطانيا ومقارنة النتائج لمجتمعات النوع *S.oryzae* والنوع *S.zeamais* .

استخدم (2009) Nowaczyk *et al.*, التقنيات الجزيئية و Real –time PCR للكشف عن الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة في بولندا .

ميز (2011) Ndiaye *et al.*, نوعين هما *Bruchidius atrolieatus* و *Callsobruchus maculatus* باستخدام تقنية (RFLP-PCR) والانزيم القاطع *Bsm*AI لجيني Cytochrome b و28S.

وفي دراسة (2012) Arif *et al.*, في الصين تم تصميم بادئات متخصصة RetCOIR/RetCOIF من المنطقة الجينية COI لتشخيص النوع *Lepinotus reticulatus*.

يصعب في الكثير من الاحيان تشخيص انواع الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة في الاطوار غير الكاملة بسبب تشابه هذه الاطوار ولهذا السبب استخدم Yao *et al.,* (2012) في تايوان تقنية Sequence Characterized Amplified Region (SCAR) وبثلاث مجموعات – SCARI SCARII- SCARIII ولكل مجموعة أربعة ازواج من البادئات اخذت من DNA الجينومية و لأربعة انواع من آفات الحبوب المخزونة وهي *Corcyra cephalonima* و *Cadra cautella* و *Sitotroga cerealla* و *Plodia interpunctella* ولكل مجموعة حزم متعددة و بأوزان جزيئية مختلفة وهذه التقنية سريعة وحساسة ودقيقة لتشخيص انواع الحشرات الموجودة في الحبوب ومنتجاتها المخزونة في عملية الحجر الزراعي .

استخدم Sola *et al.,* (2015) تقنية Multiplex –PCR لتمييز بين الانواع الثلاثة المتشابهة شكلا التابعة لجنس *Sitophilus* كما استخدم Real Time –PCR للكشف عن كمية DNA القليلة والخاصة بالنوع *Rhyzopertha.dominica* في الارز البني والقمح والذرة في مدينة برشلونة في اسبانيا .

استخدم Ming *et al.,* (2015) في الصين تقنية Restriction Fragment Length Polymorphism(RFLP-PCR) لتمييز وتشخيص نوعين تابعين للجنس *Tribulium* هما *T.castenum* و*T.confusum* .

في الصين ايضاً استخدم Varadinova *et al.,* (2015) منطقة *COI* لتشخيص خمسة أنواع تابعة للجنس *Cryptolestes* .

في الكثير من الاحيان يكون التشخيص المظهري صعب بسبب صغر حجم الاطوار غير الكاملة والكاملات ايضاً كما في قمل الكتب التابعة للجنس *Pscoids* التي تصيب الحبوب المخزونة ومنتجاتها و قد قام Liu *et al.,* (2017) بتشخيص 10 انواع تابعة للجنس السابق من 25 موقعاً جغرافياً في ثلاث دول هي الصين ، جمهورية الشيك ،الولايات المتحدة بالاعتماد على طريقة Microarry الذي تستند إلى تتابعات ITS2 rDNA.

في بنكلادش استخدم Aslam *et al.,* (2019_b) المنطقة الجينية *COI* لتشخيص تتابعات الخاصة ومعرفتها لهذا الجين لثلاثة أنواع من آفات الحبوب المخزونة وهما *S. oryzae* و *C. chinensis* و *O. surinamensis* مثل هذه المعلومات تكون مفيدة لفهم تدابير المكافحة الناجحة ضد انواع الآفات الحشرية .

6.2.1- الدراسات التشخيصية الجزيئية لحشرات المخازن في العراق

ان استخدام تقنيات التشخيص الجزيئي لتشخيص الآفات الحشرية في كل دور من دورة حياة الحشرات ساعدت الباحثين والمزارعين في السيطرة على هذه الآفات لتقليل كمية الاضرار وتقليل الكلفة الاقتصادية المستخدمة في المكافحة الذي يكون ثمنها ملايين الدولارات (Kaur, 2015; Sarvananda, 2018) .

كانت الدراسات التي تخص الجانب الجزيئي للحشرات التي تصيب الحبوب المخزونة ومنتجاتها في العراق قليلة ومحدودة وان الغالبية العظمى للدراسات كانت مقتصرة على نوعين أو ثلاثة أنواع و منها دراسة سلمان (2013) في بغداد إذ درست الهيأة الكروموسومية لذكور النوعين *T.castenum* و *T.confusum* وطول الكروموسومات الجنسية والجسمية لذكور النوعين السابقين، ورتبت الكروموسومات الجسمية على شكل ازواج و الكروموسومات الجنسية كانا منفصلين وكانت الكروموسومات في النوع الثاني هي أطول من كروموسومات التي يمتلكها النوع الاول وكان التشخيص معتمداً على اشكال اغلب الكروموسومات التي كانت وسطية الجسم المركزي .

استخدم حيدر وجماعته (2013) تقنية PCR والجين 28srDNA لتشخيص النوع *C. maculatus* وباستعمال ثلاثة مجتمعات سكانية شملت محافظات كركوك واربيل وتكريت وجمعت من بذور اللوبيا المصابة ، وكان هناك تشابه بالأنماط المظهرية للأنواع وتراوحت المسافة الجينية بين العينات (0- 0.26).

استخدمت جاسم (2019) تقنية RFLP-PCR لإيجاد التباين الوراثي للنوع *Callsobruchus maculatus*. وباستخدام الجين 285 ribosomal DNA و Cytochrome b وانزيم القطع *Bsm*AI لعينات جمعت من أربعة أقضية في محافظة ذي قار و هي الناصرية و سوق الشيوخ و قلعة سكر والجبايش كما استخدمت تقنية RAPD-PCR بثلاث بادئات بتتابعات مختلفة ولكل من الذكور والاناث واستخدم اعداد الحزم الناتجة في معادلة لإيجاد التشابه والبعد الوراثي بين الاقضية المختلفة التابعة للمحافظة .

أما في ديالى فاستخدم Sultan (2020) تقنية RAPD-PCR للتشخيص والتميز بين النوعين *T. castenum* و*T. confusum* وباستخدام سبع بادئات مختلفة التتابعات ، لأنّ من الصعب التمييز بين هذين النوعين مظهرياً . استخدم (2021) Hamad and Sultan تتابعات المنطقة الجينية *COI* لمعرفة التباينات الوراثية الموجودة بين النوعين السابقين .

في البصرة استخدمت عمران (2021) التشخيص الجزيئي لتمييز بين نوعين هما خنفساء الحبوب المنشارية *O. surinamensis* و *O. mercator* من خلال منطقة *COI* وبرايمر عام لتفريق والتشخيص بين نوعين تابعين للجنس نفسه *Oryzaephilus* وتحديد التشابه والاختلاف بين هذين النوعين و الانواع الموجودة في بنك الجينات NCBI في كوريا .

اما مزهر (2022) شخصت ثمانية أنواع تصيب الحبوب وعائدة إلى رتبة غمدية الاجنحة وهذه الأنواع جمعت من مناطق مختلفة في بغداد و ديالى و صلاح الدين و نينوى و ذي قار و النجف الاشرف وكربلاء المقدسة و ديوانية ودهوك .

7.2.1 - استخدام التشخيص الجزيئي في الكشف المبكر عن الاصابات داخل الحبوب في العالم

تتعرض العديد من الحبوب المخزونة اثناء فترة التخزين للإصابة بالعديد من الآفات الحشرات مؤدية بدورها إلى حدوث خسائر كمية ونوعية في الحبوب التي لا يمكن الاستهانة بها (Adams, 1977;Tyler and Boxall,1984).

ان المهتمين ببرنامج الوقاية والعلاج كثيراً ما يتعرضون إلى ارباك واحراج نتيجة وجود اضرار على الحبوب دون مشاهدة الحشرات أو اطوارها المختلفة منها اليرقات ، وبالنظر لأهمية تشخيص انواع الحشرات الموجودة في عينة الحبوب استخدمت في الآونة الاخيرة التقنيات الجزيئية في الكشف عن الآفات الداخلية سواء للحبوب أو غيرها من المواد الغذائية المستوردة منها الفواكه وغيرها من المواد المخزونة المجففة .

استخدمت Balasubramanian *et al.*, (2007) تقنية PCR و باستخدام بادئات متخصصة لتشخيص نوعين تابعين لجنس *Tribolium* وهما *T. castaneum* و *T.confusum* في الحنطة المطحونة تجاريا ومختبريا كما استخدمت البادئات الخاصة بكل نوع لكشف الانواع السابقة الذكر عن طريق بقايا الحشرات في الحنطة التجارية والمختبرية في كندا .اما في اسبانيا فاستخدم (2018) Sola *et al.*, تقنية Multiplex-PCR للكشف عن خمسة أنواع من الآفات الداخلية التي تصيب الحبوب المخزونة وهي *S. granarius* و*Rhyzopertha dominica* و *S. zeamais* و *S. oryzae* و *Sitotroga cerealella* وكشف ايضاً عن جميع مراحل تطور الآفة بدءاً من البيضة وصولاً إلى الكاملات و لجميع أنواع الحبوب وكما يمكن الكشف عن هذه الآفات حتى بعد معالجة الحبوب بالمبيدات .

8.2.1 - استخدام التشخيص الجزيئي في الكشف المبكر عن الاصابات داخل الحبوب في العراق

اشارت العديد من الدراسات الميدانية ،التي تعتمد على الملاحظة المباشرة الحقلية في العراق عن طبيعة الخسائر الذي تحدثها الحشرات للحبوب المخزونة ، التي كانت منتشرة في غالبية مناطق العراق وسجلت العديد من الاصابات التي بلغت بين الاصابات الخفيفة إلى الاصابات الشديدة في كل من الموصل وبغداد والبـــــــصرة (السويسي ،1967 ; محيميد ،1975 ; الفلاح ،1988) لا توجد اي دراسات سابقة عن استخدام التشخيص الجزيئي في الكشف المبكر عن الاصابة في الحبوب .

الفصل الثاني

المواد وطرائق العمل

2- المواد وطرائق العمل

1.2- الاجهزة والمواد والمحاليل الكيميائية المستعملة جدول (1) و (2) .

1.1.2- الاجهزة المستعملة جدول (1).

جدول (1) الاجهزة المستعملة والشركة المصنعة

ت	اسم الجهاز Apparatus Name	المنشأ
1	احجام مختلفة من Tips	Bioneer-Korea
2	اطباق بتري Pettri dish	China
3	أنابيب ابندروف Eppendrof tube	Bioneer-Korea
4	جهاز الترحيل الكهربائي Electrophoresis	Fisher Scientific
5	جهاز التصوير بالأشعة البنفسجية	UK
6	جهاز الرجاج المغناطيسي Magnetic stirrer	UK
7	جهاز الموصدة Autoclave	Monarch MSI-Germany
8	جهاز بلمرة حراري Thermocycler	China
9	جهاز تقطير Distiller	USA
10	جهاز طرد مركزي Cooling Centrifuge	GFL-Germany
11	جهاز قياس تركيز الحامض النووي Nanodrop	Germany
12	حاسبة Laptop	China
13	حمام مائي Water bath	GFL-Germany
14	شرائح زجاجية Slides	England
15	صفيحة التسخين Hot plate	Biocote USA
16	غطاء شرائح Cover Slides	China
17	فرن Oven	USA
18	قناني حفظ نماذج Viales	China
19	كاميرا تصوير ديجيتال Digital Camera	USA
20	مازج دوار Vortex	Barnstead international USA
21	ماصة مايكروية Micropipettes	China
22	مجمدة Freezer	Germany
23	مجهر تشريح Dissection Microscope	Germany
24	مجهر تشريح لوسيدا Lucida Dissection Microscope	Germany
25	ميزان كهربائي حساس Balance	DENVER-Germany

جدول (2) - المحاليل والمواد الكيميائية المستعملة

ت	المحاليل والمواد الكيميائية	المنشأ
1	Ladder DNA(Marker)	Bioneer-Korea
2	الاكاروزAgarose	Spain
3	زايلين Xylene	Spain
4	صبغة التحميل الزرقاء Bromophenol Blue	Promega-USA
5	صبغة بروميد الاثيديوم Ethidium Bromide	Promega-USA
6	كت استخلاص(Genomic DNAmini Kit (Tissue	Promega
7	كحول الايثانول المطلق Absolute Ethanol Alcohol	Netherland
8	كليسيرين Glycerin	Iraq
9	كندا بلسم Canada Balsam	Spain
10	ماء منزوع الايونات(Nuclease Free Water(ddH_2O)	Bioneer-Korea
11	محلول الترحيل TBE-Buffer (10X)	Promega-USA

2.2- طرائق العمل

1.2.2- جمع العينات Sample collecting

جمعت عينات الحبوب المصابة بالآفات على مدار عام كامل من شهر كانون الثاني لسنة 2021 لغاية شهر كانون الاول لسنة 2022 ومن مناطق مختلفة تابعة لمحافظة ميسان شملت مركز المحافظة و الاسواق المحلية والمركزية والاقضية مثل قلعة صالح ، العزير ، المجر الكبير ،نهر سعد ،علي الغربي ،علي الشرقي موضح في خريطة (1) بالإضافة إلى مخازن المواد الغذائية الموجودة في المحافظة و جلبت هذه الحبوب والمواد الغذائية للمختبر لعمل مزارع دائمية للأنواع ، لغرض توفر العينات بشكل دائم في المختبر ومن ثم امكانية استخدامها في التصنيف الجيني و شملت عينات الحبوب المصابة عينات الحنطة التي جلبت من الاسواق المحلية ومن الشركة العامة لتجارة الحبوب في ميسان بفروعها الثلاثة وكانت تقع ضمن مركز المدينة إذ يقع الموقع الاول على طريق البصرة – عمارة ،الموقع الثاني يقع على طريق البتيرة- العمارة ضمن طريق مطار البتيرة العسكري ، أما الموقع الثالث فعلى طريق الطيب المجاور لمعمل البلاستيك وقد اختلفت المخازن الثلاثة في طرائق خزنها للحنطة إذ في الموقع الاول يخزن الحنطة في صوامع حديدية (صورة 5) أما في الموقع الثاني فكان الخزن على شكل مسقفات (صورة 6) في حين كان في المخزن الثالث بشكل اكداس (صورة 7) وكما جلبت عينات من الدكة والسحالة من الشركة العامة لتجارة الحبوب بالموقع الاول و العينات التي جلبت من الاسواق المركزية

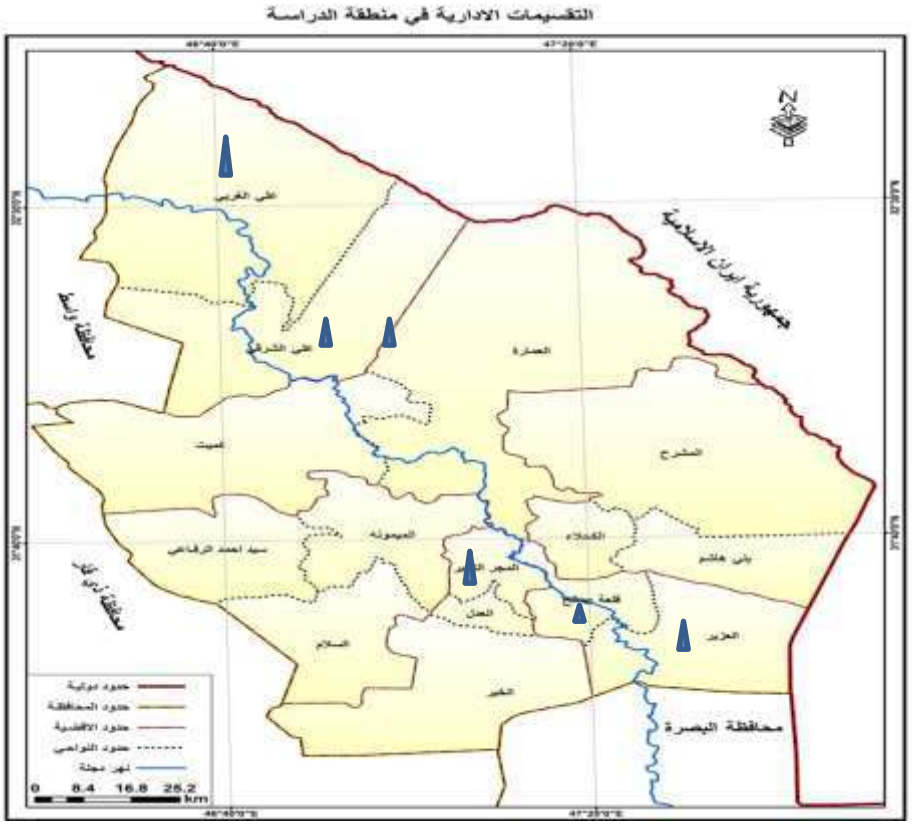
والمحلية شملت اللوبيا الحمراء (صورة 1) والحمص (صورة 1) والفاصوليا والرز الهندي و العنبر والامريكي والبرغل والسمسم ودقيق الرز والدقيق والتمر المجفف (صورة 3) والمعلّب و كذلك عينات من الذرة و الحنطة الاسترالية (صورة 4) التي تم استيرادها من عام 2019 ولم توزع على المطاحن بسبب الاصابة الموجودة فيها.

صورة (1) اللوبيا الحمراء المصابة

صورة (2) الحمص المصاب

صورة(3) التمر المصاب

صورة (4) الحنطة المصابة



خريطة (1) : مناطق جمع عينات الحبوب المصابة ضمن الاقضية التابعة لمحافظة ميسان

صورة (5) الصوامع الحديدية في الموقع الاول للشركة العامة لتجارة الحبوب في ميسان

صورة (6)الموقع الثاني لجمع العينات والمتمثل بمسقفات الخزن للشركة العامة لتجارة الحبوب في ميسان

صورة (7) الموقع الثالث لجمع العينات و المتمثل بأكداس الخزن للشركة العامة لتجارة الحبوب فرع ميسان

2.2.2- عمل المزارع الدائمية للأنواع في المختبر

تمت تربية الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة على اوساط خالية من الاصابة و كلا بحسب الحبوب التي تصيبها إذ عوملت هذه الاوساط مسبقاً بدرجة حرارة °50 م لمدة 10 دقائق في فرن كهربائي للتخلص من اي اصابة موجودة في الحبوب (Ahmady *et al.*,2016) إذ يوضع 250 غراماً من الحبوب الخالية من الاصابة في قناني بلاستيكية سعة كل واحدة منها 300 مل وبواقع اربعة مكررات لكل منطقة من مناطق الدراسة ، ويوضع في داخل كل قنينة زوج من الحشرات ، ذكر وانثى مستعملا انبوبة الشفط في حال ان كانت الحشرة طيارة ، و يتم تغطية فوهة القنينة بواسطة قماش ململ ، وتجدد المزرعة بعد كل جيل عن طريق اخذ الحشرات الخارجة من البيوض لعمل مزارع جديدة للحصول على اجيال نقية للتصنيف الجزيئي .

3.2.2 - طريقة أخذ العينات

جمعت عينات الحنطة والدكة والسحالة خلال مواسم الحصاد من الشركة العامة لتجارة الحبوب في المحافظة بفروعها الثلاثة و بواقع موسمين ، أما بقية الحبوب فجمعت بصورة مستمرة شهرياً من الاسواق المحلية والمركزية وحتى المنازل . أخذت الحبوب بطريقتين بحسب حجم الحبوب وهما كما ياتي :

في الطريقة الاولى بعد ان جلبت العينات بأكياس إلى المختبر وضعت في قناني بلاستيكية ذات احجام متباينة حسب كمية العينة بعد ذلك نخل العينات ذات الحجم الصغير مثل الدقيق ودقيق الرز والسحالة بوساطة منخل ذو ثقوب صغيرة لغرض فصل الانواع الموجودة في العينات المذكورة . أما بقية العينات ذات الاحجام الكبيرة فعزلت بوساطة فرشاة رسم تحت مجهر التشريح ووضعت في قناني فيه كحول اثيلي تركيز 70% .

في الطريقة الثانية بعد ان جلبت العينات في اكياس بلاستيكية إلى المختبر وضعت في قناني بلاستيكية ذات احجام مختلفة وتركت في منتصف القنينة قطعة ورقية ذات ابعاد 20*30 سم بعد ان لُفّت بصورة اسطوانية لغرض جمع الحشرات على هذه القطعة الورقية لسهولة عزلها وفصلها بعد ذلك وضعت في قناني حفظ حاوية على كحول بتركيز 70 %.

3.2- الدراسة المظهرية Morphological Study

تم التشخيص المظهري لبعض عوائل خنافس الحبوب المخزونة بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية الآتية : (Halsted ,(1986 ; Adams, (1995) ; Almeida , (2001) ; Kingsolver, (2004) ; Pereira and Salvadori, (2006) ; Mandadi, (2020)) .

1.3.2- تحضير الشرائح الدائمية للحشرات

وضعت الحشرات المراد دراستها على قطعة فلين ثم وضعت قطعة الفلين هذه في دورق زجاجي سعه 100 مل يحتوي نصفه على ماء ويسخن لمدة 20 دقيقة و على درجة حرارة 60-50 ºم دون ان تلامس الحشرات الماء ، و يغطي الدورق بوساطة طبق بتري لمنع تسرب بخار الماء والذي يعمل على التليين ، و من ثم سهولة فصل اجزاء الجسم والعضلات وعدم تكسيرها وبعد ذلك توضع تلك الاجزاء في دورق زجاجي سعة 100 مل يحتوي ثلثه على هيدروكسيد البوتاسيوم KOH تركيزه 10% وترك يغلي لمدة 10 دقائق على صفيحة ساخنة Hot Plate لتوضيح الصفائح والدروز وتسهيل ازالة العضلات المرتبطة ببعض الصفائح لكي تبدو واضحة في أثناء الفحص في بعض الانواع توضع في KOH بتركيز 10% لمدة يوم كامل لغرض تسهيل فحص الاجزاء الخارجية و بعدها تغسل ثلاث مرات بالماء المقطر لإزالة تأثير KOH بعد ذلك توضع في كحول اثيلي بتراكيز 30 %، 50 %، 70% ، 100% بعدها نقلت إلى الزايلين لمدة خمس دقائق وحملت بعد ذلك على شريحة زجاجية ووضعت عليها قطرة من الكلسيرين وغطيت بغطاء الشريحة الزجاجية وطليت من الأعلى والاسفل بطلاء الاظافر ولمنع العينة من الجفاف في بعض الشرائح عند ظهور الفقاعات توضع في فرن بدرجة حرارة 60 ºم لمدة 24 ساعة .

4.2- الدراسة الجزيئية

1.4.2- تحضير المحاليل

1.1.4.2- صبغة بروميد الاثيديوم

أخذ غرام واحد من مسحوق الصبغة وذُوّب في 100 مل من الماء المقطر، وحفظ في قنينة معقمة ومعتمة (Manatis , 1982) .

2.1.4.2- صبغة بروموفينول الزرقاء

ذوب 25 ملغرام من مسحوق الصبغة في 30 مل كليسرول ويكمل الحجم المتبقي إلى 100 مل بالماء المقطر (Manatis,1982) .

3.1.4.2- محلول Tris-Borate-Ethyl diaminetera acetic acid (TBE)

أخذ 100 مل من محلول TBE المجهز من شركة Promega وكمل الحجم إلى 1000 مل بالماء المقطر و حفظت في الثلاجة لحين الاستخدام .

اجري التشخيص الجزيئي لبعض الانواع من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة وشملت اليرقات والكاملات و باستخدام تفاعلات البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction و استخلص الحامض النووي الرايبوزي المنقوص الاوكسجين DNA في مختبر الوراثة الجزيئية – قسم علوم الحياة التابع لكلية التربية للعلوم الصرفة خلال فترة الدراسة .

2.4.2- استخلاص الحامض النووي المنقوص الاوكسجين DNA Extraction

عزلت اليرقات والكاملات و احياناً فقط أرجل الكاملات للأنواع وحفظت في التجميد من عينات الحبوب والمواد الغذائية التي جمعت من الاقضية والاسواق المحلية والمركزية وفروع الشركة العامة لتجارة الحبوب .

ثم جففت اليرقات و الكاملات و الارجل المعزولة وسحقت بوساطة هاون خزفي للحصول على مسحوق متجانس قدر الامكان و استخلص الحامض النووي الرايبوزي المنقوص الاوكسجين DNA باستعمال العدة المجهزة من شركة Geneaid (gSYNC^{TM} DNA Extraction Kit) والمدرجة مكوناته في الجدول (3) وبحسب الخطوات المتبعة في بروتوكول الشركة المنتجة لاستخلاص DNA من الانسجة وبالخطوات الآتية :

1- مرحلة تحطيم الانسجة Tissue Dissociation Stage

وضع 0.05 ملغم من العينة المسحوقة لكل نوع في انابيب ابندروف سعة 1.5 مل وأضيف لها 200 مايكروليتر من المحلول الدارئ GST buffer و 20مايكروليتر من انزيم Proteinase K وترج جيداً باستعمال جهاز الرج Vortex ووضعت انابيب الابندروف في الحمام المائي لمدة 3 ساعات . نقل 100 مايكروليتر من Elution Buffer لكل عينة في انابيب ابندروف سعتها 1.5 مل وتركت ايضاً في الحمام المائي بدرجة حرارة 60 م ° لذوبان DNA وتستعمل في الخطوة الاخيرة من عملية الاستخلاص ورجت العينات كل 10ثوان لغرض مزج المواد المضافة في اعلاه مع العينات المسحوقة.

مرحلة تحلل الخلية Cell Lysis Stage

وضعت العينات بعد الإنتهاء من عملية الحضن لمدة 3 ساعات في جهاز الطرد المركزي المبرد لمدة دقيقتين و بسرعة 16000 rpm ونقل الراشح بحرص بعد ذلك إلى انبوبة ابندروف جديدة سعتها 1.5 مل واضيف اليها 200مايكروليتر من محلول الدارئ GSB buffer ورجت بوساطة جهاز الرج بقوة و لمدة 10 ثوان , إذ تعد هذه الخطوة اساسية لمزج GSB buffer مع العينة كلياً .

3- مرحلة الارتباط DNA Binding Stage

أضيف 200 مايكروليتر من كحول الايثانول المطلق Absolute Ethanol إلى العينة ومزج جيداً وبقوة لمدة 10 ثوان بوساطة جهاز الرج و في حال ظهور مادة مترسبة اسفل انابيب Eppendrof تجزأ بوساطة ماصة دقيقة و يوضع عمود الفصل GD Column في انبوبة سعتها (2 مل) ونقل المزيج إلى عمود الفصل ثم وضع في جهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة 16000 rpm لمدة دقيقة واحدة يتم التخلص من انبوبة الجمع و في حالة عدم انسياب المزيج خلال غشاء GD Column membrane يعاد الطرد المركزي مرة أخرى لزيادة الوقت حتى يمر بشكل كامل ، و بعد GD أو عمود الفصل إلى انبوبة جمع جديدة سعة (2 مل) .

4- مرحلة الغسل Wash Stage

أضيف 400 مايكروليتر من محلول الغسل الدارئ الاول W_1 buffer إلى عمود فصل GD Column membrane ووضع في جهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة 16000 rpm لمدة 30 ثانية و يتم التخلص من انبوبة الجمع وينقل عمود الفصل إلى انبوبة جمع جديدة ذات سعة 2 مل واضيف 600 مايكروليتر Wash buffer إلى عمود الفصل ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة 16000 rpm لمدة 30ثانية و يتم التخلص من المحتويات الموجودة في انبوبة الجمع و وضع عمود الفصل في انبوبة جمع سعة 2 مل بعدها وضع في جهاز الطرد المركزي المبرد مرة أخرى بسرعة 16000 rpmو لمدة لا تقل عن 3 دقائق حتى يجف قالب العمود .

5- مرحلة الاستحلاب DNA Elution Stage

ينقل عمود الفصل بعد التجفيف إلى انبوبة سعة 1.5 مل ويضاف لكل انبوبة 100 مايكروليتر من محلول الاستحلاب Elution buffer إلى مركز قالب العمود Column Matrix و يترك ما لا يقل عن 3 دقائق ليمتص Elution buffer بشكل كامل ثم يوضع في جهاز الطرد المركزي المبرد لمدة 30 ثانية بسرعة 16000 rpm لفصل DNA النقي .

جدول (3) عدة استخلاص DNA المجهزة من شركة Geneid مكونة من المواد التالية :

ت	المكونات	الكمية
1	GSB Buffer	40 مل
2	GST Buffer	30 مل
3	W_1 Buffer	45 مل
4	Wash Buffer	25 مل اضيف الية 100 مل كحول الايثانول
5	Proteinase K	11 مايكروليتر اضيف الية 1100 مايكروليتر من ddH_2O
6	Elution Buffer	30 مل
7	2 ml Collection tube	200 قطعة
8	GD Column	100 قطعة

1.2.4.2- الترحيل الكهربائي Electrophoresis لناتج استخلاص الحامض النووي

استخدمت طريقة (Sambrook *et al.*,(1989 للكشف عن وجود DNA وكما يأتي :

أخذ 25 مل من محلول الترحيل الكهربائي TBE ووضع في دورق زجاجي سعة 100 مل واضيف الية 0.25 ملغرام من الاكاروز ليصبح التركيز النهائي 1% . سخن المحلول بشكل تام باستعمال صفيحة ساخنة Hot Plate والتأكد من ذوبان الاكاروز بشكل كامل ، ترك المحلول بعد ذلك يبرد في درجة حرارة الغرفة وقبل التصلب يضاف 0.5 مايكروليتر من صبغة Ethidium Bromide هذه الصبغة سامة ومسرطنة يجب توخي الحذر في التعامل مع هذه الصبغة الشديدة السمية.

حضر القالب الخاص بالترحيل الكهربائي عن طريق وضع المشط في إحدى النهايتين في المكان المخصص للمشط وصب الاكاروز المذاب في القالب ، ثم ترك في وضع مستو للتأكد من توزيع الاكاروز ومحلول الترحيل بشكل متساوي وترك يتصلب في درجة حرارة الغرفة , بعد تصلب المحلول يرفع المشط ويوضع في حوض الترحيل واضيف للحوض محلول الترحيل TBE إلى ان يغطي الاكاروز بشكل كامل .

اضيف 3 مايكروليتر من صبغة التحميل Bromophenol Blue إلى 7 مايكروليتر من DNA ومزجت على ورق Parafilm وتملأ حفر الاكاروز بهذا المزيج . بعد ذلك اوصلت الاقطاب السالبة والموجبة للجهاز في القالب وضبطت الفولتية على 75 فولتاً وشغل جهاز الترحيل الكهربائي وملاحظة حركة صبغة التحميل من القطب السالب إلى القطب الموجب ونقل الاكاروز بعد انتهاء عملية الترحيل

والذي يستغرق عادة 15 دقيقة واستعملت الاشعة الفوق البنفسجية Ultra violet (UV) للتأكد من وجود حزم DNA .

2.2.4.2 - قياس تركيز الحامض النووي الرايبوزي المنقوص الاوكسجين

قيست تراكيز DNA لخمسة انواع من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة وهما *Callsobruchus maculatus* و *Tribolium castaneum* و *Trogoderma granarium* و *Oryzaephilus mercator* و *Rhyzopertha dominica* ونوع واحد من المتطفلات هو *Anisopetromalus calandare* بجهاز Nanodrop التابع لكلية الزراعة – جامعة البصرة بمقياس نانوغرام / مايكرولتر.

3.4.2- البادئات Primers

اجريت تفاعلات البلمرة المتسلسل PCR للانواع التي شخصت مظهرياً باستعمال بادئ عام خاص باللافقريات والمدرجة تتابعاته في الجدول (4) لتأكيد التشخيص المظهري وللحصول على جين المايتو كوندريا mitochondria Cytochrome Oxidase subunit I (mt COXI) في الدراسة الحالية (Folmer *et al.*,1994) و جهز هذا البادئ من شركة macrogen على شكل منتج مجفد بتراكيز مختلفة (picomols: $mole/10^{-12}$) واستعمال الماء المقطر منزوع الايونات (Dnase / Rnase free distilled water) كمذيب للبادئ وذلك باضافة 250 مايكروليتر من الماء إلى البادئ و بحسب بروتوكول الشركة المجهزة للبادئ ليكون التركيز النهائي يعادل (100 pmol/µL) كمحلول خزن ، يحضر منه 100µl عن طريق اخذ 10 µL من البادئ واضافة 90 µL من الماء المنزوع الايونات لإجراء التحليلات وأجريت عدة محاولات للوصول إلى أفضل درجة حرارة لإلتصاق البادئ وتثبت الدرجة الحرارة المثلى ،التي اعطت افضل ناتج في تفاعلات البلمرة المتسلسل (PCR) .

جدول (4) تتابع البادئ العام الخاص باللافقريات في الدراسة الحالية التي تم اخذه من Folmer *et al.*, (1994)

اسم الجين	تتابع القواعد النايتروجينية في البادئ	طول البرايمر	درجة الحرارة المثلى للالتصاق
LCO1490	5-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3	25	49
HCO2198	5-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3	26	49

4.4.2- برنامج تفاعل البلمرة المتسلسل (Polymerase Chain Reaction)

استخدم في تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) ماستر ميكس Master Mix المجهز من شركة Bioneer وتمت اضافة 5µL من DNA و 2µL من Forward Primer و 2µL من Reverse Primer إلى انبوبة Master Mix وتمت تكملة الحجم المتبقي 11µL من Nuclease Free Water ليصبح الحجم النهائي لمكونات الانبوبة 20µl . مزجت انابيب Master Mix باستعمال جهاز الرج ووضعت بعد ذلك في جهاز البلمرة الحراريThermocycler وضبط البرنامج في الجهاز المذكور كما هو في الجدولين (5) و (6) .

جدول (5) برنامج عمل جهاز البلمرة لتضخيم البادئ العام للافقريات .

الخطوات	درجة الحرارة	الوقت	عدد الدورات
Initial denaturation	**95**	**5min**	**1**
Denaturation	**95**	**1min**	**1**
Annealing	**49**	**1min**	**30**
Extension	**72**	**1min**	**1**
Final Extension	**04.0**	**2min**	**1**

جدول (6) برنامج عمل جهاز البلمرة لتضخيم البادئ العام للافقريات للنوع *R.dominica*.

الخطوات	درجة الحرارة	الوقت	عدد الدورات
Initial denaturation	**95**	**5min**	**1**
Denaturation	**95**	**1min**	**1**
Annealing	**48**	**1min**	**30**
Extension	**72**	**1min**	**1**
Final Extension	**04.0**	**2min**	**1**

واجريت بذلك عملية الترحيل الكهربائي للناتج و بعد اكتمال عملية التضخيم .

1.4.4.2- الترحيل الكهربائي لناتج التضخيم Electrophoresis Of PCR

اجريت عملية الترحيل الكهربائي لناتج PCR بعد اكمال الجهاز لعملية التضخيم بحسب خطوات التحضير السابقة في حال الترحيل الكهربائي لناتج استخلاص DNA يستثنى من الترحيل السابق وزن الاكاروز يكون 0.5 ملغم ليكون التركيز النهائي 2% .في الحـــفرة الاولى اضيف 5µL من DNA Ladder (100-1500bp) واضيف ناتج PCR لكل عينة في الحفر الاخرى و ضبطت الفولتية على 75 فولت و الامبيرية 120 ولمدة 45 دقيقة و بعد انتهاء من عملية الترحيل الكهربائي نقل قالب الاكاروز إلى الاشعة فوق البنفسجية لفحص حزم الناتج من تفاعلات البلمرة المتسلسل وفي حال ظهور الحزم صورت بوساطة كاميرا هاتف نوع Galaxy Note 10 Plus.

5.4.2- تحليل تتابع النيكلوتيدات Sequences

ارسلت إلى شركة Biotechnology Yang Ling (China) 15 مايكروليتر من ناتج PCR لكل عينة من عينات الدراسة لإجراء تحليل لجين Cytochrome Oxidase (mtCoxI) والموجود في تتابع DNA باستعمال جهاز Genetic squner analyzer وسجلت قطع التتابعات الخاصة بالأنواع التي تم دراستها جزيئياً .

6.4.2 – التشخيص الوراثي

بعد ان قطعت قطع تتابعات DNA الخاصة بالجين mtCOXI لكل نوع التي تم دراستها وأصبحت اقل حجماً حللت النتائج تطبيقياً وعمل محاذاة وتصفية للقطع باستعمال برنامج Genetic Analysis Version11 (Tamura *et al.*,2021) https://doi.org/10.1093/molbev/msab120 ، اجري تتابع المصفوفات لتشخيص الانواع بتطبيق برنامج Blast وقورنت الانواع التي تم دراستها مع الانواع المطابقة لها في انحاء العالم وفي مناطق جغرافية اخرى و رسمت الشجرة التطورية وحسبت المسافة الوراثية بينها .

7.4.2- حفظ نواتج التسلسل الجزيئي في بنك الجينات

بعد التشخيص الوراثي للأنواع الخمسة من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة ومتطفل واحد وثقت النواتج لجين mtCOI من محافظة ميسان في قاعدة بيانات الجينات الياباني DNA Data Bank of Japan (DDJB) وتم الحصول على الرقم التسلسليAccession Number لكل قطعة من DNA للأنواع الخمسة من الآفات والمتطفل الواحد كما دونت جميع المعلومات المتعلقة بالجين المدروس واسم

النوع فضلاً عن الموقع الجغرافي ومقارنة التتابع الجيني للأنواع الموجودة والمسجلة في بنك الجينات مع الانواع المدروسة وحددت نسبة التطابق مع الانواع المسجلة في اجزاء مختلفة من العالم .

5.2 - استخدام التشخيص الجزيئي في الكشف المبكر عن الاصابات داخل الحبوب

1.5.2- استخلاص الحامض النووي DNA

كانت المواد المستعملة في التشخيص الجزيئي المبكر للإصابة مشابه لتلك المواد المستعملة في التشخيص الجزيئي لتأكيد التشخيص المظهري .

استعملت تقنية Multiplex- PCR في الكشف المبكر عن ستة أنواع تصيب الحبوب المخزونة إذ كانت الاكثر كثافة و هي *Rhyzopertha dominica* و *Oryzaephilus mercator* و *Callsobruchus maculatus* و *Trogoderma granarium* و *Tribulium castenum* و *Latheticus oryzae* إذ جلبت للمختبر بعد تشخيصها مظهريا وجزيئياً عن طريق قراءات السكونس و سحقت في التجربة الأولى الحنطة الحاوية على ثلاثة أنواع وهي *R. dominica* و*T.castenum* و*O.mercator* بهاون خزفي بعد عمل مزارع دائمية لها و لاستخلاص الحامض النووي DNA وفي التجربة الثانية سحق الماش الحاوية على النوعين *T.granarium* و *C.maculatus* في حين في التجربة الثالثة سحقت الفاصوليا الحمراء الحاوية على النوعان *T.granarium* و *L.oryzae* للحصول على مساحيق متجانسة قدر الامكان وفي ثلاث تجارب منفصلة واتباع الخطوات المذكورة في العدة المجهزة من قبل شركة Geneaid والخاص بالنسيج (gSYNC^{TM} DNA Extraction) و بحسب بروتوكول الشركة المنتجة وبحسب الخطوات الآتية:

1- وزن حجم 0.025 ملغم من العينة المسحوقة لكل تجربة ووضع في انبوبة ابندروف سعة 1.5 مل ووضعت في الحمام المائي لمدة نصف ساعة و بدرجة حرارة 60º م بدون اضافة إي محلول و بعد الإنتهاء من عملية الحضن لمدة نصف ساعة أضيف 200 مايكروليتر من محلول GST buffer و 20 مايكروليتر من Proteinase K ورجت الانبوبة بقوة باستعمال جهاز رج Vortex او باليد بقوة لضمان مزج المسحوق مع المحلول الدارئ وانزيم الهضم ووضعت قناني ابندروف في الحمام المائي لمدة 3 ساعات مع رج الانبوبة الابندروف كل 15 دقيقة . ونقلت 100مايكروليتر من Elution Buffer لكل عينة في انبوبة ابندروف سعة 1.5 مل وتركت في الحمام المائي في درجة حرارة 60 º م لاستخدامه في الخطوة الاخيرة من عملية الاستخلاص .

2- وضعت العينات بعد انتهاء عملية الحضن والتي بلغت 3 ساعات في جهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة 16000rpm لمدة دقيقتين ، ونقل الراشح بحذر إلى انبوبة ابندروف سعة 1.5 مل بوساطة ماصة دقيقة لضمان عدم خلط الراشح مع الراسب إذ تعد هذه الخطوة مهمة جداً وأضيف إلى انبوبة ابندروف الجديدة ذات السعة 1.5 مل الحاوية على الراشح محلول الدارئ GSB buffer بمقدار 200 مايكروليتر ورجت بقوة بوساطة جهاز الرج Vortex او باليد لمدة 10ثوان و تعد خطوة الرج الاخيرة اساسية لضمان مزج GSB مع العينة بشكل كامل .

3- أضيف 200 مايكروليتر من كحول الايثانول المطلق Absolute Ethanol إلى العينة الموجودة في الابندروف ومزج لمدة 10 ثوان باليد او بجهاز الرج والرج بقوة لعدم ترسيب المادة في اسفل قنينة الابندروف و حال ظهور المادة المترسبة تسحب بواسطة ماصة دقيقة و وضع عمود الفصل GD Column في انبوبة سعتها 2 مل وفرغ المزيج إلى عمود الفصل و يوضع في جهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة 16000rpm لمدة دقيقة واحدة و فرغت انبوبة الجمع ونقل عمود الفصل إل انبوبة جمع سعة 2 مل جديدة .

4- أضيف مقدار400 مايكروليتر من محلول الغسل الدارئ W_1 buffer إلى عمود الفصل GD Column ووضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 16000rpm لمدة 30 ثانية و يتم التخلص من انبوبة الجمع ونقل عمود الفصل إلى انبوبة جمع جديدة سعة 2 مل وأضيف لها 600 مايكروليتر من Wash buffer إلى عمود الفصل وطردت مركزيا في جهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة 16000rpm لمدة 30 ثانية وفرغت المحتويات الموجودة في اسفل انبوبة الجمع و وضع عمود الفصل في انبوبة جمع جديدة سعة 2 مل وتطرد مركزيا مرة أخرى بدون اي اضافة لغرض تجفيف عمود الفصل وبواقع 3-5 دقائق بسرعة 16000rpm و التخلص من المواد العالقة في قالب العمود .

5- نقل عمود الفصل بعد آخر خطوة إلى انبوبة ابندروف سعتها 1.5 مل وأضيف لكل انبوبة 100 مايكروليتر من Elution buffer إلى قالب العمود بعد تسخينه لمدة 3 ساعات في الحمام المائي وترك في قالب العمود لمدة مابين 3-5 دقائق حتى يمتص بشكل كامل بعد ذلك وضع في جهاز الطرد المركزي المبرد لمدة 30 ثانية بسرعة 16000 rpm لعزل DNA النقي ويتم التخلص من عمود الفصل والمترسب في قعر انبوبة ابندروف استخدم في تفاعلات البلمرة المتسلسل .

1.1.5.2 – قياس تركيز الحامض النووي DNA

قيس تركيز DNA لثلاثة عينات ، إذ تم مزج أكثر من نوع في العينة الواحدة و قد شملت العينة الاولى DNA المستخلص من ثلاثة انواع *T.castenum* و *O.mercator* و *R.dominica* و العينة

الثانية شملت DNA نوعين *T.granarium* و *C.maculatus* أما العينة الثالثة فهي DNA لنوعين هما *T.granarium* و *L.oryzae* بجهاز Nanodrop في مختبركلية الزراعة – جامعة البصرة بمقياس نانوغرام /مايكرولتر .

2.1.5.2-الترحيل الكهربائي لناتج استخلاص الحامض النووي Electrophoresis of DNA Extraction

اجريت طريقة (Sambrook *et al.*,(1989 لمعرفة وجود DNA وكما يلي :

أضيف 25 مل من TBE وهو محلول الترحيل الكهربائي إلى 0.25 ملغرام من الاكاروز في دورق زجاجي وسخنت بشكل كامل باستخدام Hot Plate ليصبح التركيز النهائي 1% وبُرّد المحلول في درجة حرارة الغرفة ، وقبل ان يتصلب أضيف له 0.5µL من صبغة Ethidium Bromide . حضر قالب الترحيل وذلك بوضع المشط في احد الجوانب المخصصة في القالب ، وسُكب المحلول وترك المحلول على السطح للتأكد من ان الاكاروز متوزع بشكل متساو في اماكن القالب المختلفة ، وترك يتصلب في درجة حرارة الغرفة . رفع المشط بعد تصلب المحلول ووضع في حوض الترحيل وأضيف للحوض محلول TBE إلى ان يغمر جل الاكاروز بشكل كامل . و على ورق Parafilm وضع 3 مايكروليتر لكل عينة من صبغة Bromophenol Blue وأضيف لهذه الصبغة 7 مايكروليتر من DNA ومزجت بوساطة ماصة ومليت الحفر بالمزيج ، وصلت الاقطاب وشغل جهاز الترحيل على فولتية 75 ومراقبة حركة الصبغة من جهة DNA السالب إلى الجهة الموجبة وبعد الانتهاء من وقت الترحيل والبالغ 15-20 دقيقة يفحص جل الاكاروز بوساطة الاشعة الفوق البنفسجية Ultraviolet للتأكد من وجود حزم DNA وقيس تركيز DNA المستخلص بوساطة جهاز Nanodrop في مختبر كلية الزراعة – جامعة البصرة.

2.5.2 - البادئات Primers

اجريت تفاعلات البلمرة المتسلسل Multiplex-PCR باستخدام بادئات خاصة بكل نوع للكشف المبكر عن الآفات الست التي تصيب الحبوب المخزونة ،و جهزت هذه البادئات من شركةmacrogen على شكل منتج مجفف بتراكيز (Picomols= $mole/10^{-12}$) واستعمل ماء المقطر منزوع الايونات Dnase/ Rnase free distilled water كمذيب لهذه البوادئ وذلك باضافة 250 مايكروليترمن هذا الماء إلى البادئ ليكون تركيز البوادئ النهائية (100 Pmol/µL) والذي يكون محلولاً نهائياً يحفظ كمحلول خزن ، حضر من هذا المحلول 100µL عن طريق اخذ 10 مايكروليتر من البادئ واخذ من محلول الخزن ووضع في انبوبة ابندروف وأضيف لها 90 µL من الماء المذكور سابقاً لاجراء التحليلات وأجريت عدد من المحاولات المختلفة لمعرفة افضل درجة حرارة لارتباط البوادئ ، والتي اعطت افضل

ناتج في Multiplex- PCR ، لأنّ في هذه التجربة يتم استعمال اكثر من بادئ وبحسب عدد الانواع التي استخلص لهما DNA في التجربة جدول (7).

جدول (7) تتابعات البادئات الخاصة بالانواع الستة التي تم استعمالها في الدراسة الحالية

اسم النوع	اسم الجين	تتابع القواعد النايتروجينية في البادئ	طول البرايمر	حجم الجين المنتج	درجة الحرارة المثلى للالتصاق
T.castenum	COXIF	CCACTCTTCACGGCACTCAA	20	535bp	51
	COXIR	TGTTCAGCAGGAGGAAGTCT	20		
O.mercator	Uniminibar F	TCYACTAATCATAAAGATATTGGYAC	26	200bp	51
	Uniminibar R	AAAATTATAATAAARGCRTGRGC	23		
C.maculatus	ZBJ-ArtFIc	AGATATTGGAACWTTATATTTTATTTTTGG	30	210bp	54
	ZBJ-ArtR2c	WACTAATCAATTWCCAAATCCTCC	24		
T.granarium	T-gra-1F	TAGACACACGGGCCTACTTC	20	190bp	54
	T-gra-1R	CCTGTTAGTCCTCCTAGGGTG	21		
L.oryzae	ZBJ-ArtFIc	AGATATTGGAACWTTATATTTTATTTTTGG	30	210 bp	54
	ZBJ-ArtR2c	WACTAATCAATTWCCAAATCCTCC	24		
R.dominica	RDF	GCTTCTTCCACCCTCCTTAACC		286bp	51
	RDR	AGATAATAATAAAAGCAAAGC			

3.5.2 - برنامج تفاعل البلمرة المتسلسل Multiplex- Polymerase Chain Reaction(Multiplex-PCR)

استعمل في هذا التفاعل Multiplex-PCR ماستر ميكس المجهز من شركة بايونير Bioneer و أضيف 5µL من DNA الذي استخلص للانواع الثلاثة *Rhyzopertha dominica* و *Tribolium castaneum* و *Oryzaephilus mercator* مع الدقيق و 2µL من Forward Primer و 2µL من Reverse Primer وبهذا يكون مجموع البادئات المضافة والذي تكون خاصة بكل نوع 12µL و أكمل الحجم إلى 20µL باضافة 3µL من Free Water و كما استخلص DNA بشكل مفرد لكل نوع بحسب طريقة الاستخلاص المذكورة في اعلاه و يضاف لانبوبة ماستر ميكس 5µL من DNA المستخلص من كل من *Rhyzopertha dominica* و *Tribolium castaneum* و *Oryzaephilus mercator* على حده و 2µL من Forward Primer و 2µLمن Reverse Primer الخاص بكل نوع بشكل مفرد و اكمل الحجم باضافة 11 µL من Free Water قبل وضع

العينات في جهاز البلمرة الحراري thermocycler رجت انبوبة الماستر ميكس باليد بقوة أو بجهاز الرج Vortex واستخدام البرنامج التالي في الجهاز المذكور اعلاه كما في الجدول (8) .

جدول (8) برنامج عمل جهاز البلمرة لتضخيم البادئات للأنواع *Tribolium , R.dominica O.mercator, castaneum*

الخطوات	درجة حرارة	الوقت	عدد الدورات
Initial denaturation	**94°م**	**3 min**	**1**
Denaturation	**94°م**	**1min**	**1**
Annealing	**51**	**1min**	**30**
Extension	**72**	**1min**	**1**
Final Extension	**72**	**7min**	1

هذا بالنسبة للتجربة الاولى أما في التجربة الثانية فقد أضيف 5µL من DNA المستخلص من النوعين *Trogoderma granarium* و *Callsobruchus maculatus* مع الدقيق معاً في انبوبة ماستر ميكس واحدة وأضيف لهذه الانبوبة 8µL من البادئات الخاصة بكل نوع وأكمل الحجم إلى 20µL بإضافة 7µL من Free Water كما أستخلص DNA من كل من *Trogoderma granarium* و *Callsobruchus maculatus* ورجت انبوبة الماستر ميكس جيداً بقوة باليد او باستعمال جهاز الرج Vortexو قبل وضع العينات في جهاز البلمرة الحراري thermocycler رجت انبوبة الماستر ميكس باليد بقوة أو بجهاز الرج واستخدام البرنامج التالي في الجهاز المذكور اعلاه كما في الجدول (9) .

جدول (9) برنامج عمل جهاز البلمرة لتضخيم البادئات *Callsobruchus maculatus Trogoderma granarium*

الخطوات	درجة حرارة	الوقت	عدد الدورات
Initial denaturation	**94°م**	**3 min**	**1**
Denaturation	**94°م**	**1min**	**1**
Annealing	**54**	**1min**	**30**
Extension	**72**	**1min**	**1**
Final Extension	**72**	**7min**	1

أما في التجربة الثالثة فضيف 5µL من DNA المستخلص من كل من النوعين *Trogoderma granarium* و *latheticus oryzae* مع الدقيق معاً في انبوبة ماستر ميكس واحدة ويضاف لهذه الانبوبة 8µL من البادئات الخاصة بكل نوع ويكمل الحجم إلى 20µL باضافة 7µL من Free Water كما استخلص DNA من كل من النوعين *Trogoderma granarium* و *Latheticus oryzae* ورجت انبوبة الماستر ميكس جيداً بقوة باليد او باستعمال جهاز Vortex و قبل ان وضع العينات في جهاز البلمرة الحراري thermocycler رجت انبوبة الماستر ميكس باليد بقوة أو بجهاز Vortex واستخدام البرنامج التالي في الجهاز المذكور اعلاه كما في الجدول (10) .

جدول (10) برنامج عمل جهاز البلمرة لتضخيم البادئات *Trogoderma granarium* *Latheticus oryzae*

الخطوات	درجة حرارة	الوقت	عدد الدورات
Initial denaturation	**94°م**	**3 min**	**1**
Denaturation	**94°م**	**1min**	**1**
Annealing	**54**	**1min**	**30**
Extension	**72**	**1min**	**1**
Final Extension	**72**	**7min**	1

و أجري الترحيل الكهربائي بعد الإنتهاء من عملية التضخيم للتأكد من وجود الحزم.

1.3.5.2الترحيل الكهربائي لناتج التضخيم - Electerophoresis of Multiplex PCR

تكون عملية الترحيل الكهربائي لناتج Multiplex-PCR مشابه للترحيل الكهربائي لناتج استخلاص DNA ماعدا وزن الاكاروز الذي يكون 0.5 ملغرام وذوب في 25 مل من محلول TBE فيكون الحجم النهائي 2% و بعد ازالة المشط أضيف 5µL من DNA Ladder (100-1500 bp) في الحفرة الاولى كعينة قياسية في حين أضيف ناتج Multiplex-PCR في الحفرة الثانية والحفرة الثالثة والرابعة والخامسة و اضيف ناتج PCR العادي لكل نوع استعمل فيها البادئ الخاص بالنوع و بدرجة ارتباط نفسها مع تفاعل البلمرة المتسلسل المتعدد الحزم Multiplex-PCR و ضبطت الفولتية على 75والامبيرية على 120 ولمدة 45 دقيقة ونقل هلام الاكاروز بعد ذلك إلى جهاز UV الاشعة فوق

البنفسجية لفحص الحزم الظاهرة والناتجة من تفاعلات البلمرة المتسلسل وصورت النتائج بوساطة كاميرا هاتف نوع Galaxy Note 10.

الفصل الثالث

النتائج

3 - النتائج

1.3- الدراسة التشخيصية المظهرية للكاملات

اولاً: الكاملات Adult

أظهرت نتائج الدراسة التشخيصية المظهرية ، تشخيص ثمانية أنواع من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة والتابعة لرتبة غمدية الاجنحة ونوع واحد متطفل تابع لرتبة غشائية الاجنحة كدراسة لأول مرة في محافظة ميسان . تعود الانواع التابعة لرتبة غمدية الاجنحة إلى سبع عوائل وثمانية أجناس وهي :

Kingdom: Animalia

Phylum: Arthropoda

Class: Insecta

Sub Class: Petrogota

Division: Endopetrogota

Order: Coleoptera Linnaeus,1758

Sub order :Polyphaga Emery, 1886

Family: Tenebrionidae,Latreille,1802

Subfamily :Tenebrioninae ,Latreille

Genus:*Tribolium* Macleay,1825

1- *Tribolium castaneum* Herbst,1797

Genus:*Latheticus* Waterhouse,1880

2- *Latheticus oryzae* Waterhouse,18

Family:Silvanidae Kirby,1837

Subfamily:silvaninae Kirby,1837

Genus: *Oryzaephilus* Ganglbauer,1899

3- *Oryzaephilus mercator* Fauvel,1889

Family: Dermestidae Latreille,1804

Subfamily:Megatominae Leach,1815

Genus: *Trogoderma* Dejean,1821

4- *Trogoderma granarium* Everts,1898

Family:Bostrichidae Latereille,1802

Sub family:Dinoderinae C.G. Thomson,1863

Genus: *Rhyzopertha* Stephens,1830

5- *Rhyzopertha dominica* Fabricus,1792

Family: chrysomelidae

Subfamily:Bruchinae Latreille,1802

Genus:*Callsobruchus* Pic,1902

6- *Callsobruchus maculatus* Fabricius,1775

Family:Laemophloeidae

Genus: *Cryptolestes* Ganglbauer, 1899

7- *Cryptolestes ferrugineus* Stephanus ,1831

Family:Curculionidae

Subfamily:Dryophthorinae Schonher,1825

Genus:*Sitophilus* Schoenherr,1838

8- *Sitophilus oryzae* L.1763

في حين النوع المتطفل الذي يعود إلى رتبة غشائية الاجنحة المتطفل الوحيد في دراستنا الحالية وحسب التصنيف الآتي :

Order:Hymenoptera

Family:Petromalidae

Sub family:Pteromalinae

Genus :*Anisopetromalus*

1- *Anisopetromalus calandrae* (Howard,1881)

ثانياً :اليرقات Larvae

شملت الدراسة التشخيصية ايضاً يرقات النوعين وهي :

1-*Tribolium castenum* Herbst,1797

2-*Trogoderma granarium* Evert,1898

وفيما يلي الوصف المظهري للأنواع المشخصة في الدراسة الحالية والذي سجلت جميعها لأول مرة في محافظة ميسان:

الوصف المظهري للكاملات

1.1.3 – خنفساء الدقيق الصدئية الحمراء (Herbst ,1797) *Tribolium castaneum*

***Colydium castaneum* Herbst, 1787**.
***Margus castaneus* Dejean, 1833.**
***Phaleria castanca* Gyllenhal, 1810.**
***Stene ferruginea* Westwood, 1839.**
***Tenebrio castaneus* Schönherr, 1806.**
***Tribolium ferrugineum* , Wollaston, 1854.**
***Tribolium navale* (Fabricius, 1775)**
***Uloma ferruginea* Dejean, 1821.**

الشكل العام للجسم : اسطواني متطاول و لونه بني فاتح إلى بني محمرو في بعض الاحيان بني غامق مائل إلى الاسود في المراحل الاخيرة من الدور الكامل ،مسطح من الجهة البطنية وقليل التحدب من الجهة الظهرية ، طول الجسم 3.5-4 ملم والعرض من 1-1.5 ملم (صورة 8 و 9) .

الراس: صغير الحجم مقارنة مع باقي أجزاء الجسم ، حافة الراس منحنية ، بني محمر إلى بني غامق ، شبه مربع شبيه الصندوق طوله 0.5 ملم وعرضه 0.5 ملم له نقر صغيرة موزعة بشكل غير منتظم منتشرة على سطحه وبمسافات واضحة **العيون المركبة Compound eyes :** لونهما أسود غامق ، صغيرتان و كلوية الشكل ، ذات انبعاج كبير وواضح و المسافة الفاصلة بينهما من الناحية الظهرية تساوي قطر العين المركبة . (اللوحة 1).

قرون الاستشعار : يتكون من 11 عقلة ، أطول من طول الرأس ، الاصل Scape شبه بيضوي متطاول ،الحامل Pedicel اقل طولا واصغر حجما من الاصل ،العقل الثلاث الطرفية تبدو كأنها تضخمت فجأة ، العقلة الاخيرة دائرية ، للعقل الثلاث الطرفية شعيرات دقيقة وناعمة ، العقل الستة الوسطية تبدو كأنها شبه مربعة (اللوحة 2).

الصدر: بني فاتح إلى بني غامق ، الحافة الامامية للحلقة الصدرية الاولى عريضة من المنتصف و شبه مستديرة والحلقة الاولى Pronotum أكبر من الحلقتين الثانية والثالثة و محدبة و من الجانب الظهري أكثر عرضاً من عرض الرأس ،الحافة الامامية متوازية الجوانب والحواف الجانبية تبدو كأنها مقوسة للداخل ، هناك نقر غير منتظمة صغيرة ذات مسافات واضحة تغطي السطح الامامي (اللوحة 3) ، الدريع نصف كروي صغير الحجم من الجانب الظهري و من الجانب البطني له فتحتان شبه مثلثة قرب الحافة الخلفية للحلقة الصدرية الاولى يمثل مكان اتصال حراقف الارجل الامامية، حراقف الارجل الوسطى تقع على الحافة الخلفية للحلقة الصدرية الثانية وحراقف الارجل الخلفية تنغمس داخل الصفيحة

القصية للحلقة البطنية الثالثة ولا تقسمها ، للحلقة الصدرية الثالثة خط يمتد من الخلف بين تجاويف الحراقف الخلفية وحتى المنتصف ولا يصل إلى الامام هو الاخدود الوسطي (اللوحة 4).

لواحق الصدر

الاجنحة الامامية Elytron : غمدية قوية بنية فاتحة إلى غامقة، تتقابل في خط مستقيم في منتصف الخط الظهري ويغطيان الجناحين الخلفيين، نهايتها الامامية مستطيلة و النهاية الخلفية مستدقة ،لها تسعة خطوط طولية مغطاة للسطح ولكن بعضها لا تصل إلى احد النهايتين . (اللوحة 5).

الاجنحة الخلفية : غشائيان و أكبر من الجناحين الاماميين و يطويان تحت الاجنحة الامامية اثناء الراحة ، قليلة العروق ولها بقعتان احداها قرب الحافة الخارجية وأخرى أسفل العرق الكعبري ، العرق الضلعي يمتد بمحاذاة الحافة الامامية من المقدمة ، العرق تحت الضلعي يكون مع العرق الكعبري عرق عريض وذا لون بني اغمق من بقية عروق الجناح ويكون بشكل تركيب يشبه العصا ذات نهاية مثلثة الشكل ، العرق الوسطي قصير في منتصف الجناح يكون مع العرق الزندي شكل حرف Y و ساق حرف Y هو العرق المستعرض الزندي – الوسطي ، العرق الخلفي بأفرعه الثلاثة موجود في الحافة الداخلية للجناح ، العرقان الخلفيان الثاني والثالث يكوّنان مع بعضهما الشكل البيضوي و هناك عرق مستعرض هو العرق الكعبري – الوسطي يمتد من طرف العرق الوسطي (اللوحة 6).

الارجل الامامية: طولها 1 ملم ، الحراقف Coxa بيضوية ، المدورTrochanter مثلث صغير الحجم داكن اللون ، الفخذ Femur عريض ،الساق مثلثة و أطول من الفخذ وذو مهمازين Spurs قصيرين في إحدى طرفيه ، الرسغTarsus خمس عقل ، الاربعة الامامية صغيرة متساوية في الطول تقريبا وذات شعيرات دقيقة والعقلة الاخيرة متطاولة مثلثة تنتهي بزوج من المخالب Claws المقوسة (اللوحة 7) ، الحافة الخارجية لفخذ الارجل الخلفية للذكور حزمة من الشعيرات الصغيرة و الدقيقة (اللوحة 8) .

الارجل الوسطى : تشبه الارجل الامامية في الطول وشكل باقي الاجزاء ماعدا الحراقف تبدو بيضوية متطاولة بشكل كامل وعقلة الرسغ الثالثة أطول من العقلة الثانية والاولى (اللوحة 9) .

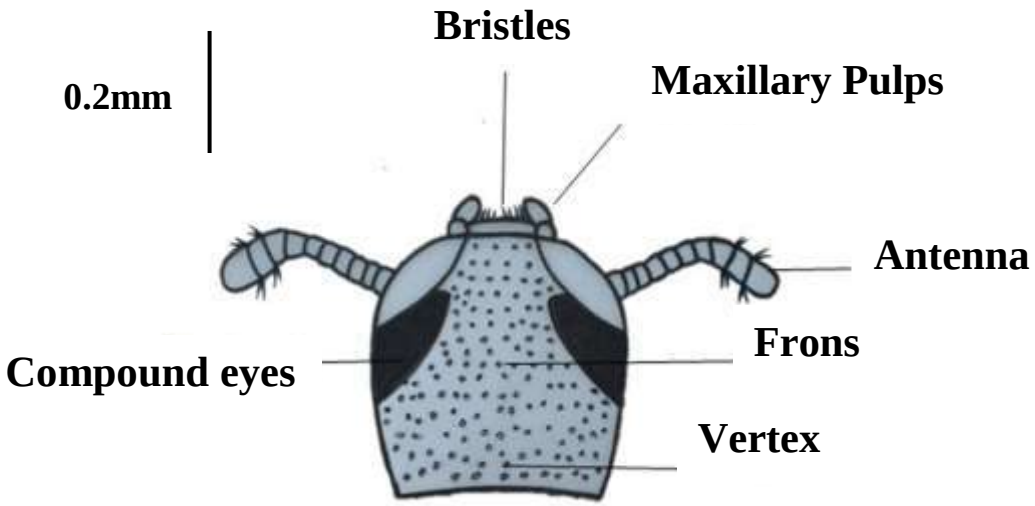
الارجل الخلفية: أطول واقل عرضاً من حراقف الارجل الامامية والوسطى ، وحراقفها تنغرس في الصفيحة البطنية الثالثة وهي بيضوية متطاولة ، المدور بني غامق مثلث في الاناث و تستند إلية الحرقفة ، الفخذ اطول من فخذي الارجل الامامية والوسطى ونهايته القريبة من الساق داكنة في الاناث ، الساق متطاول ولحافته الداخلية مهمازان ، الرسغ أربع عقل و الاخيرة متطاولة وتنتهي بزوج من المخالب (اللوحة 10) أجزاء الارجل الخلفية في الذكور أطول من الاناث (اللوحة 11).

البطن : بنية فاتحة إلى بنية غامقة ، خمس عقل ، مستطيلة الشكل ،العقل الاربع الاولى ذوات حافات امامية وخلفية مستعرضة في حين العقلة الخامسة ذات قمة مستديرة ، هناك اندماج للصفائح البطنية القصية الأولى والثانية في مكان انغراس حراقف الارجل الخلفية بشكل طيات تتدرج الصفائح البطنية القصية في الحجم إذ تتساوى الثالثة و الرابعة في الحجم و الخامسة اصغر منهما والسادسة أصغر من الخامسة والسابعة هي أصغر الصفائح (اللوحة 12 و13) .

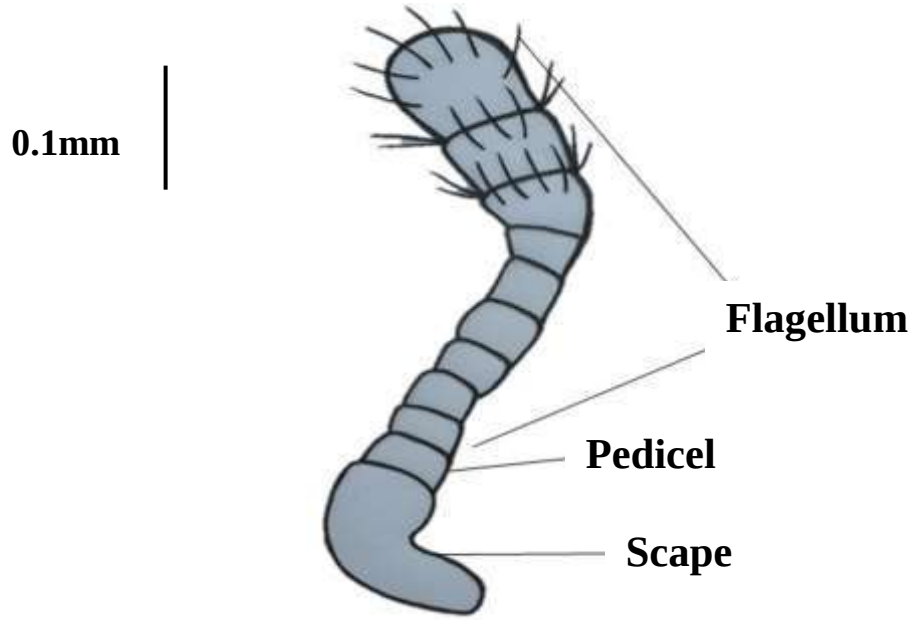
العينات المشخصة : عدد العينات المعزولة 430 حشرة ، 230 ذكر و 200 من الاناث عزلت من حبوب الحنطة والدكة والسحالة والحنطة الاسترالية الذي جلبت من الشركة العامة لتجارة الحبوب و الرز الهندي و الامريكي والسمسم و دقيق الرز و الدقيق المحلي الذي جلب من الاسواق المحلية والمركزية .جمعت من الاسواق والمنازل و الشركة العامة للمدة من 18/ 1/ 2021 إلى 2021/12/30.

صورة (8) المظهر الظهري لانثى النوع ***Tribolium castaneum***

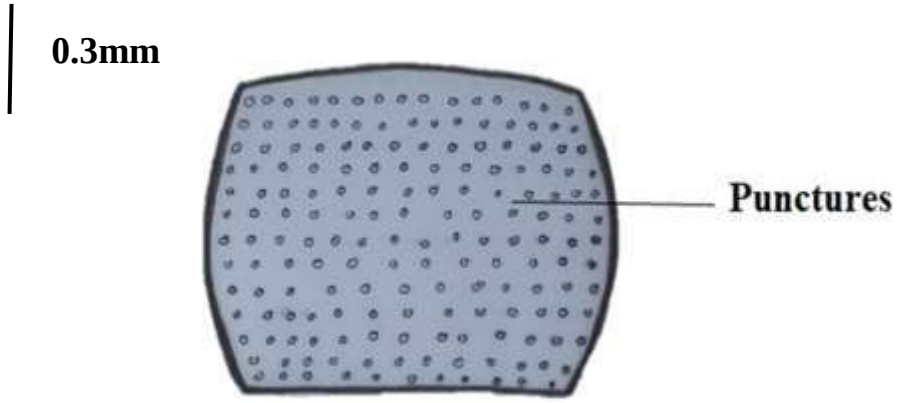
صورة (9) المظهر البطني لأنثى النوع ***Tribolium castaneum***



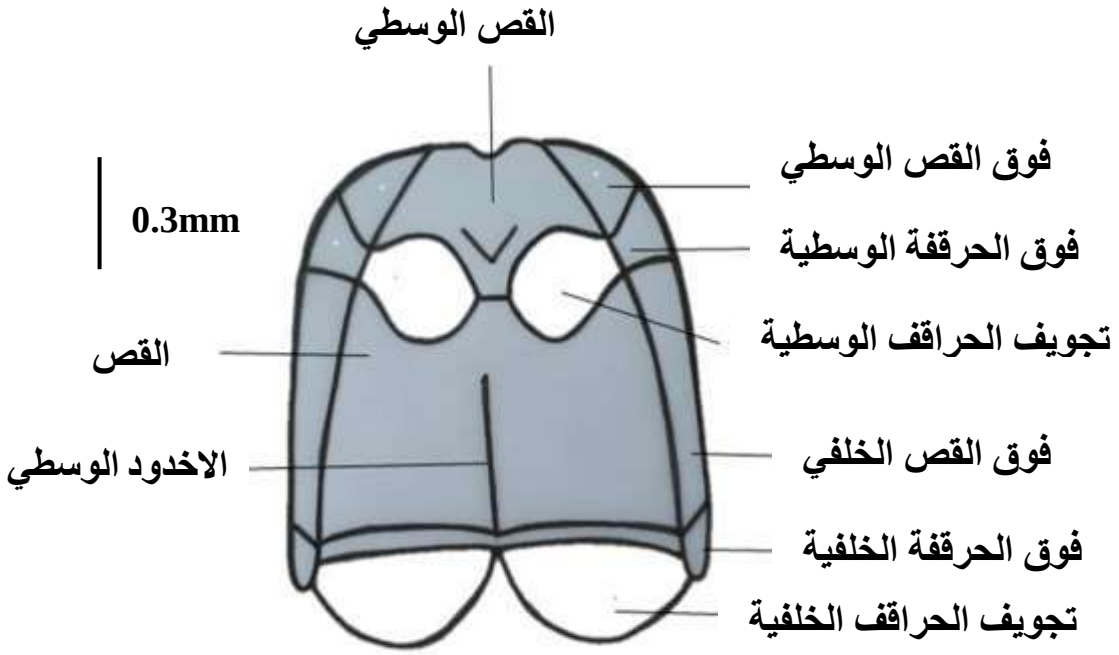
اللوحة (1) الراس واجزؤه لأنثى النوع *Tribolium castaneum*



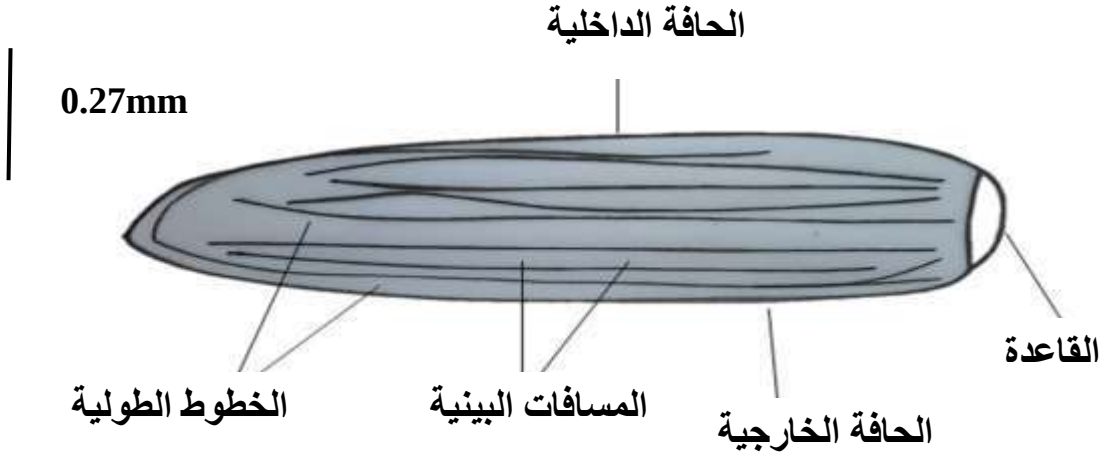
اللوحة (2) قرن الاستشعار لأنثى النوع *Tribolium castaneum*



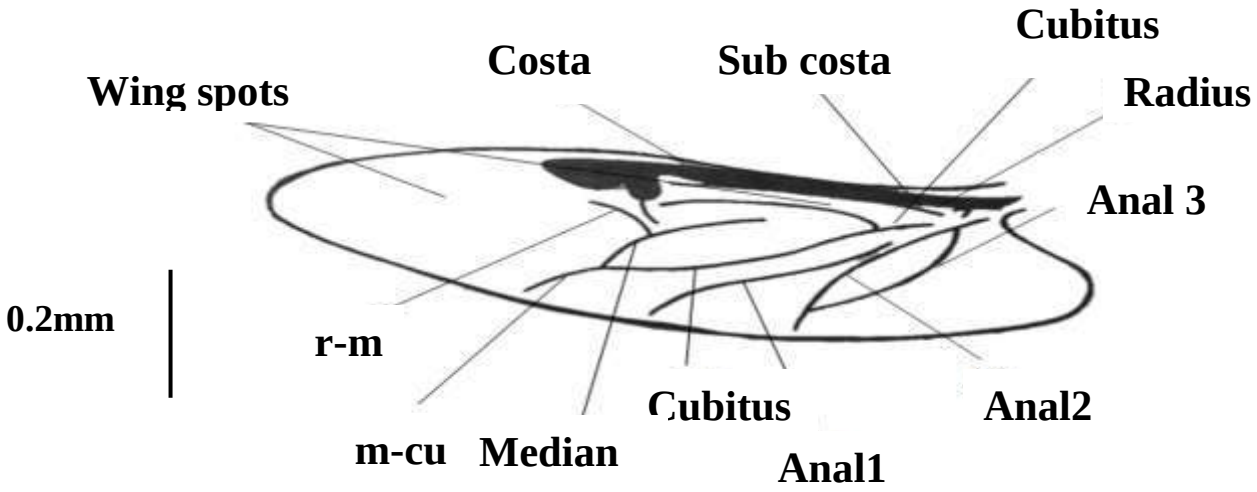
اللوحة (3) ظهر الصدر الامامي Pronotum لانثى النوع *Tribolium castaneum*



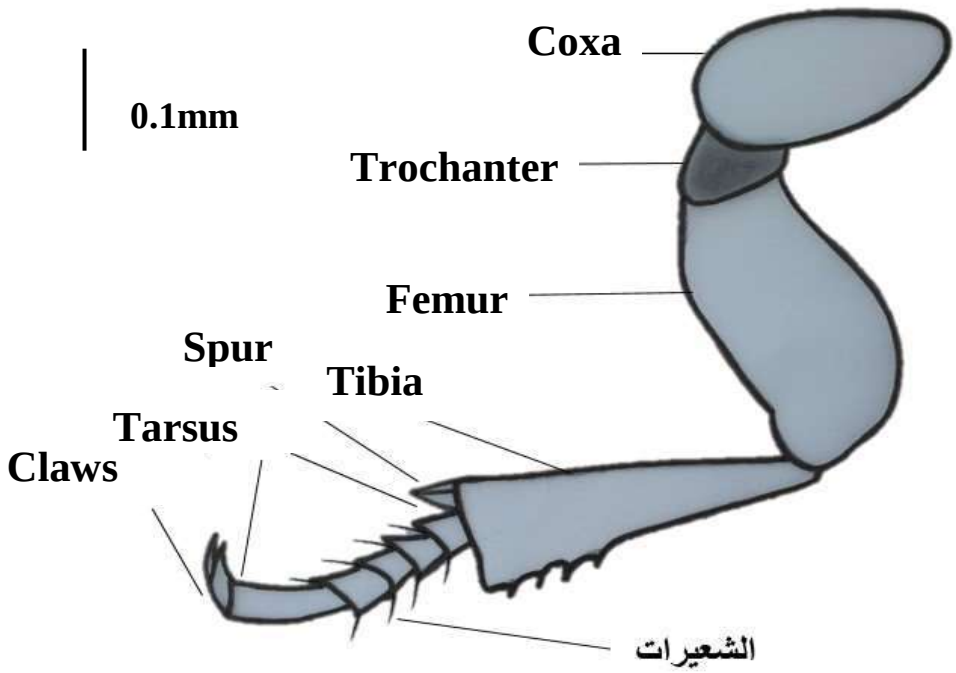
اللوحة (4) الصدر الأوسط والخلفي Meso and Metathorax لأنثى النوع *Tribolium castaneum*



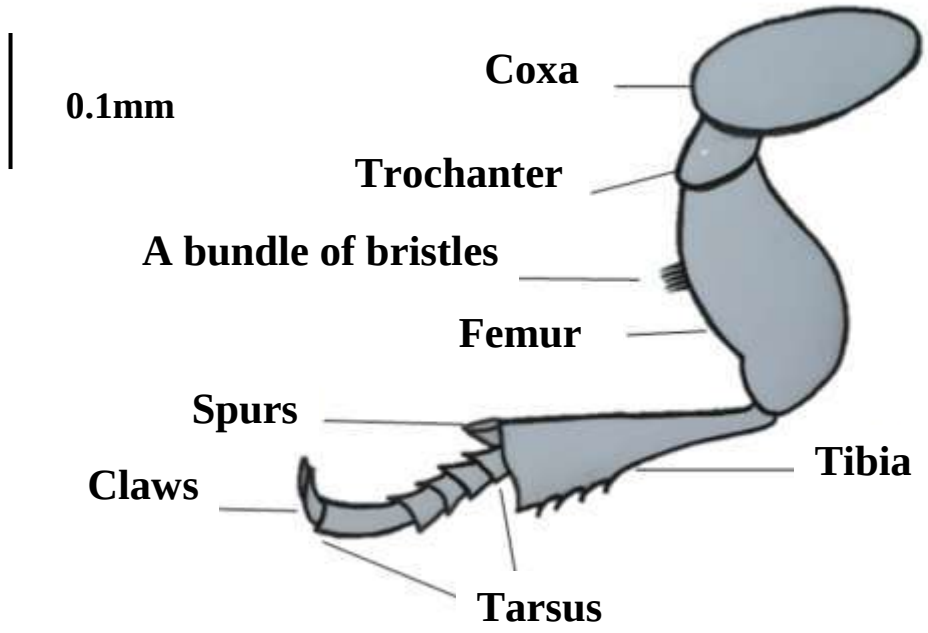
اللوحة (5) الغمد Elytron لانثى النوع *Tribolium castaneum*



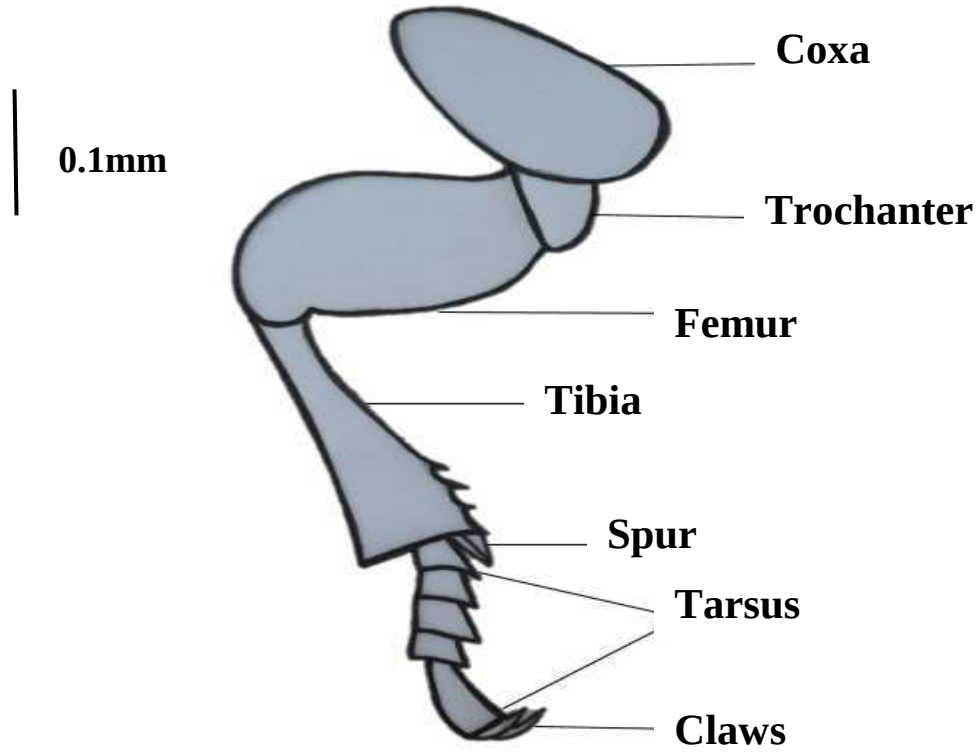
اللوحة (6) الجناح الخلفي الغشائي لأنثى النوع *Tribolium castaneum*



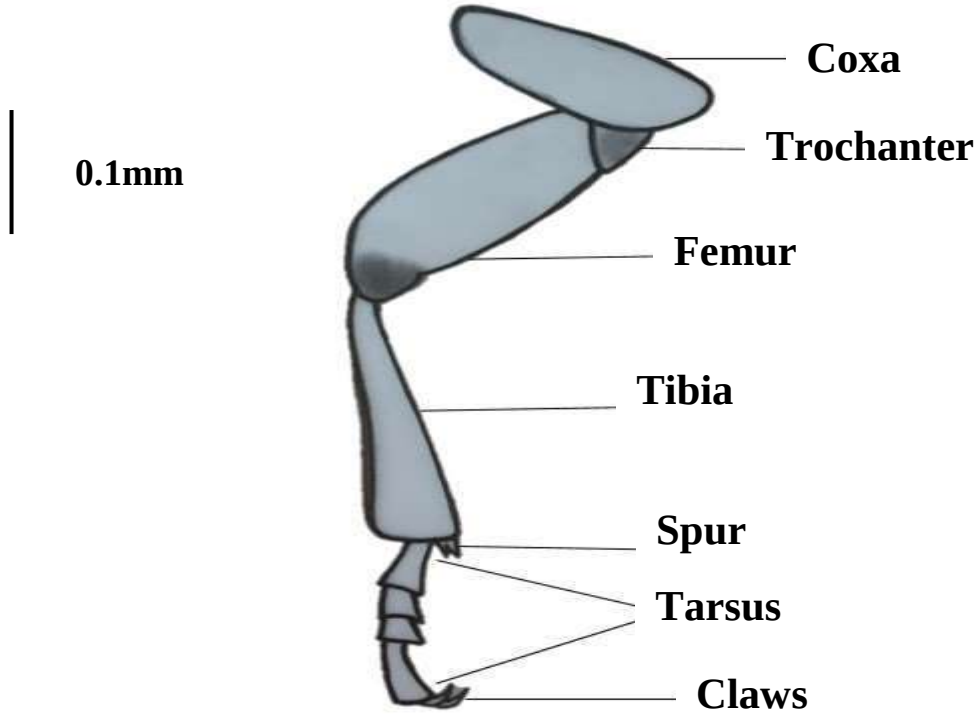
اللوحة (7) الارجل الامامية لانثى النوع *Tribolium castaneum*



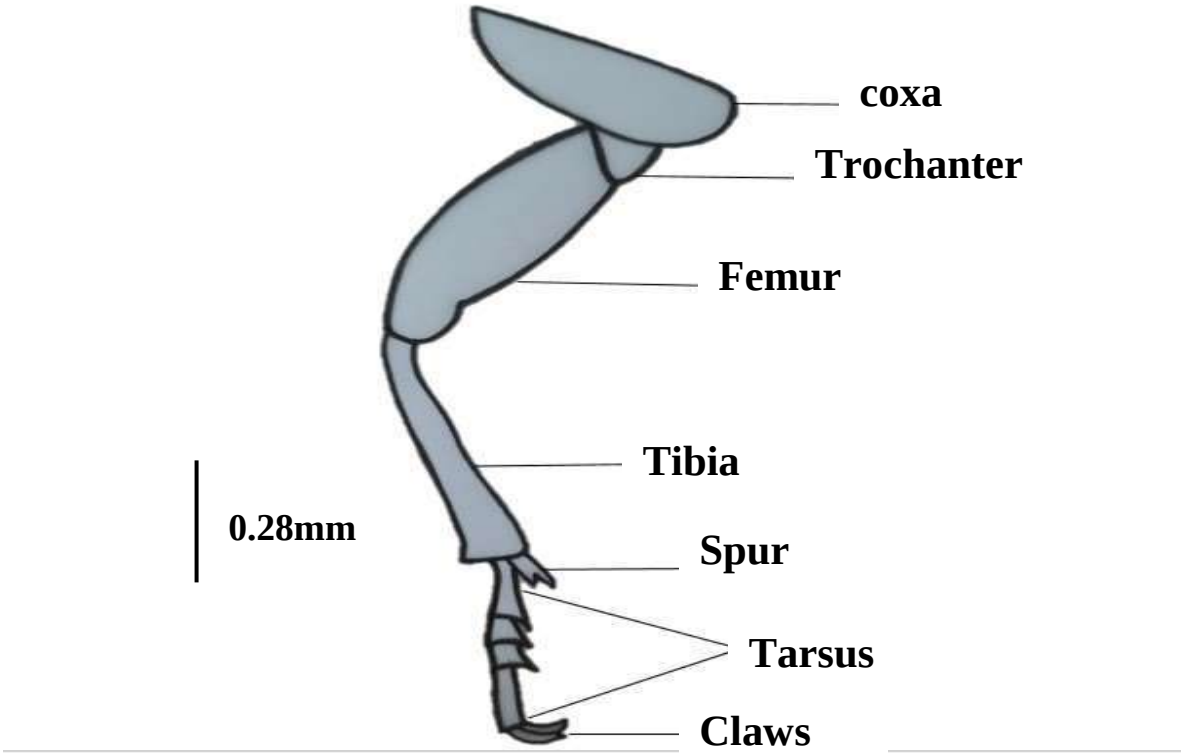
اللوحة (8) الارجل الامامية لذكر النوع *Tribolium castaneum*



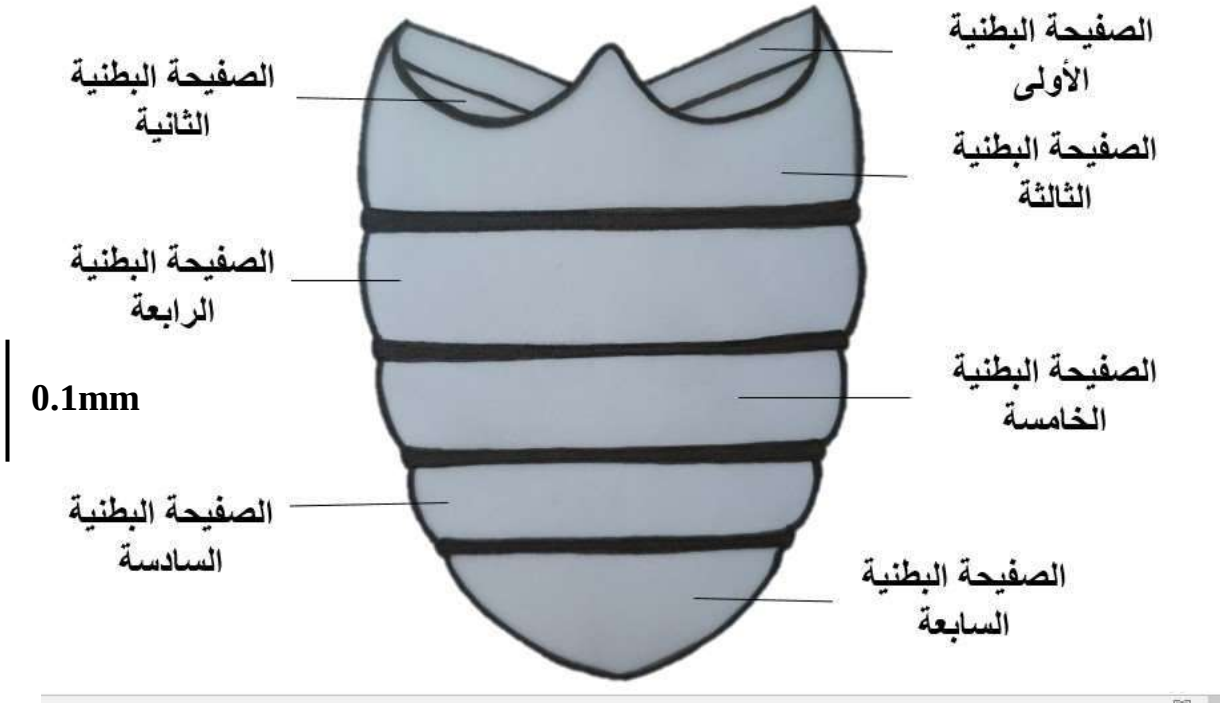
اللوحة (9) الارجل الوسطى لأنثى النوع *Tribolium castaneum*



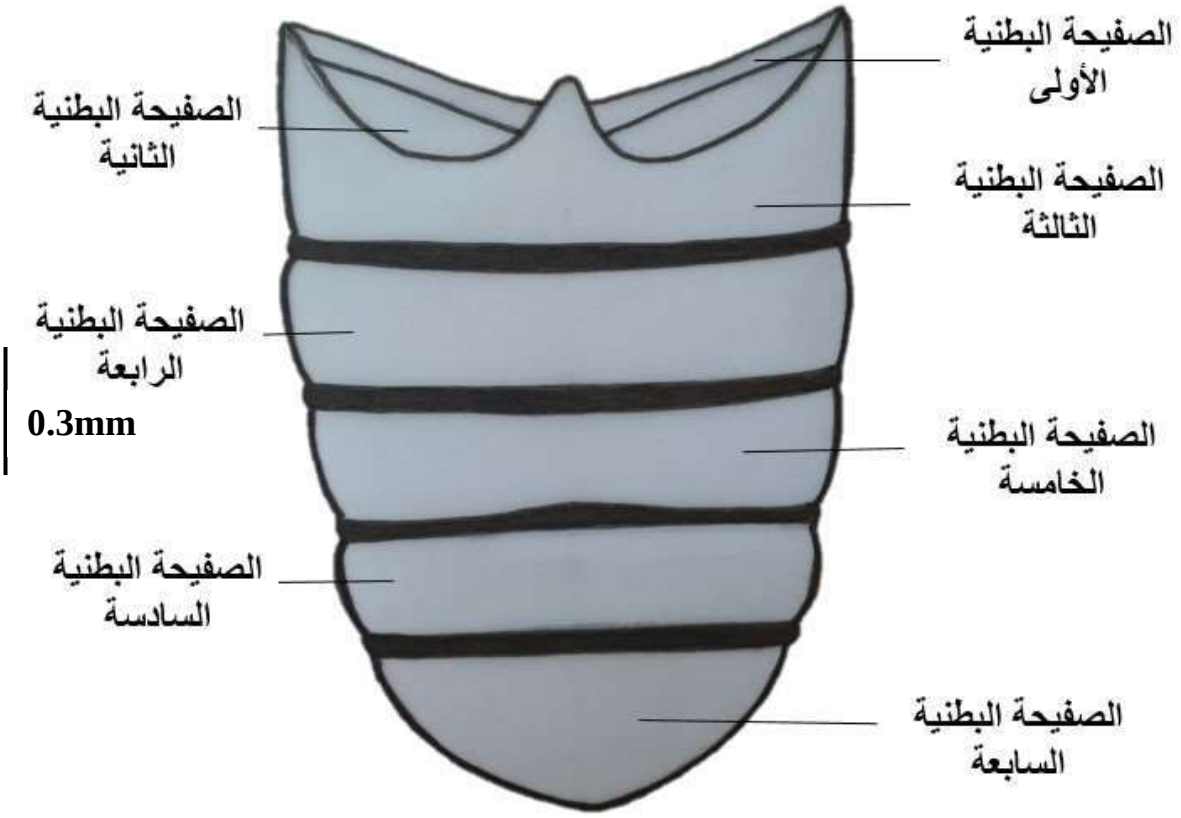
اللوحة (10) الارجل الخلفية لانثى للنوع *Tribolium castaneum*



اللوحة (11) الارجل الخلفية لذكور النوع *Tribolium castaneum*



اللوحة (12) المظهر البطني لبطن لذكر النوع *Tribolium castaneum*



اللوحة (13) المظهر البطني لبطن انثى النوع *Tribolium castaneum*

2.1.3- النوع Waterhouse,1880 *Latheticus oryzae* خنفساء الدقيق ذات الرأس الطويل

الشكل العام للجسم : بني مصفر، اسطواني متطاول، مسطح من الجانب الظهري و متوازي الجوانب ، طول الجسم 3 -3.5 ملم والعرض 1- 1.5 ملم . (صورة 10 و11) .

الرأس: عريض ، يبدو اقرب للشكل المربع ، متطاول وممتد إلى الامام طوله 0.5 ملم أطول من رأس *T. castaneum* ولهذا السبب سميت بخنفساء الدقيق ذات الرأس الطويل ، صندوق الرأس في الذكور أطول من الاناث ، مضغوط من الجهتين الظهرية والبطنية **العيون المركبة :** صغيرتان ، لونهما أسود غامق ، كلوية ، متباعدة من الجانب الظهري ومتقاربة من الجانب البطني ، محاطة بدرز واضـــح (اللوحة 14 و15).

قرون الاستشعار :طولة 1 ملم ، 11 عقلة ، صولجاني Clavate ، الاصل غير منتظم ، الحامل صغير وشبه مربع ، السوط تسع حلقات ، الحلقات الاربع الاولى صغيرة و تتدرج الحلقات من الخامسة وحتى العاشر في الحجم وتبدو متداخلة مع بعضها ، الحلقات الخمسة الطرفية بارزة ومميزة والحلقة الاخيرة اضيق الحلقات . (اللوحة 16).

الصدر :اصفر مائل إلى بني فاتح ، شبه مستطيل ولسطحه الظهري نقر صغيرة ذات مسافات واضحة ، الحافة الامامية للحلقة الصدرية الاولى أكثر عرضاً من الحافة الخلفية القريبة من قاعدة الاغماد ، الحافتان الجانبتين Pleuron متوازية ، الدريع مثلث و صغير الحجم ، الحلقة الصدرية الثانية مستطيلة صغيرة ، النهاية الامامية للحلقة الصدرية الثالثة اضيق من النهاية الخلفية ، الحلقتين الثانية والثالثة أكثر طولاً من الحلقتين الثانية والثالثة للنوع *T. castaneum* ، يمتد الاخدود الوسطي من حافة الجانب الخلفي للحلقة الصدرية الثالثة وبين الحراقف الخلفية ولكن لا يصل للأمام (اللوحة 17 و 18).

لواحق الصدر :

الاجنحة الامامية :غمدية قوية ، بنية فاتحة مائلة للاصفرار الزاهي ، متطاولة ، و على سطحها اشكال متسلسلة غير منتظمة في خطوط طولية بعضها يصل إلى النهاية المستدقة والبعض الآخر لا يصل (اللوحة 19) .

الاجنحة الخلفية : غشائيان واكبر من الجناحين الاماميين ، قليلة العروق ، العرق الضلعي يمتد بمحاذاة الحافة الامامية للجناح من المقدمة ولا يصل إلى الحافة الخارجية ، العرق تحت الضلعي يكون مع العرق الكعبري عرق عريض لون بني و اغمق من بقية عروق الجناح وفي نهاية التقاء العرقين تفرعان تشبه اوراق الزهرة ، العرق الوسطي صغير في المنتصف يكون مع العرق الزندي تركيب يشبه الحرف Y

ساق الحرف هو العرق المستعرض الزندي – الوسطي ، العرق الخلفي الاول متموج و اطول من العرقين الثاني والثالث الخلفين (اللوحة 20).

الارجل الامامية : بنية فاتحة ،الحراقف بيضوية متطاولة ، المدور مثلث و صغير الحجم ، الفخذ متطاول عريض و مدور عند القاعدة قرب منطقة اتصاله بالساق، الساق متطاول مثلث و اكثر عرضاً عند القاعدة يحمل في احدى حافتيه مهمازين ، الرسغ خمس عقل ، الاربع الاولى متساوية في الحجم تقريبا ، العقلة الرسغية الأخيرة مثلثة و متطاولة و تنتهي بزوج من المخالب المقوسة (اللوحة 21).

الارجل الوسطى : مشابه للأرجل الامامية ما عدا الحراقف متطاولة اكثرو الفخذ اقل عرضاً في المنتصف (اللوحة 22).

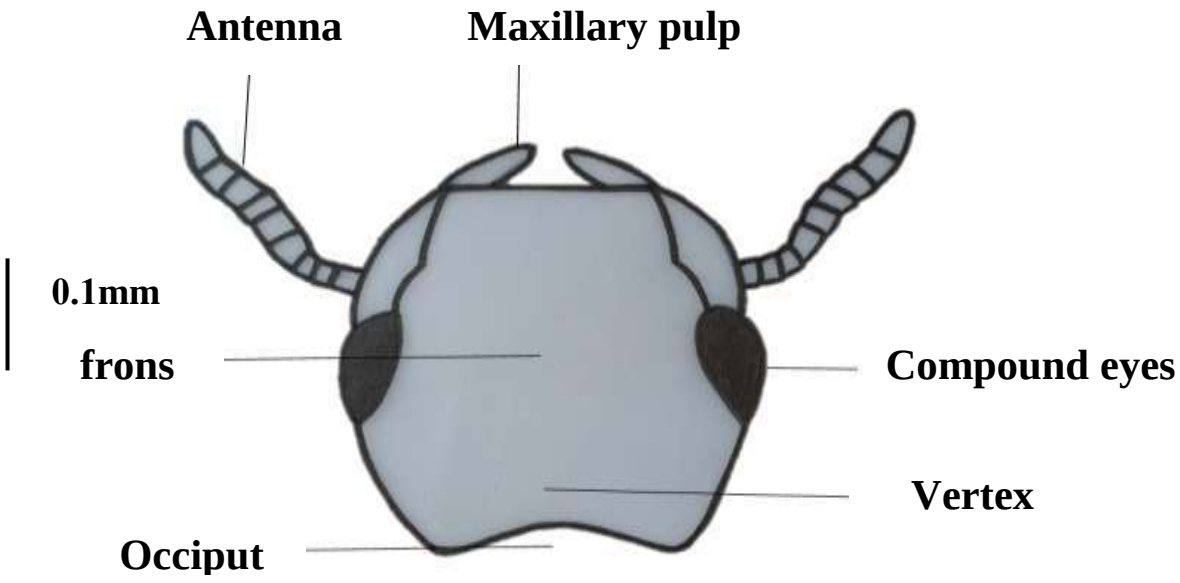
الارجل الخلفية : الحراقف بيضوية متطاولة و أكثر طولاً من حراقف الارجل الامامية والوسطى ، و تستند على المدور ، المدور ذا لون بني و اغمق من بقية الاجزاء ، الفخذ عريض ومتطاول ، الساق مثلث الشكل و هنالك مهمازان طويلان في احد جوانب الساق ،الرسغ من اربعة عقل ، عقلة الرسغ الاخيرة متطاولة و تنتهي بزوج من المخالب (اللوحة 23).

البطن : بنية ، و من خمس صفائح قصية من الناحية البطنية ، تندمج الصفائح البطنية القصية الأولى والثانية في مكان انغراس حراقف الارجل الخلفية بشكل طيات ، تتدرج هذه الصفائح في الحجم ، الحلقات الاربع ذات شكل مستعرض ، الحلقة البطنية الاخيرة مستديرة (اللوحة 24).

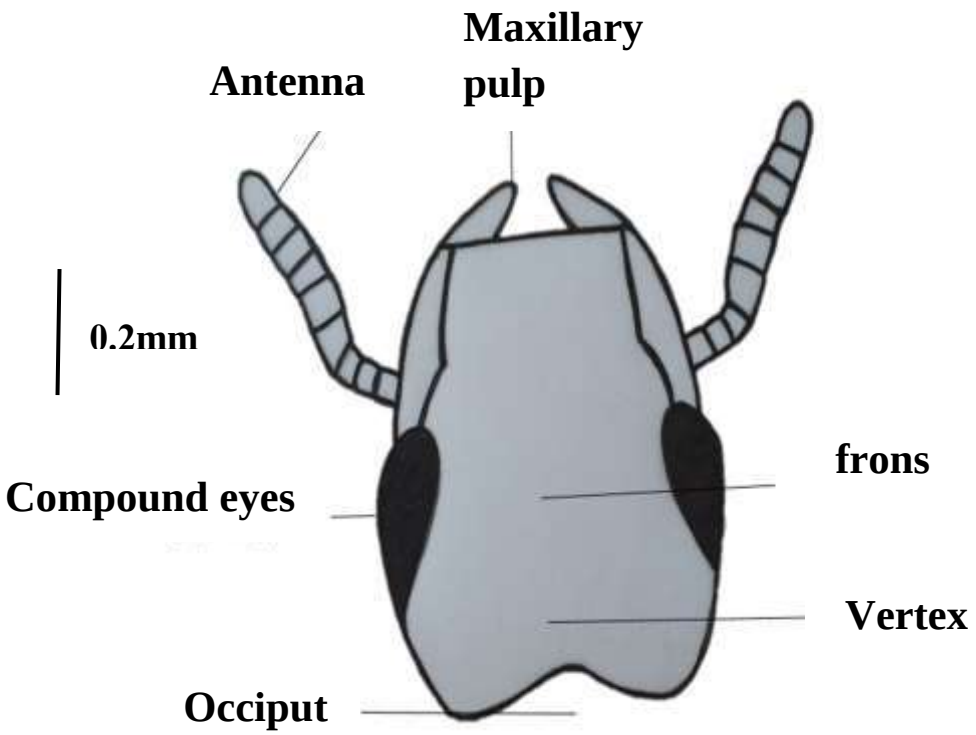
العينات المشخصة : عدد العينات المعزولة 183 حشرة ، 105 من الذكور و 78 من الاناث عزلت من الدقيق المجهز من إحدى الشركات الاهلية في المحافظة للمدة من 2021/5/5 إلى 2021/7/5

صورة (10) المظهر الظهري لذكر النوع
Latheticus oryzae

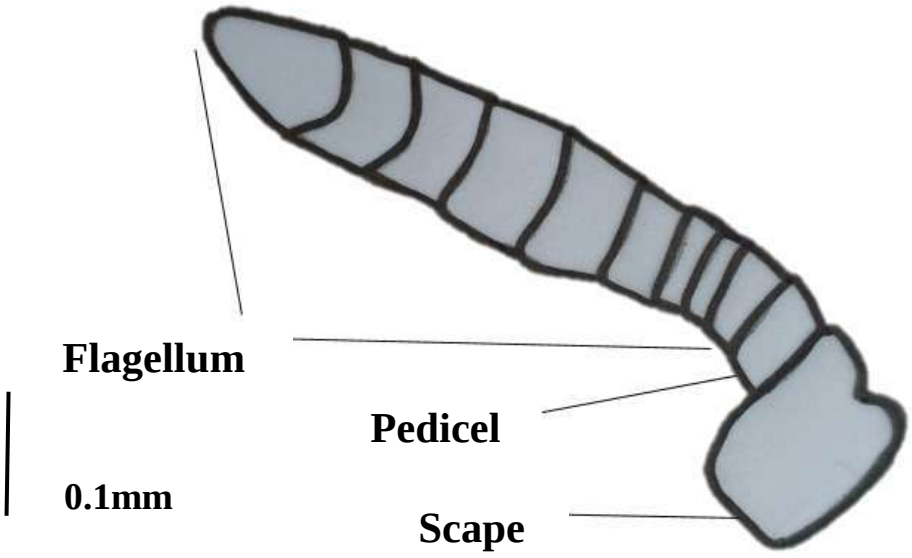
صورة (11) المظهر البطني لذكر النوع
Latheticus oryzae



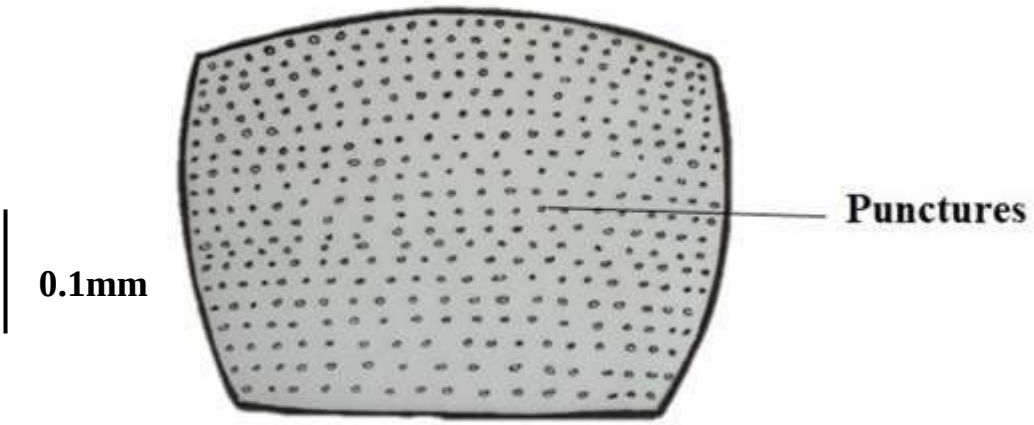
اللوحة (14) الرأس وأجزاؤه لأنثى النوع *Latheticus oryzae*



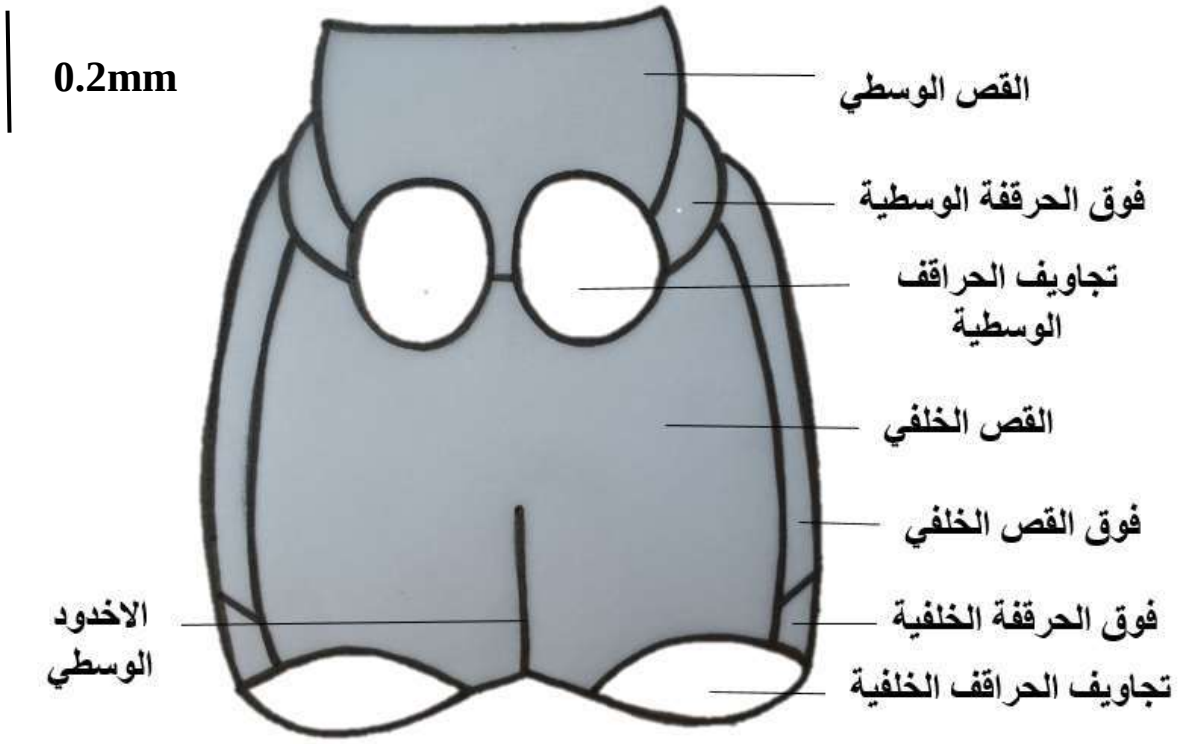
اللوحة (15) الرأس وأجزاؤه لذكر النوع *Latheticus oryzae*



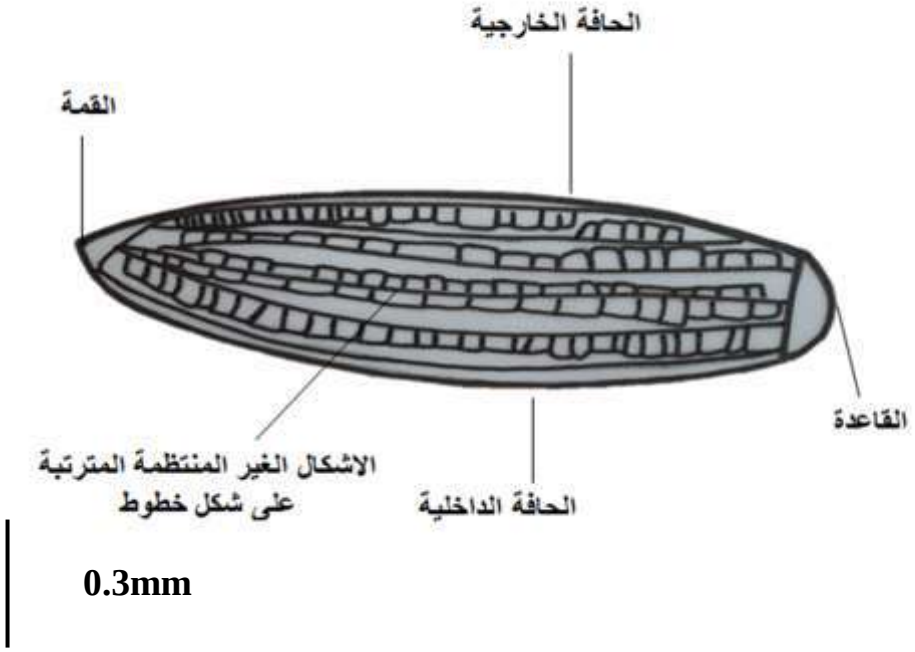
اللوحة (16) قرن الاستشعار لذكر النوع *Latheticus oryzae*



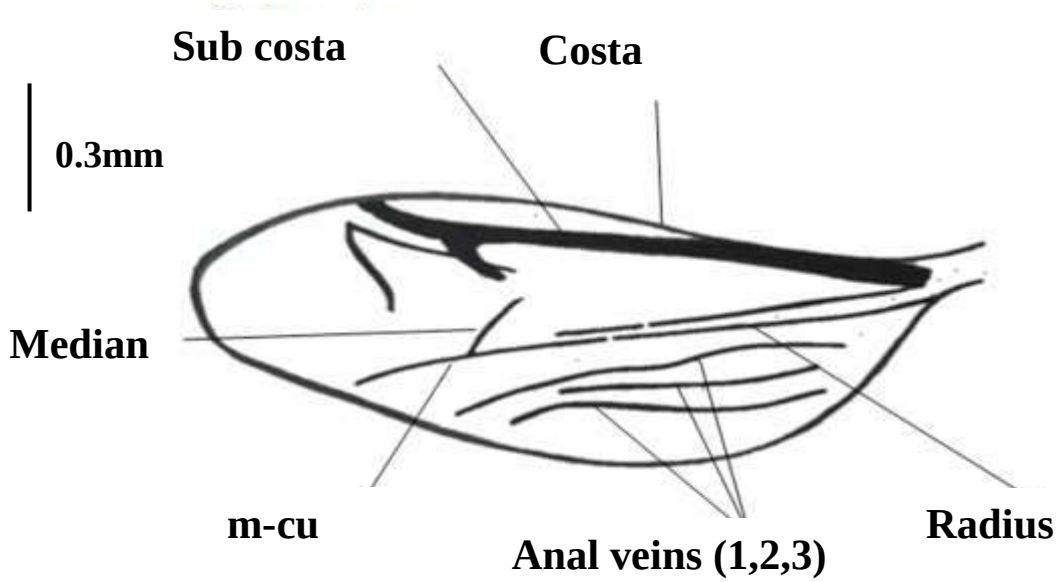
اللوحة (17) ظهر الصدر الامامي Pronotum لذكر النوع *Latheticus oryzae*



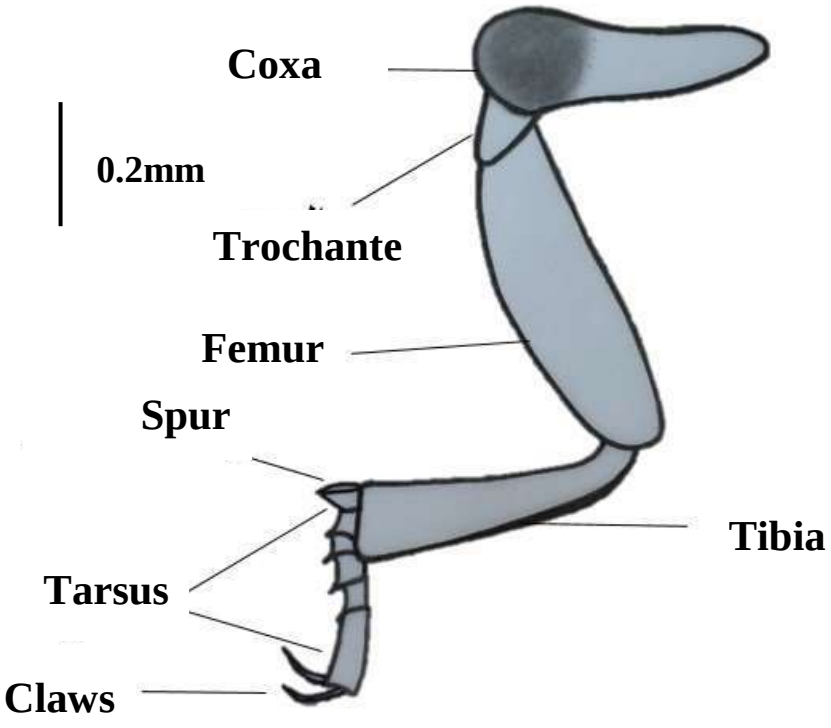
اللوحة (18) الصدر الأوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكر النوع *Latheticus oryzae*



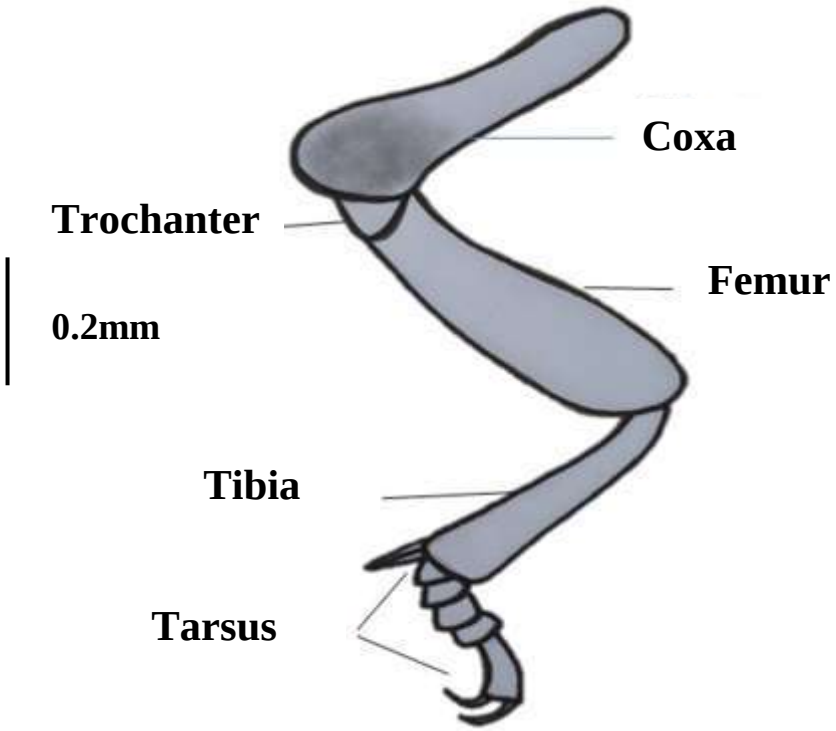
اللوحة (19) الجناح الغمدي Elytron لذكر النوع *Latheticus oryzae*



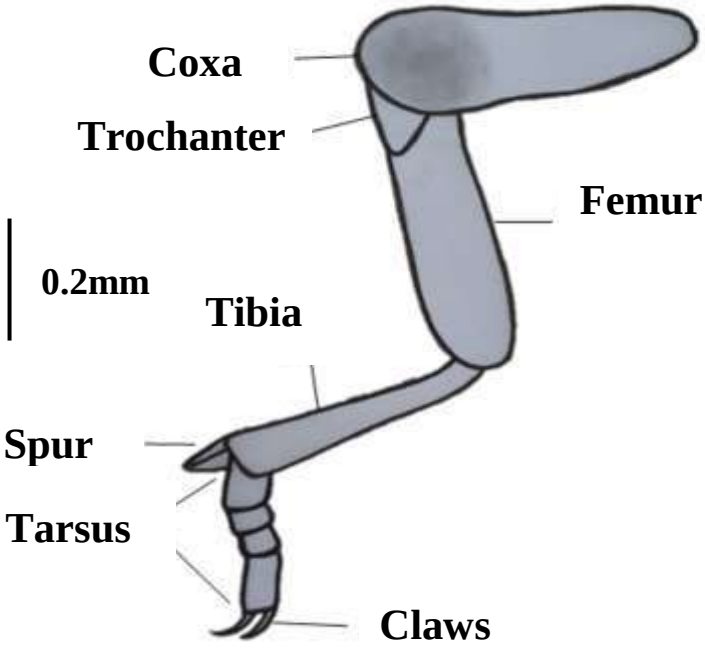
اللوحة (20) الجناح الخلفي الغشائي لذكر النوع *Latheticus oryzae* (العرق الوسطي – الزندي m-cu



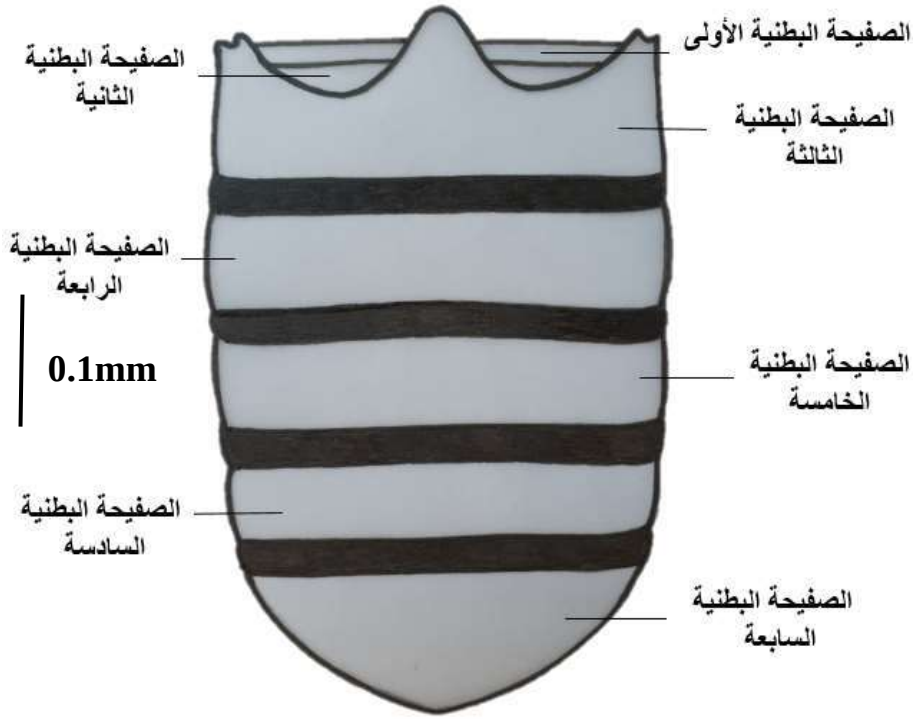
اللوحة (21) الرجل الامامية لذكر النوع *Latheticus oryzae*



اللوحة (22) الرجل الوسطى لذكر النوع *Latheticus oryzae*



اللوحة (23) الارجل الخلفية لذكر النوع *Latheticus oryzae*



اللوحة (24) المظهر البطني لبطن ذكر النوع *Latheticus oryzae*

3.1.3- خنفساء الحبوب التجارية (Fauvel,1889) *Oryzaephilus mercator*

***Silvanus gossypi* Chittenden,1897**

***Silvanus mercator* Fauvel ,1889**

***Oryzaephilus gossypi*(Chittenden,1897)**

***Oryzaephilus surinamensis* Var.*mercator* (Fauvel)**

الشكل العام للجسم : بني محمر إلى بني غامق ، رفيع ، متطاول و هناك نقر دائرية وزغب صفراء فاتحة اللون منتشرة على سطح الجسم ، يكسو الجسم من الجانب البطني شعيرات دقيقة وكثيفة براقة ، طولها من 3-3.5 ملم (صورة 13و14).

الرأس: شبه مثلث ، اقل عرضاً من بقية اجزاء الجسم ، مغطى بنقر وشعيرات دقيقة وكثيفة ، نهايته الخلفية أكثر عرضاً من نهايته الامامية ، يقع الصدغ Temple خلف العيون المركبة وتعد صفة خاصة لهذا النوع . **العيون المركبة :** كبيرة وبارزة ، و سوداء اللون ، واضحتان بشكل نصف دائري ، و بارزتان خارج الرأس ، الصدغ تركيب مثلث ذو زاوية حادة خلف العين وهذا يجعلها تتميز عن النوع *Oryzaephilus surinamensis* ، وهو اصغر من ثلث طول العين ، المسافة بين العيون المركبة من الجانبين الظهري والبطني كبيرة (اللوحة 25) .

قرون الاستشعار: طويلة ،بنية ، رأسية ، مكونة من 11 عقلة و أطول من طول الرأس ، الاصل كأسي ، الحامل اصغر حجماً ومستطيل متطاول ، السوط يبدأ من العقلة الثالثة والتي تكون أقصر من الثانية ،العقل من 4-8 متساوية بالحجم تقريبا شبه كروية ،أما الثلاثة الطرفية من 9-11 فتبدو كأسية ، العقلة 10 اعرض من العقلة 9 ، العقلة الأخيرة مستديرة ، للعقل الخمسة الأخيرة الطرفية شعيرات ناعمة ودقيقة (اللوحة 26).

الصدر: مستطيل بشكل متطاول و متوازي الجوانب ، بني غامق ،تنتشر على سطحه نقر كثيفة ، هناك ستة اسنان على الحافتين الجانبيتين تعطي شكل المنشار ، المسافة بين هذه الاسنان متباينة و غير متساوية ،وتتباين هذه الاسنان اكثر في الزاوية الامامية بشكل خاص ، الدريع مثلث وعلى سطحه نقر كثيفة وعميقة ، حراقف الارجل الخلفية تنغرس في حافة الصفائح البطنية القصية الثالثة ولا تقسمها (اللوحة 27 و28).

لواحق الصدر

الاجنحة الامامية : بنية محمرة إلى بنية غامقة و متطاولة ، النهاية الامامية مستطيلة و أكثر عرضاً من النهاية الخلفية المستدقة ، يغطي الحلقات البطنية الخمسة ، نقر مختلفة الاحجام تتوزع بشكل تسعة خطوط طولية ، و لون النقر بين البني المحمر إلى البني الغامق و تحتوي شعيرات قصيرة ذات لون البني (اللوحة 29) .

الاجنحة الخلفية : غشائيان ، وعروقها الطولية قليلة و يطويان تحت الاغماد الامامية في اثناء الراحة ، العروق المستعرضة غير موجودة ، يمتد العرق التحت الضلعي Sub costa من مقدمة الجناح ولا يصل إلى الحافة الخارجية ، كما يمتد العرق الكعبري من القاعدة ولا يصل إلى الحافة ايضاً وهو اقل وضوحاً من العرق التحت الضلعي ، العرق الخلفي الاول قصير ويقع قرب الحافة الداخلية للجناح (اللوحة 30).

الارجل الامامية : بنية غامقة ، الحراقف شبه بيضوية ، المدور مثلث صغير بشكل مسند إلى الحرقفة ، الفخذ عريض اسطواني واغمق لوناً من بقية الاجزاء و متضخم في المنتصف ، الساق مثلث شبه متطاول ، قاعدة الساق ضيقة مقارنة بالقمة العريضة ، الرسغ خمس عقل ، الاولى أطول بقليل من الثانية والثانية والثالثة والرابعة متساوية بالحجم تقريبا والعقلة الخامسة مثلثة متطاولة ، تنتهي بزوج من مخالب شبه مقوسة (اللوحة 31) .

الارجل الوسطى : مشابه للأرجل الامامي ماعدا الحراقف بيضوية متطاولة وأكبر حجماً من حراقف الارجل الامامية (اللوحة 32).

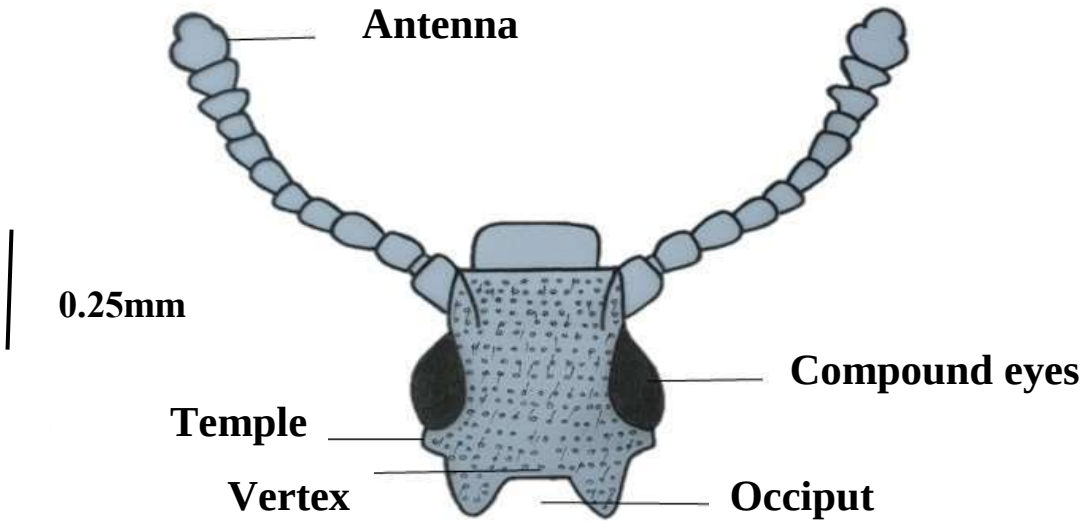
الارجل الخلفية : الحراقف كأسية صغيرة الحجم اصغر من حراقف الارجل الامامية و الوسطى ، المدور شبه بيضوي ، الفخذ عريض في المنتصف وضيق في النهاية القريبة من المدور و دائري في النهاية القريبة من الساق ،الساق متطاول شبه مثلث و لحافته الداخلية اسنان قصيرة في حين الحافة الخارجية ذات اشواك (اللوحة 34) و ينعدم وجود هذه الاشواك في الاناث (اللوحة 33) .

البطن: بنية غامقة متطاولة ، ومن خمس حلقات او صفائح كون هناك اندماج للحلقات البطنية القصية الأولى والثانية بشكل طيات في مكان انغراس حراقف الارجل الخلفية ، الصفائح البطنية القصية محدبة، يغطي سطحها شعيرات ناعمة ودقيقة وبراقة ، تتدرج الصفائح البطنية في الحجم ، الصفيحة القصية البطنية الثالثة أكبر من الرابعة والسادسة والسابعة بيضوية مستدقة النهاية (اللوحة 35).

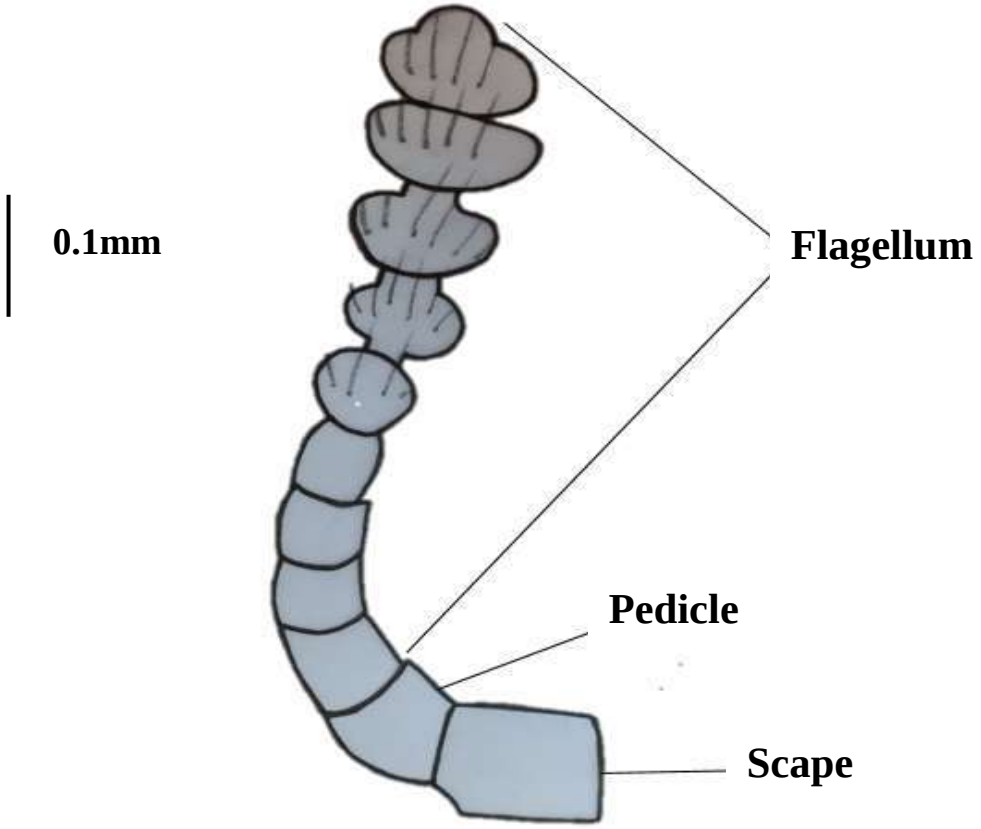
العينات المشخصة : عدد العينات المعزولة 225 حشرة ، 125 من الذكور و 100 من الاناث عزلت من الذرة و التمر المجفف والدقيق الذي جلب من الاسواق المحلية والمركزية للمدة من 2021/3/20إلى 2021/5/25 .

صورة (12) المظهر الظهري لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*

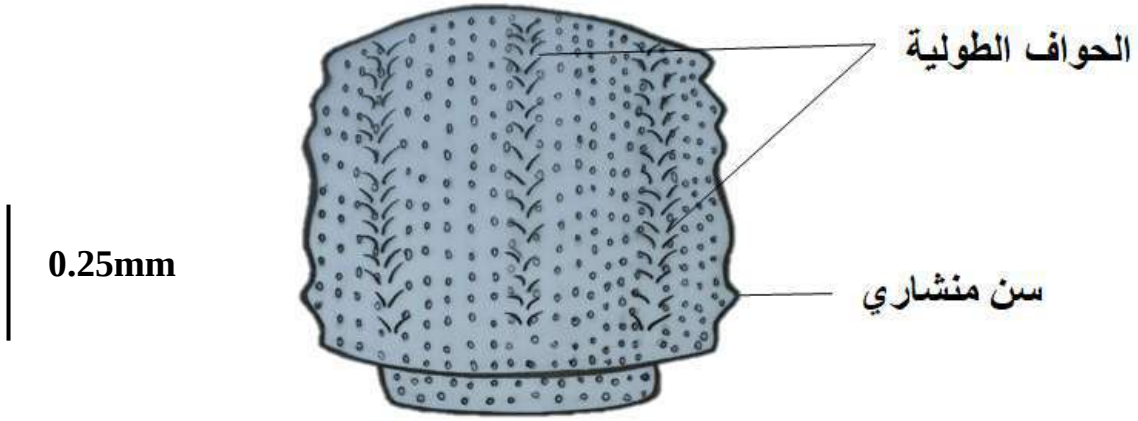
صورة (13) المظهر البطني لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*



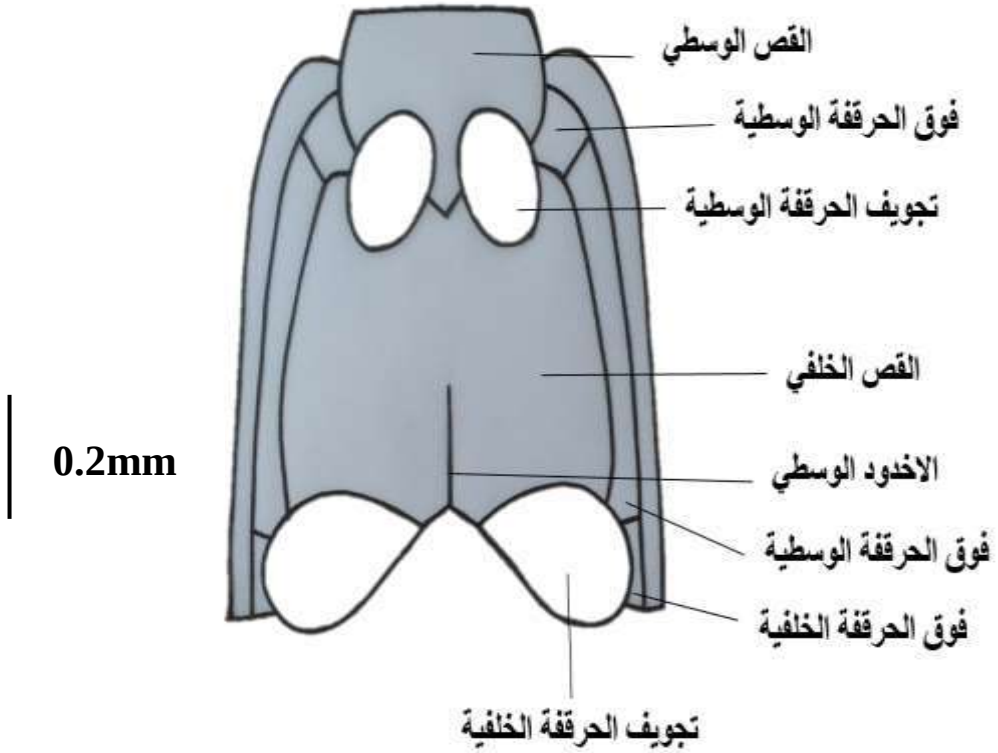
اللوحة (25) الرأس وأجزاؤه لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*



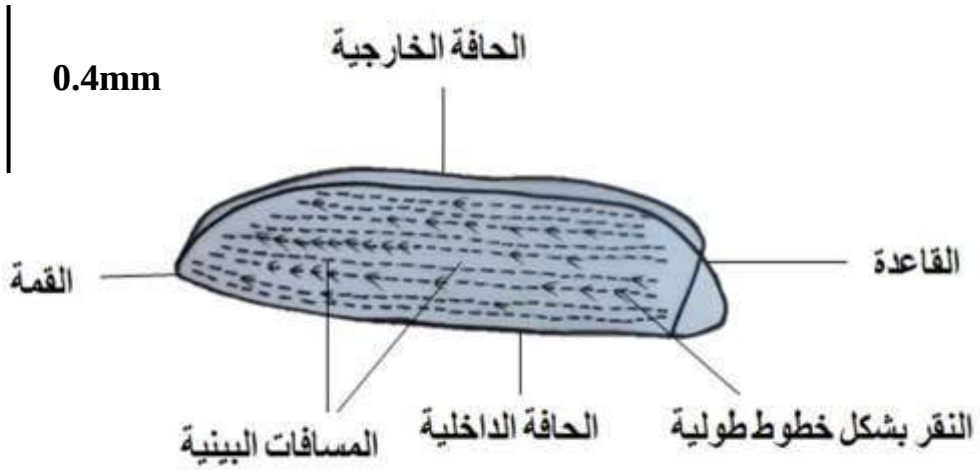
اللوحة (26) قرن الاستشعار لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*



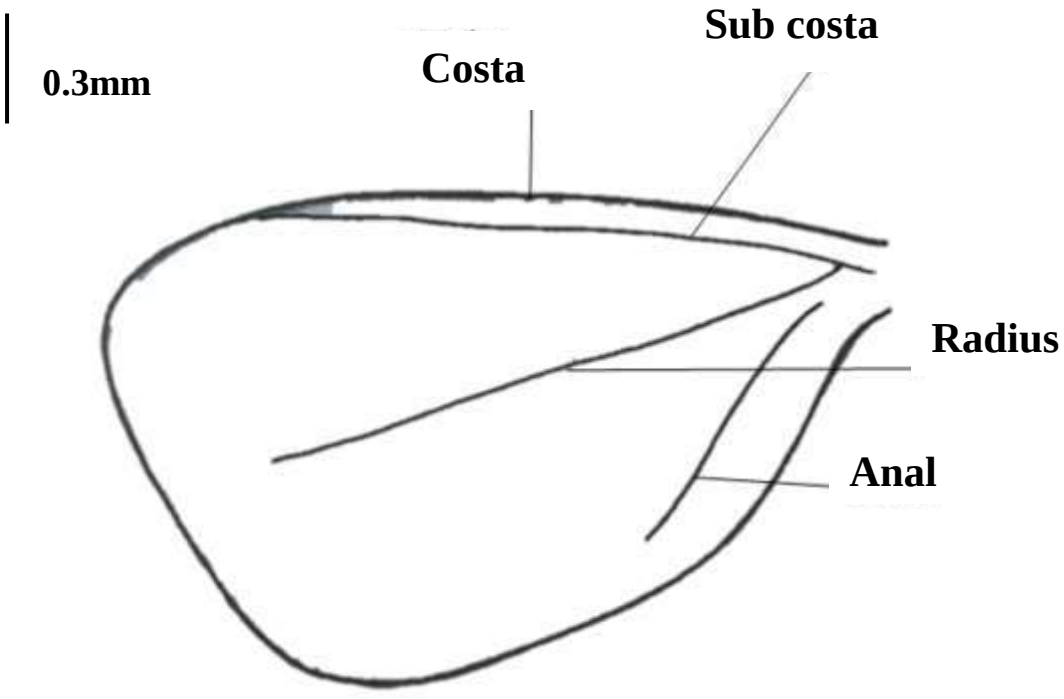
اللوحة (27) ظهر الصدر الامامي Pronotum لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*



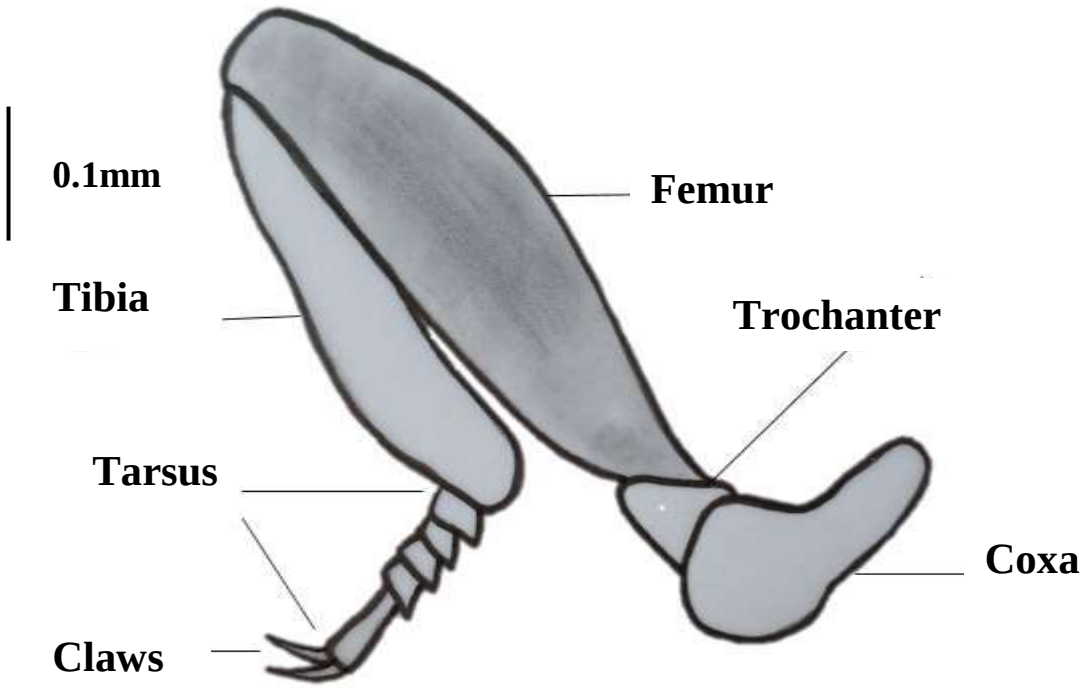
اللوحة (28) الصدر الأوسط والخلفي Meso and Metathorax لانثى النوع *Oryzaephilus mercator*



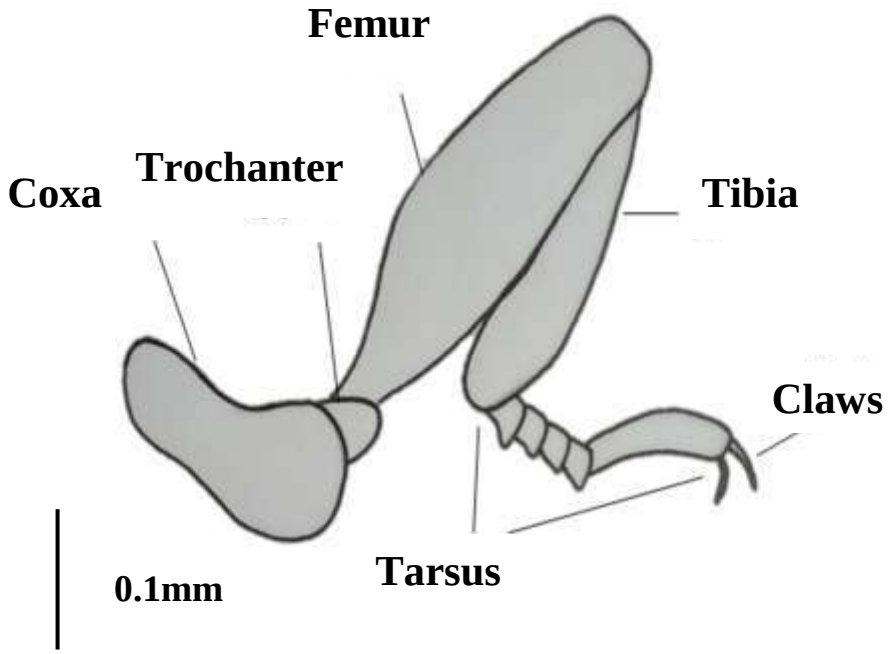
اللوحة (29) الغمد Elytron لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*



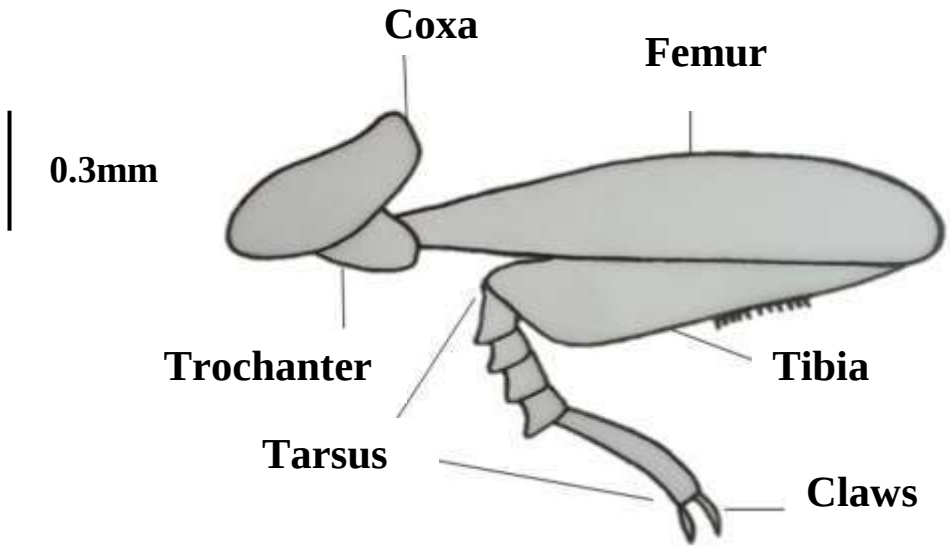
اللوحة (30) الجناح الخلفي الغشائي لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*



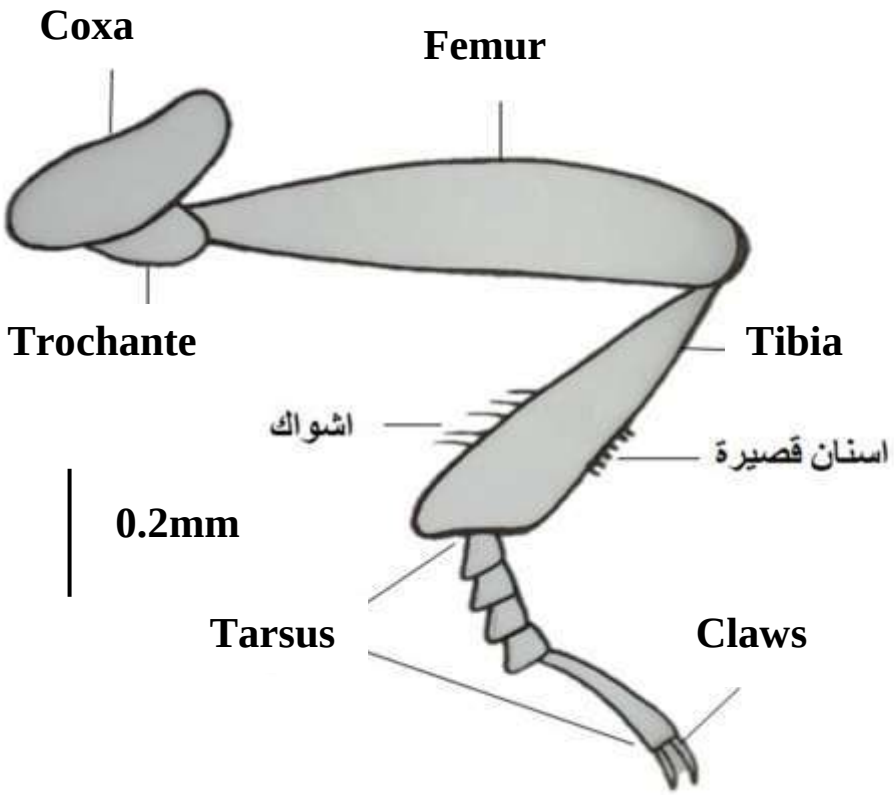
اللوحة (31) الرجل الامامية لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*



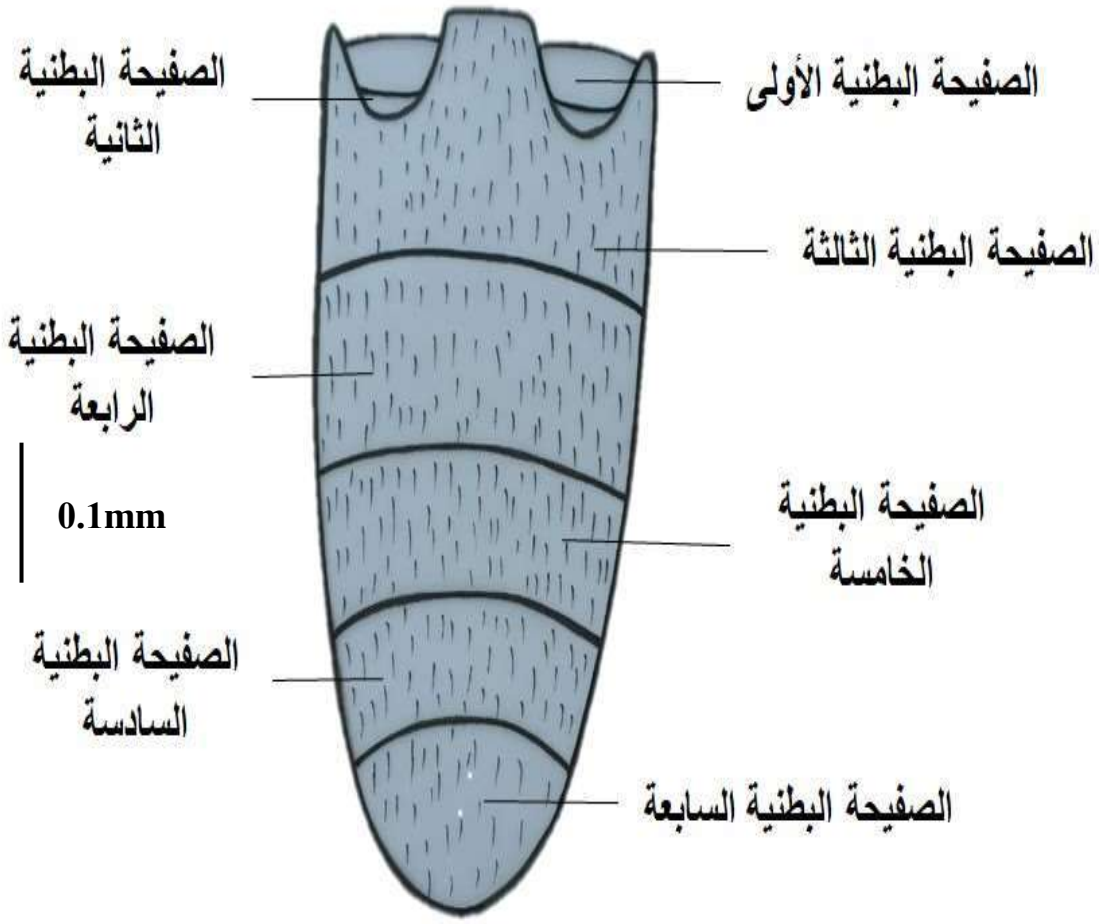
اللوحة (32) الرجل الوسطى لأنثى النوع *Oryzaephilus mercator*



اللوحة (33) الرجل الخلفية لانثى النوع *Oryzaephilus mercator*



اللوحة (34) الرجل الخلفية لذكر النوع *Oryzaephilus mercator*



اللوحة (35) المظهر البطني لبطن أنثى النوع *Oryzaephilus mercator*

4.1.3- خنفساء الحبوب الشعرية (الخابرا) *Trogoderma granarium* Everts,1898

Trogoderma afrum **Priesner,1951**

Trogoderma khapra **Arrow,1917**

Trogoderma quinquefasciata **Leesberg ,1906**

Trogoderma koningsbergeri **Pic,1933**

الشكل العام للجسم : بيضوي الشكل ، الحلقة الصدرية الاولى والرأس لونهما بني غامق والحلقات الثانية والثالثة والبطن لونهم بين اللون البني الفاتح إلى البني الغامق ، للجسم من الجانبين الظهري والبطني شعيرات ناعمة و دقيقة جداً، طول الجسم من 1.5-2.5 ملم والعرض 0.5-1.5 ملم (صورة 14 و15).

الرأس : اسود و صغير و منحني تحت الحلقة الصدرية الاولى ، للجبهة عين بسيطة وسطية Ocellus واحدة بين العيون المركبة ، لسطح الرأس نقر عديدة كثيفة صغيرة و شعيرات ناعمة دقيقة وقصيرة وعلى مسافات متباينة ، الملامس الشفوية صفراء متطاولة ورأسها مدبب وذات شعيرات ناعمة ودقيقة جداً .**العيون المركبة :** بنية إلى سوداء ، وتكون بشكل نصف دائرة ، وتقسيماتها غير واضحة بشكل جيد (اللوحة 36).

قرون الاستشعار : 11 عقلة، يوجد داخل حفرة ،ذات لون بني محمر إلى بني مصفر ، الأصل كأسي ،الحامل شبه كروي يتساوى بالحجم مع الأصل تقريبا ، العقل الخمس الوسطية بعد الأولى متساوية بالحجم تقريبا ، العقل من 9 - 11 تأخذ شكل المضرب Club-Shape والعقلة الأخيرة أكبر العقل (اللوحة 37 و38).

الصدر: بني غامق مائل إلى الاسود في الذكور، وبني فاتح إلى بني محمر في الاناث ، حافته الامامية شبه محدبة و حافته الخلفية بشكل V ، حوافة الجانبية مقوسة نحو الداخل ، سطح الظهر الامامي ذو شعيرات كثيفة دقيقة ناعمة صفراء براقة (اللوحة 39) ، الدريع صغير الحجم الشكل و تجاويف الحراقف الوسطية تنغرس في الحافة الخلفية للحلقة الصدرية الثانية و تجاويف الحراقف الخلفية على حافة الصفيحة البطنية الثالثة ولا تقسمها ، ويمتد الاخدود الوسطي بينهما ولا يصل إلى المقدمة (اللوحة 40).

لواحق الصدر :

الاجنحة الامامية : الوانها تتدرج بين البني الفاتح و البني المحمر إلى البني الغامق ، نهايتها الامامية مستطيلة الشكل في حين الخلفية شبه بيضوية ، لسطح الاغماد شعيرات سوداء متفرقة على مناطق مختلفة

وعلى مسافات متباينة ولها نقر كثيفة على سطحها بمسافات مختلفة ايضاً، تنتشر البقع على الحافتين الامامية والجانبية وتستمر إلى الحافة الخلفية في الذكور ويتميز الجناح الغمدي ببقعة دائرية في الثلث الأول منه في الذكور فقط (اللوحة41 و42).

الاجنحة الخلفية : غشائيان و عروقه الطولية قليلة ، العرق الضلعي بمحاذاة الحافة الامامية ولا يصل إلى الحافة الخارجية ، العرق تحت الضلعي في مقدمة الجناح ويكون مع العرق الكعبري شكل حرف (و) او رقم 9 ويعود ليكون نهاية حرف الواو على الحافة الامامية ، يمتد العرق الوسطي مع العرق الزندي من مقدمة الجناح ويكونان مع بعضهما عرق ذو لون بني اغمق من بقية العروق ويستمر العرق الوسطي إلى منتصف الجناح ، هناك طيات موجودة بصورة متفرقة في الحافة الخارجية للجناح ، يوجد عرق الوسطي – الزندي المستعرض قرب الحافة الخارجية بين العرق الوسطي والزندي (اللوحة 43).

الأرجل الامامية : صفراء اللون إلى بنية و قصيرة ، الحراقف بيضوية و ظاهرة ذات لون بني اغمق من بقية الاجزاء ، المدور شبه مثلث ، الفخذ ضخم اسطواني ذو لون بني مائل للاصفرار ، الساق بني فاتح متطاول و اسطواني و على حافته الخارجية صف من الشعيرات القصيرة وقمته حاوية على مهمازين قصيرين ، الرسغ من خمس عقل تنتهي بزوج من المخالب الشبه مقوسة (اللوحة 44).

الارجل الوسطى : مشابة للأرجل الامامية ما عدا الحراقف بيضوية متطاولة في الشكل و بقية أجزاء الارجل تكون متشابه مع الارجل الامامية (اللوحة 45).

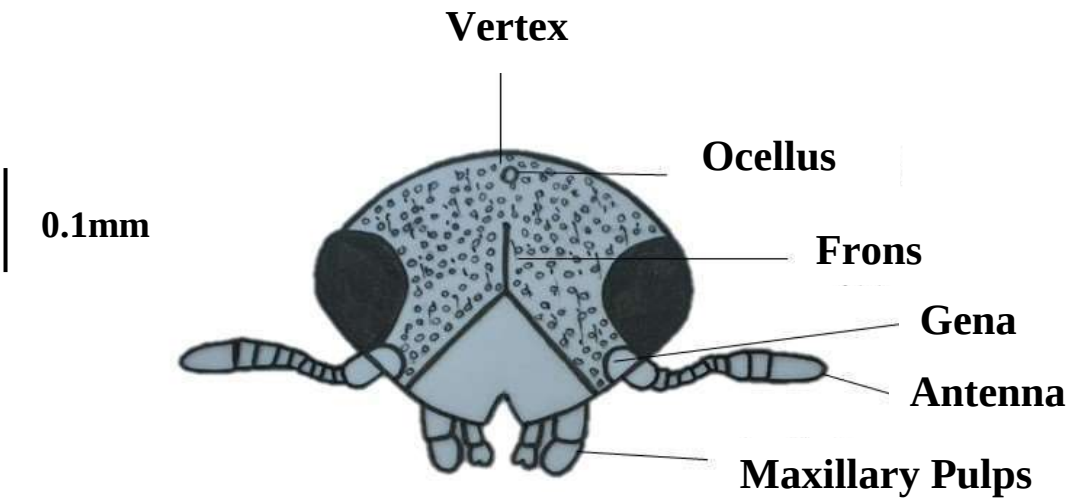
الارجل الخلفية : الحراقف اكثر استطالة ،قاعدتها عريضة في حين قمتها ضيقة ، المدور شبه بيضوي ، الفخذ عريض عند مكان اتصاله بالمدور ومدور عند اتصاله بالساق ، الساق متطاولة و على حافته الخارجية اربعة ازواج من الشعيرات الناعمة والدقيقة ، الرسغ من خمس عقل متدرجة ، شبه متداخلة تنتهي بزوج من المخالب (اللوحة 46) .

البطن: عريضة، بنية فاتحة إلى بنية غامقة ، الصفائح البطنية القصية محدبة و متدرجة في الحجم ، الصفيحتان البطنيتان الرابعة والخامسة متساويتان في الطول أما الثالثة فأكثر عرضا من بقية الصفائح القصية و يكسو جميع الصفائح شعيرات صفراء لماعة ودقيقة (اللوحة 47).

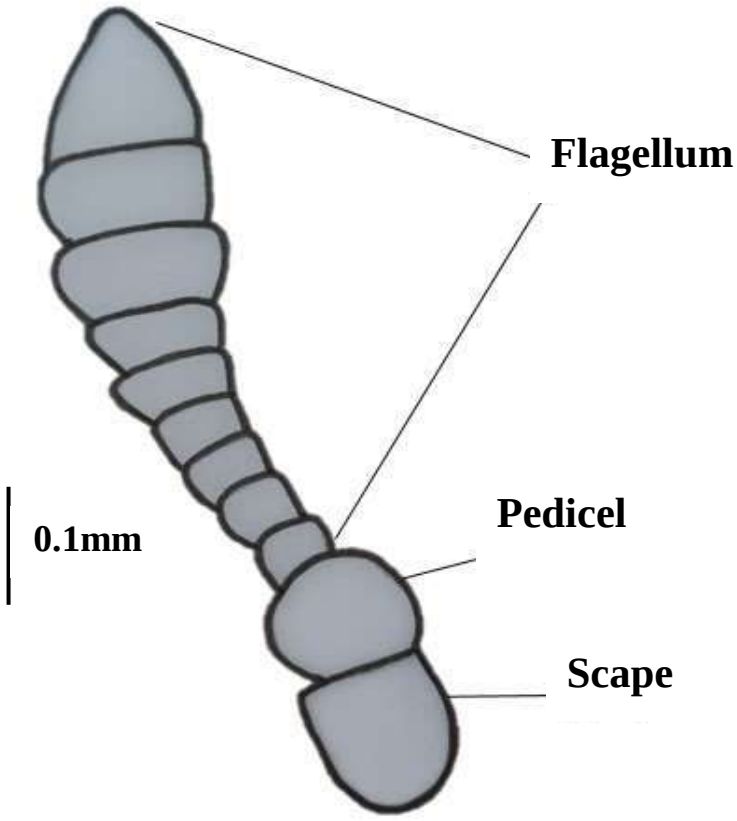
العينات المشخصة : عدد العينات المعزولة 163 حشرة ، 85من الذكور و 78 من الاناث عزلت من حبوب الحنطة المحلية و الحنطة الاسترالية التي جلبت من الشركة العامة لتجارة الحبوب فرع ميسان والحمص الذي جلب من الاسواق المحلية والرئيسية للمدة من 7/15/ 2021 إلى 2021/12/30.

صورة (14) المظهر الظهري لذكر النوع
Trogoderma granarium

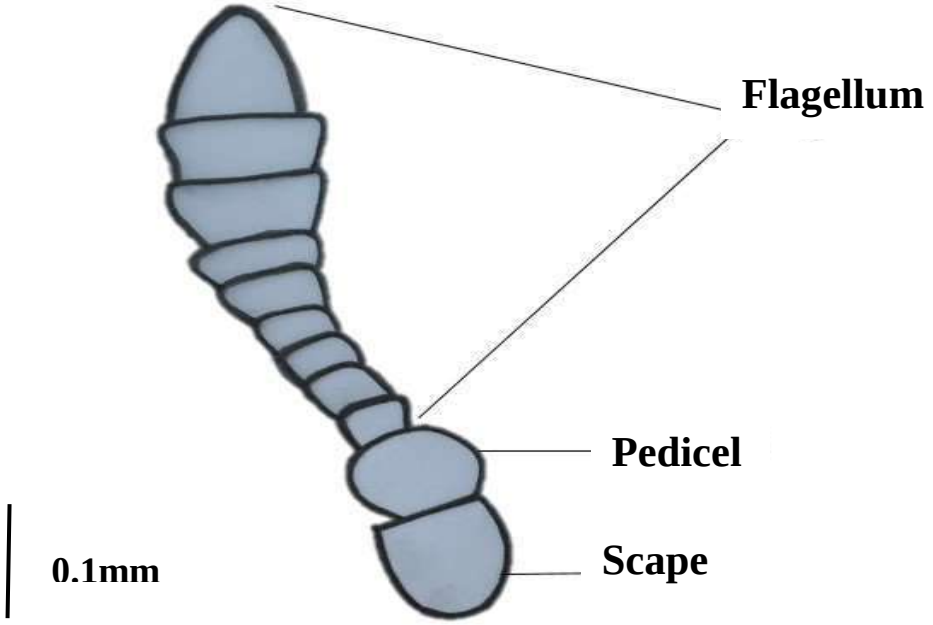
صورة (15) المظهر البطني لذكر النوع
Trogoderma granarium



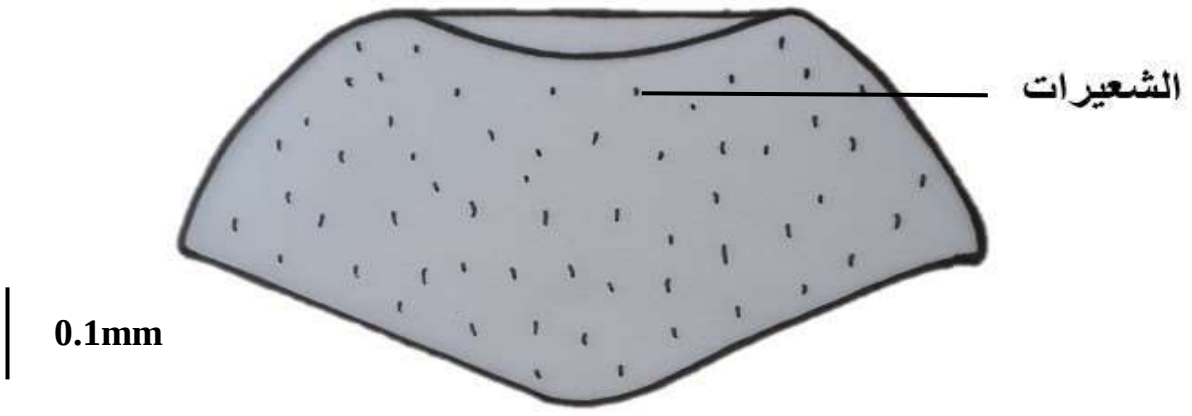
اللوحة (36) الراس وأجزاؤه لذكر النوع *Trogoderma granarium*



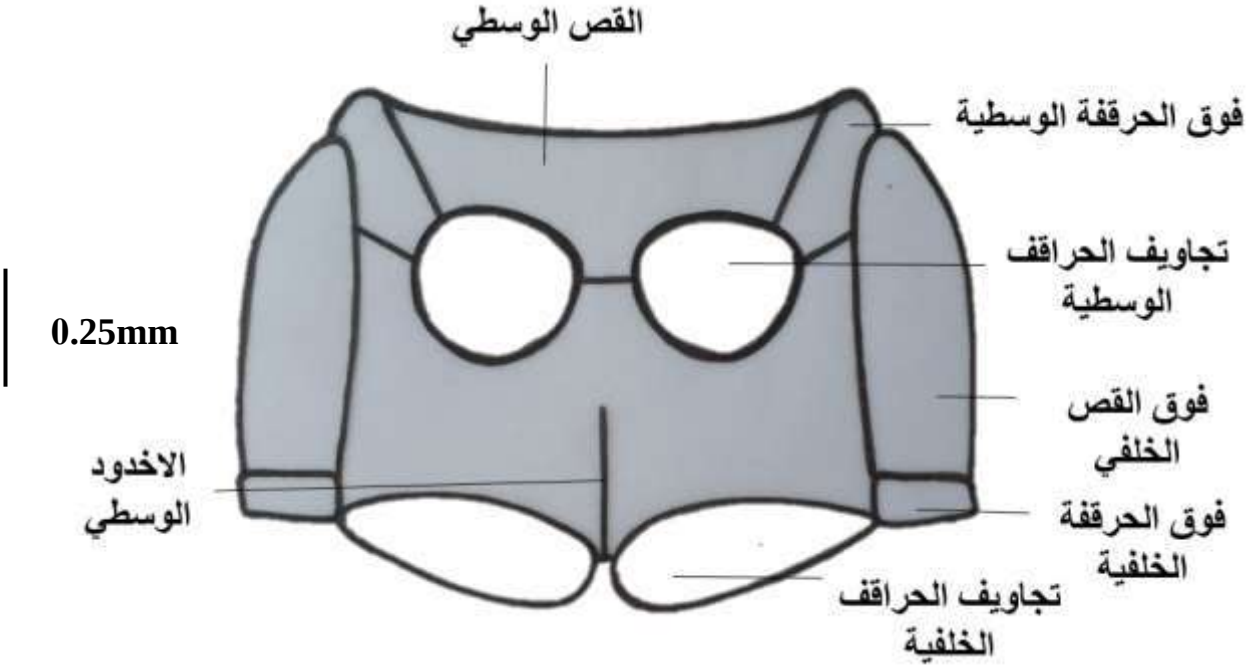
اللوحة (37) قرن الاستشعار لذكر النوع *Trogoderma granarium*



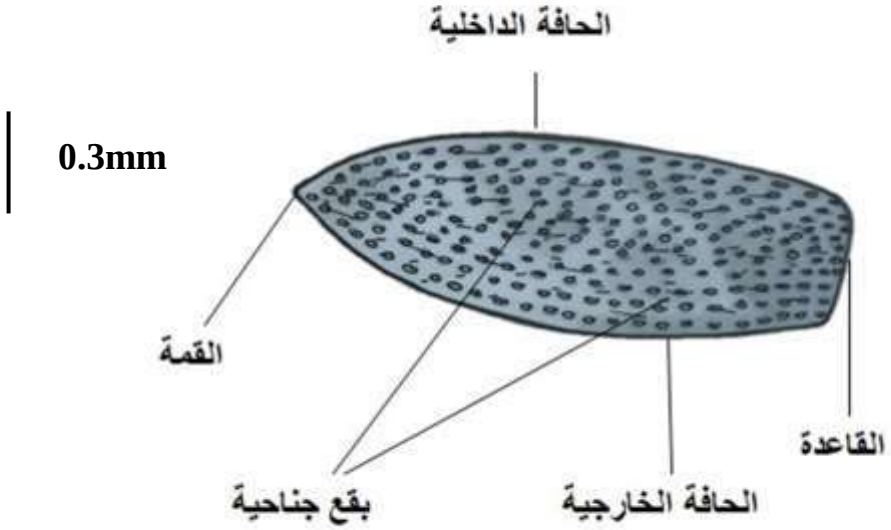
اللوحة (38) قرن الاستشعار لأنثى النوع *Trogoderma granarium*



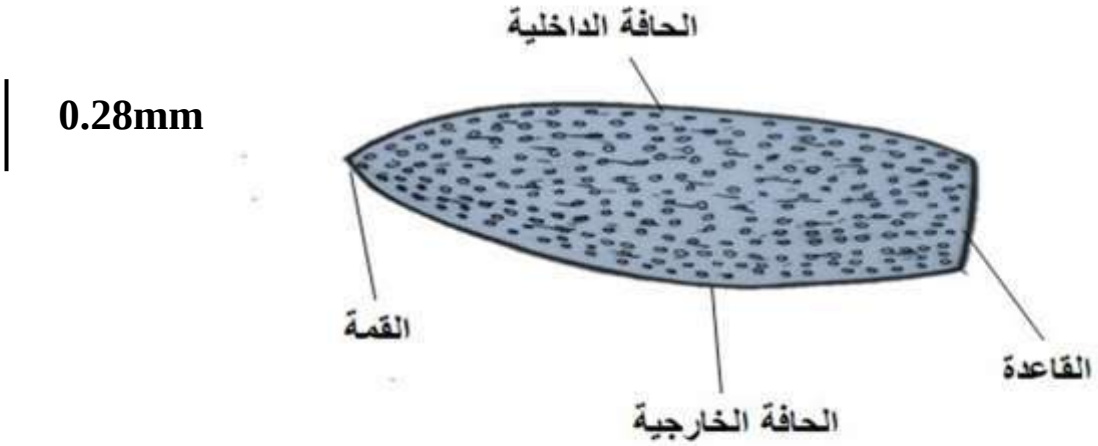
اللوحة (39) ظهر الصدر الامامي Pronotum لذكر النوع *Trogoderma granarium*



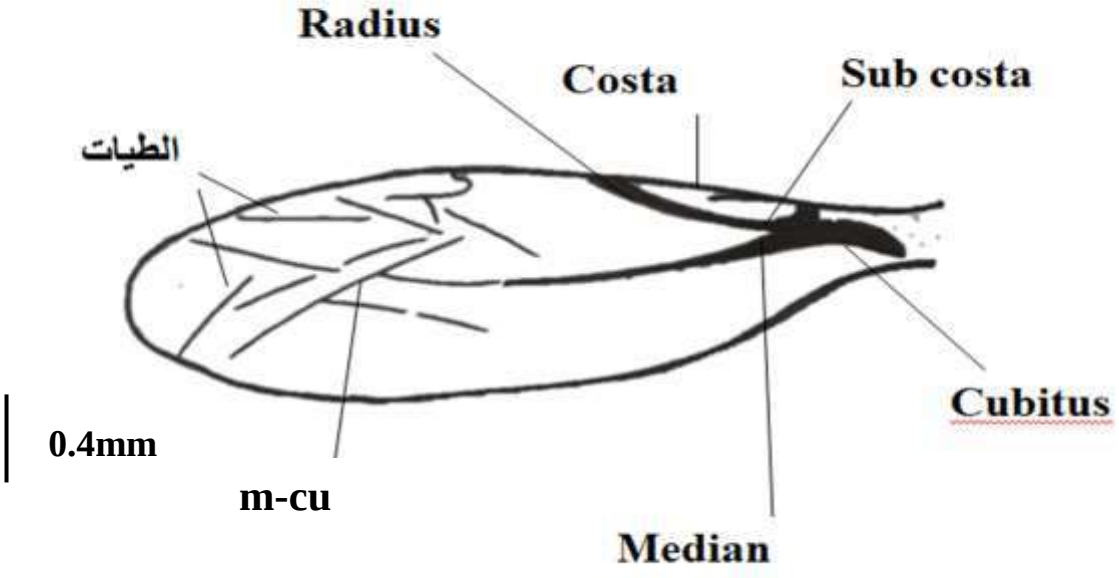
اللوحة (40) الصدر الأوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكر النوع *Trogoderma granarium*



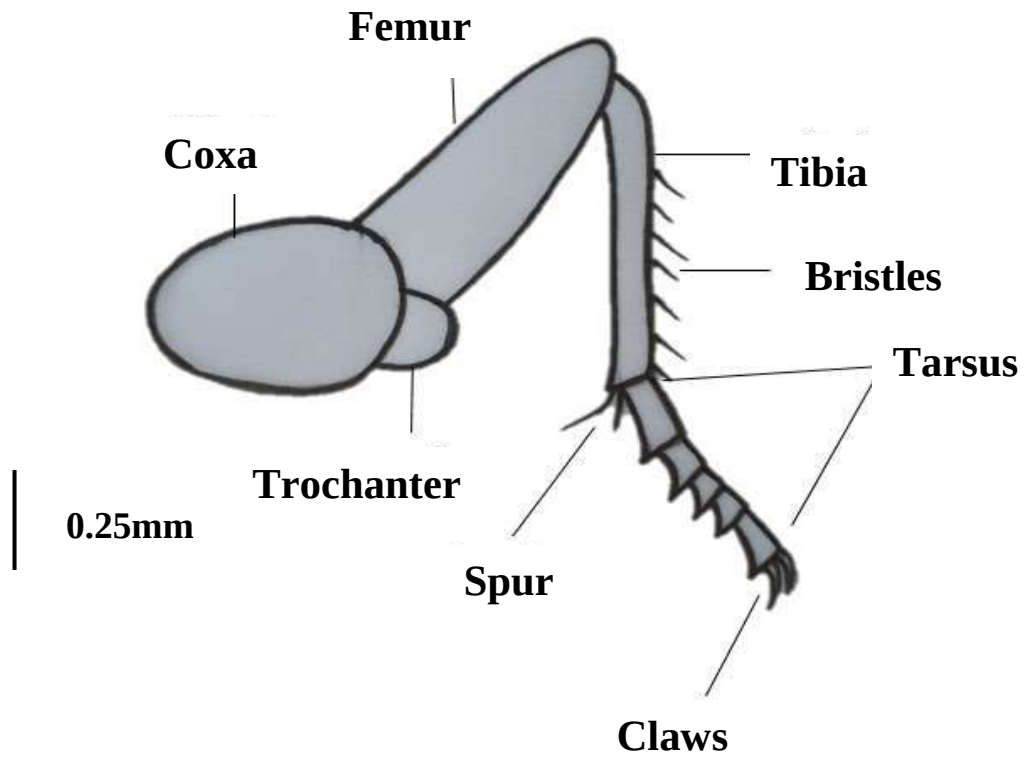
اللوحة (41) الغمد Elytron لذكر النوع *Trogoderma granarium*



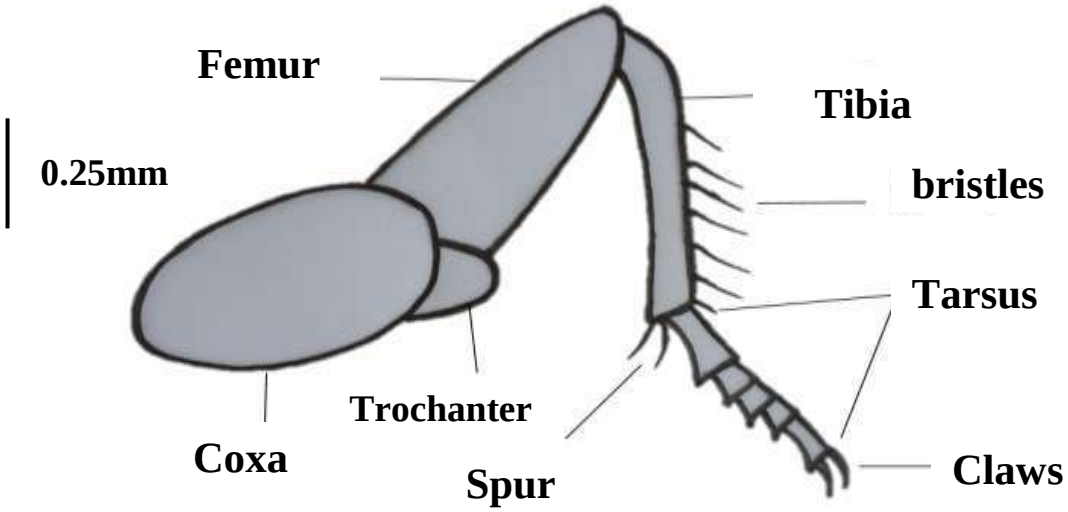
اللوحة (42) الغمد Elytron لأنثى النوع *Trogoderma granarium*



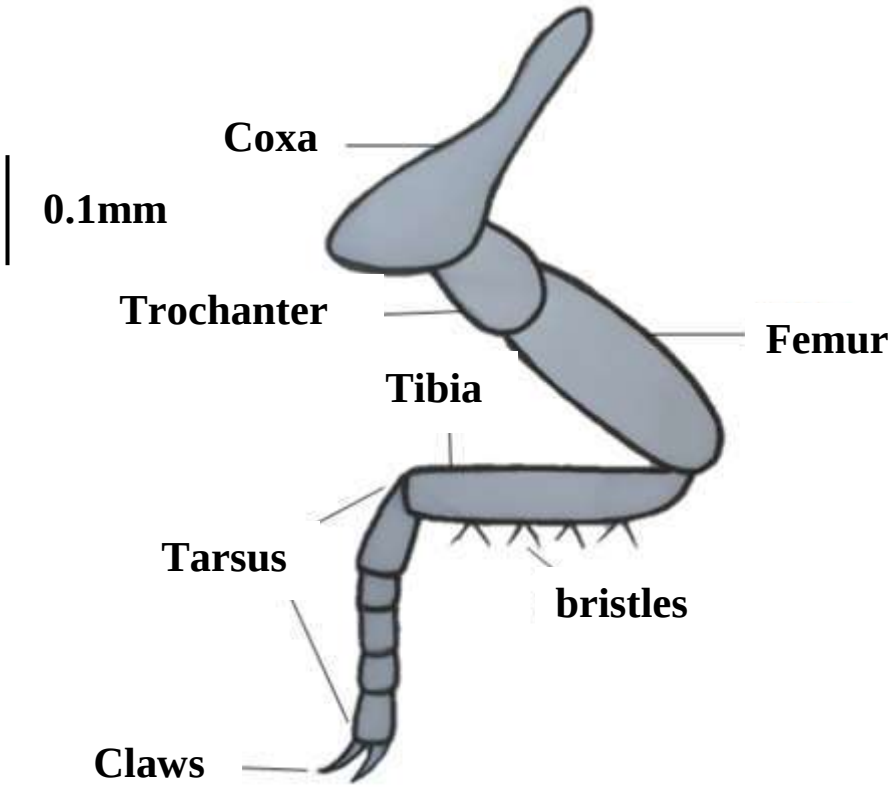
اللوحة (43) الجناح الخلفي الغشائي لذكر النوع *Trogoderma granarium*



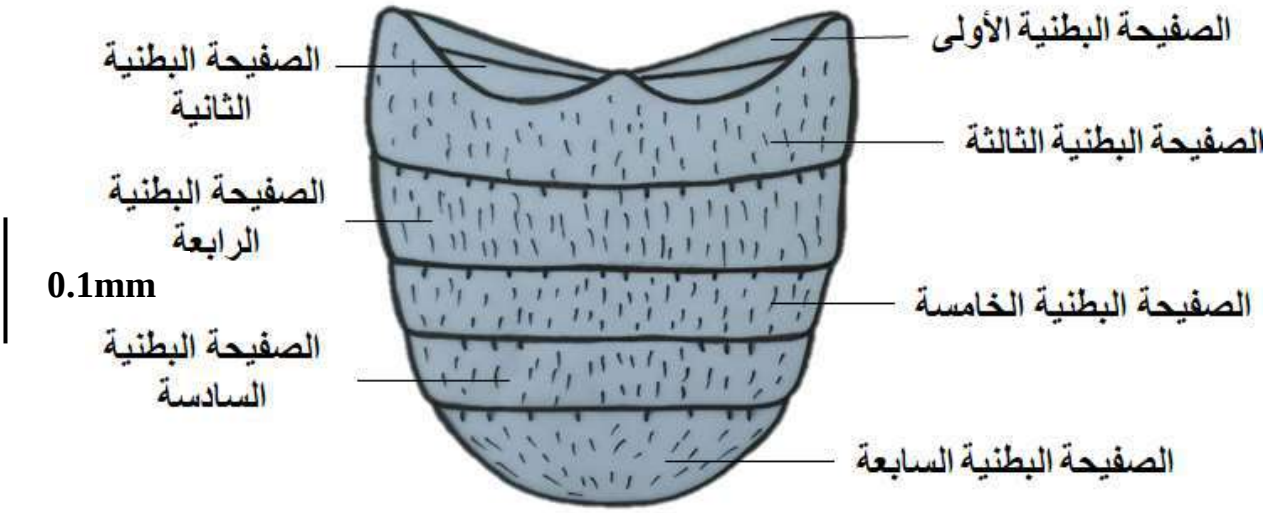
اللوحة (44) الارجل الامامية لذكر النوع *Trogoderma granarium*



اللوحة (45) الارجل الوسطى لذكر النوع *Trogoderma granarium*



اللوحة (46) الارجل الخلفية لذكر للنوع *Trogoderma granarium*



اللوحة (47) البطن لذكر النوع *Trogoderma granarium*

5.1.3- ثاقبة الحبوب الصغرى *Rhyzopertha dominca* (Fabricus,1792)

***Synodendron dominicum* Fabricius, 1792**
***Synodendron pusillum* Fabricius,**
***Ptinus fissicornis* Marsham, 1802**
***Ptinus piceus* Marsham, 1802**
***Apate rufa* Hope, 1845**
***Apate frumentaria* Nördlinger, 1855**
***Bostrychus moderatus* Walker, 1859**

الشكل العام للجسم : صغيرو لونه بين الاسود اللامع إلى (الكستنائي) إلى البني الفاتح ، محدب من الجانب الظهري ، قرون الاستشعار والارجل بنية اللون و أفتح لوناً من بقية اجزاء الجسم ، طوله من 2-2.5 ملم والعرض 0.7-1.2 ملم (صورة16 و17).

الرأس: مثلث من الجانب الامامي ومدور من الجانب الخلفي ، يختفي اسفل الحلقة الصدرية الاولى عند النظر اليه من الاعلى ، الهامة Vertex محدبة تقريباً ،و لها نقر صغيرة بشكل مرتفعات نصف دائرية ، هناك درز بشكل حرف Y من الجهة البطنية ويصل ساق الدرز للحافة الخلفية للرأس ، **العيون المركبة :** سوداء و كبيرة و بارزة على جانبي الرأس ، المسافة بينهما كبيرة من الناحية الظهرية (اللوحة 48).

قرون الاستشعار : 10 عقل ، بني فاتح ، العقلتان الاصل والحامل متساويتان بالحجم تقريبا وأكبر من باقي القطع التي تليها ، تساوى القطع الثالثة لغاية القطعة السابعة ، العقل الثلاث الطرفية تتضخم و على جانب واحد بشكل اسنان كبيرة واضحة (اللوحة 49) .

الصدر: بني غامق إلى بني داكن ،الحلقة الصدرية الاولى محدبة من الجانب الظهري ، بشكل نصف دائري من الحافة الامامية ومقوسة من الحافة الخلفية ، الجانب الامامي عليها نتوءات مرتبة بشكل صفوف تأخذ شكل نصف دائرة تقل بالعدد باتجاه الخلف ، الدريع مربع صغير تتوزع على سطحه نقر صغيرة مكسو بشعيرات قصيرة صفراء اللون ، الجانب البطني للحلقة الصدرية الاولى ضيقة والصفائح الجانبية عريضة ، الحلقة الصدرية الثانية صغيرة والثالثة عريضة وكبيرة (اللوحة 50 و51 و 52).

لواحق الصدر:

الأجنحة الامامية : بنية فاتحة إلى بنية محمرة ، تشبه حبة الفاصوليا ، القاعدة ذا زاوية حادة والقمة مستدقة في الذكور اما في الاناث النهاية الامامية مستطيلة والنهاية الخلفية مثلثة الشكل ، النهاية الخلفية

مقوسة على الحلقات البطنية ، يوجد 9 صفوف من النقر غيرمنتظمة الشكل على طول الغمد تزداد اعدادها كلما اقتربت من قيمة الجناح (اللوحة 53) وفي الاناث هناك 8 خطوط (اللوحة54).

الاجنحة الخلفية : غشائيان و شفافان ، العرق الضلعي واضح بمحاذاة الحافة الامامية ، العرق تحت الضلعي يرتبط مع العرق الكعبري ليكونان في النهاية القريبة من الحافة الخارجية تركيب مثلث الشكل ، يمتد العرق الزندي من المقدمة ولا يصل إلى الحافة الخارجية ، هناك عرق وسطي يمتد من الثلث الاخير للجناح ويكون مع العرق الكعبري العرق الكعبري – الوسطي المستعرض، يوجد عرق صغير قريب من الحافة الداخلية هو ناتج من إلتقاء العرق الخلفي الاول مع الثاني (اللوحة55).

الارجل الامامية : قصيرة و بنية فاتحة إلى بنية غامقة وبعض العينات مائلة إلى الاسود ، الحراقف شبه بيضوية ، المدور مثلث الشكل ، الفخذ عريض وقصير يأخذ شكل اسطواني ،الساق اسطواني و لحافة الداخلية شعيرات قصيرة بنية غامقة و لحافة الخارجية صف من الشوكات البنية الغامقة في الذكر و ينتهي بمهمازين ،الرسغ عبارة عن خمس عقل ، العقلة الاولى قصيرة ، الثانية أكبر من الاولى ، الثالثة والرابعة متساويتان والعقلة الخامسة متطاولة شبه اسطوانية ، المخالب ذات تقوس بسيط (اللوحة 56).

الارجل الوسطى : مشابه للأرجل الامامية ما عدا الحراقف بيضوية الشكل (اللوحة57).

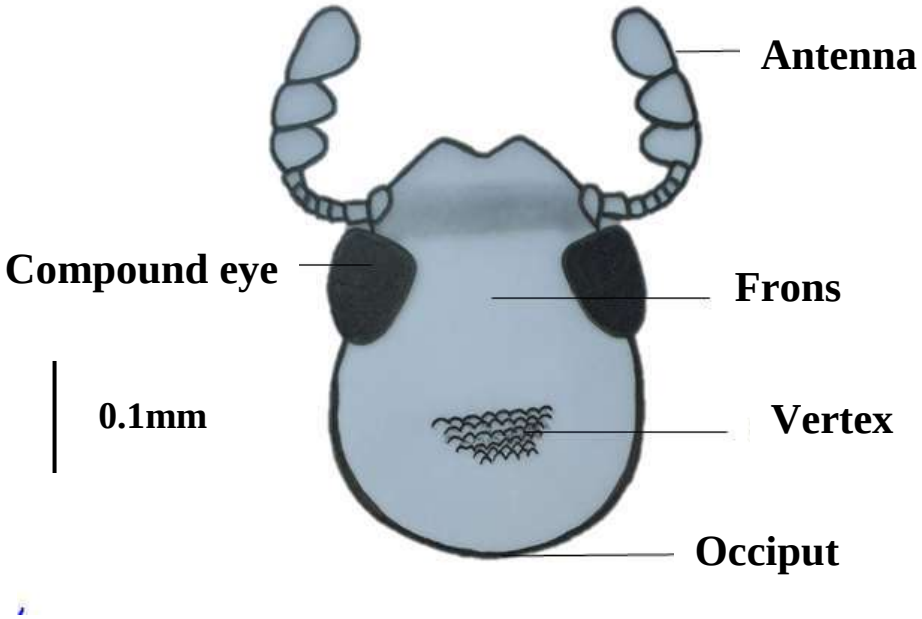
الارجل الخلفية : الحراقف مخروطية وأكثر طولاً واضيق من حراقف الارجل الامامية والوسطى ، المدور صغير مثلث الشكل ، الفخذ عريض عند المنتصف ومتطاول ، الساق أطول من الفخذ و متطاول شبه مثلث ، نهايته الامامية ضيقة في حين الخلفية عريضة ، يحمل مهمازين قصيرين عند حافته الخارجية ، الرسغ خمس عقل تبدو كأنها عقلة واحدة ، العقلة الاخيرة متطاولة و ينتهي بمخالب ناعمة وصغيرة (اللوحة 58).

البطن : بنية فاتحة إلى بنية غامقة ، تشبه الكيس ، خمس عقل أو صفائح عريضة ، الحافة الامامية مقعرة والخلفية محدبة ، الحلقات من 1- 4 متساوية ومتشابهة تقريباً ، وتظهر غالباً الحلقة البطنية الأخيرة خارج الغمد و تحتوي على شعيرات ناعمة دقيقة جداً (اللوحة 59).

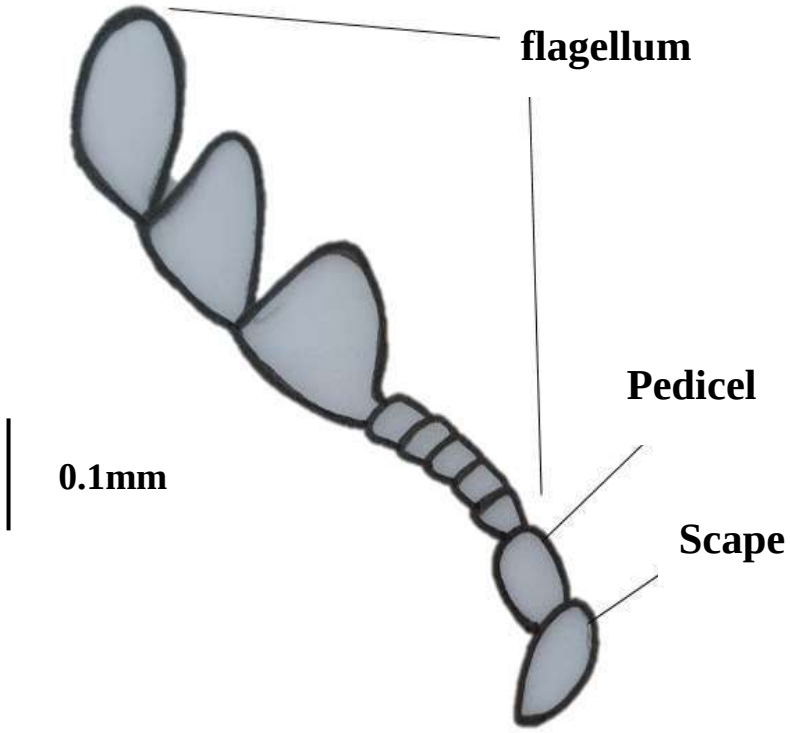
العينات المشخصة : عدد العينات المعزولة 246 حشرة ، 135 من الذكور و 111 من الاناث عزلت من الحنطة والدكة الذي جلبت من الشركة العامة لتجارة الحبوب ورز العنبر الذي جلب من الاسواق المحلية والمركزية للمدة من 2021/1/18 إلى 2021/12/30.

صورة (16) المظهر الظهري لذكر النوع
Rhyzopertha dominica

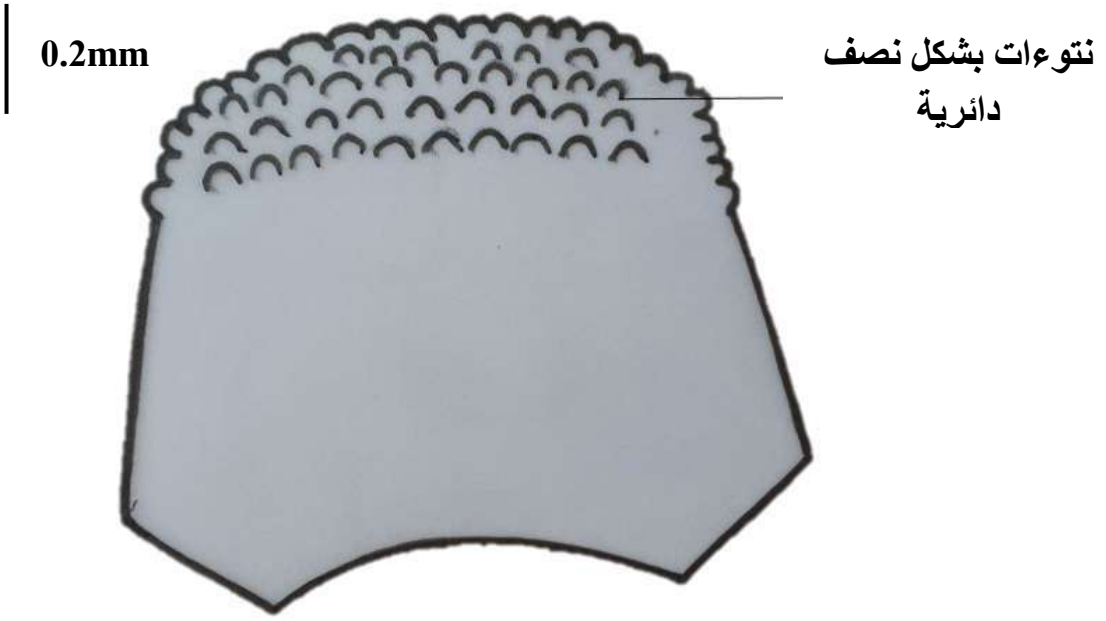
صورة (17) المظهر البطني لذكر النوع
Rhyzopertha dominica



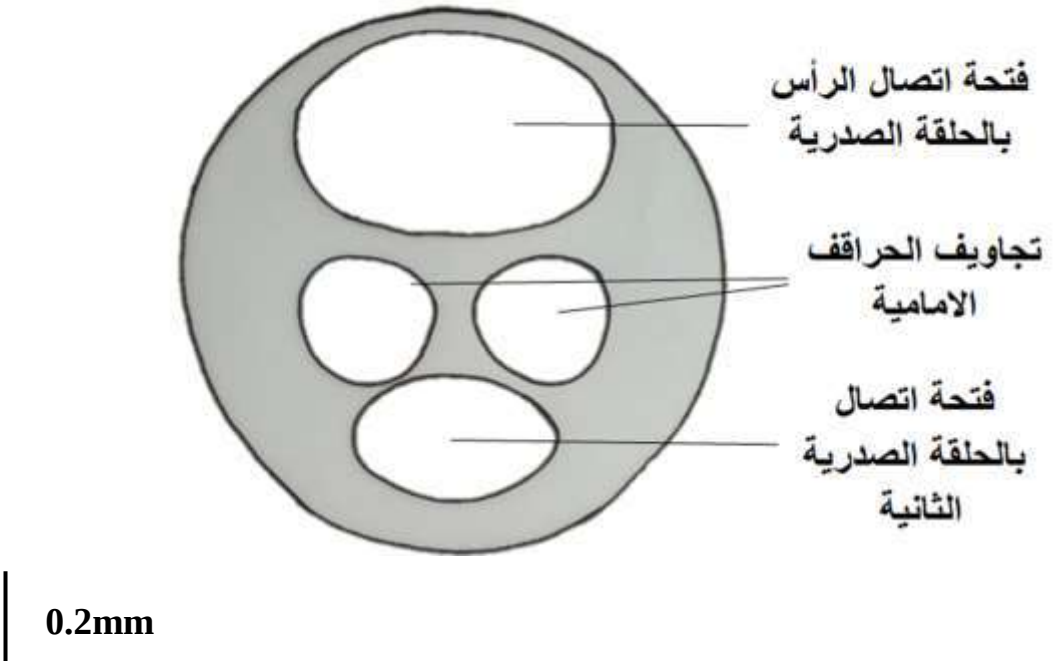
اللوحة (48) الراس وأجزاؤه لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*



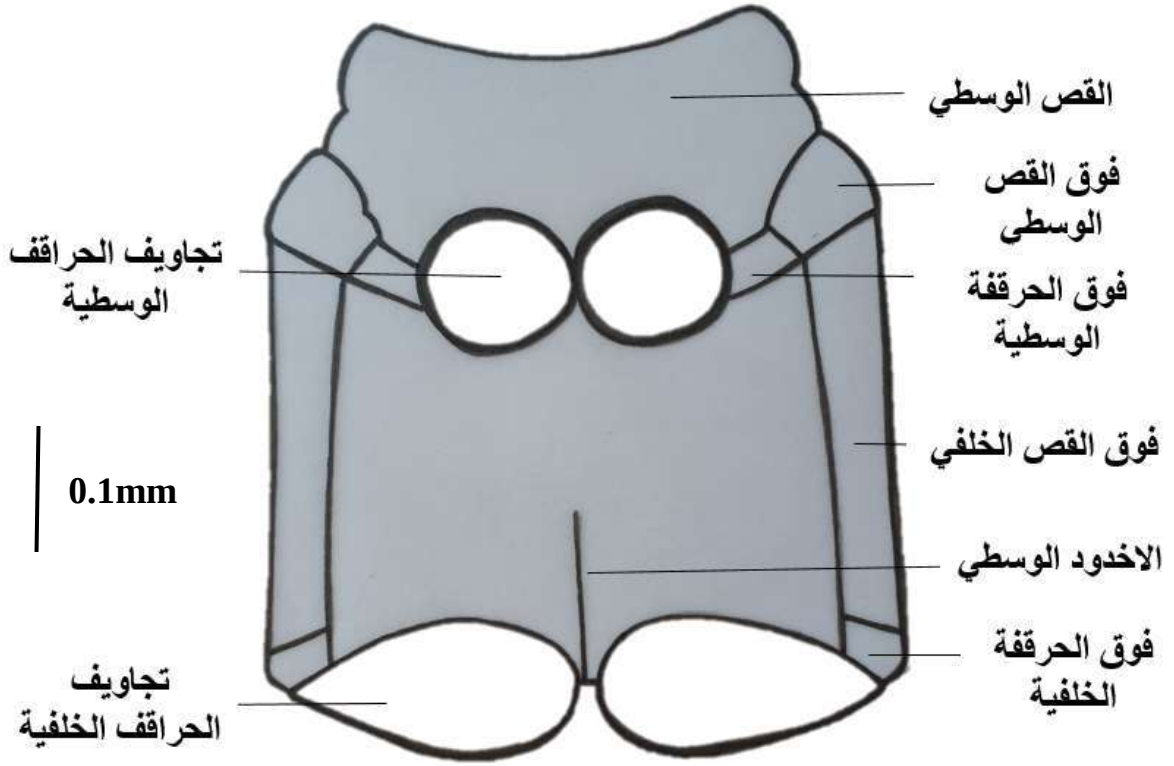
اللوحة (49) قرن الاستشعار لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*



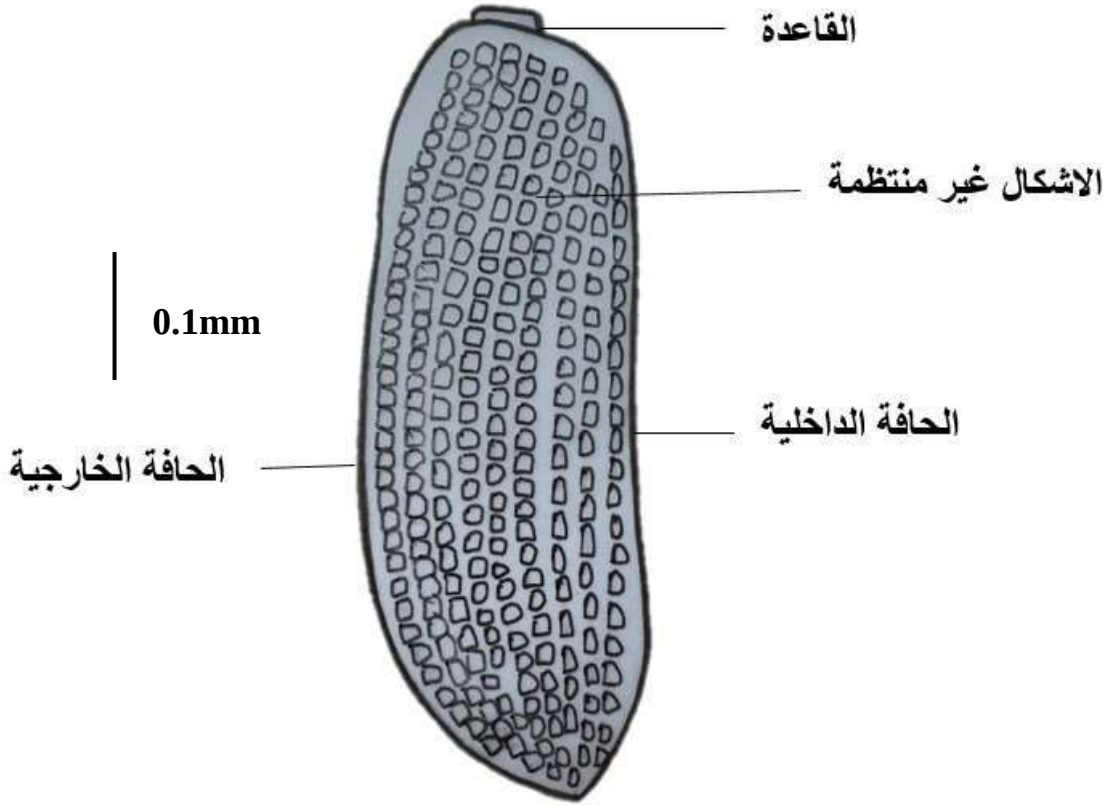
اللوحة (50) ظهر الصدر الامامي Pronotum لذكر للنوع *Rhyzopertha dominica*



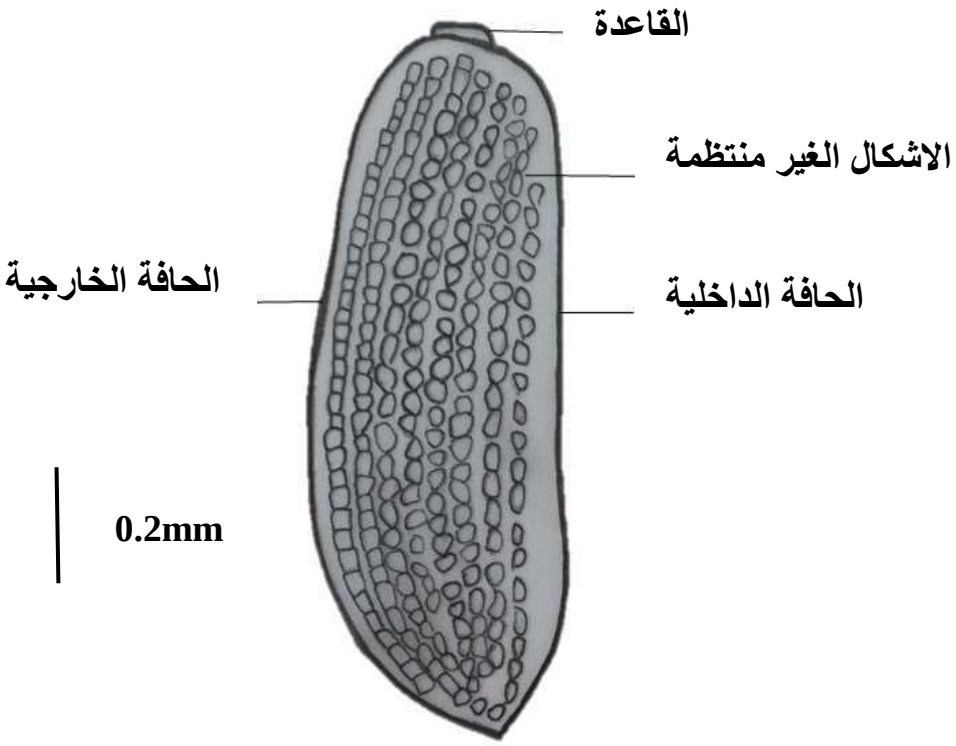
اللوحة (51) الجانب البطني للحلقة الصدرية الأولى لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*



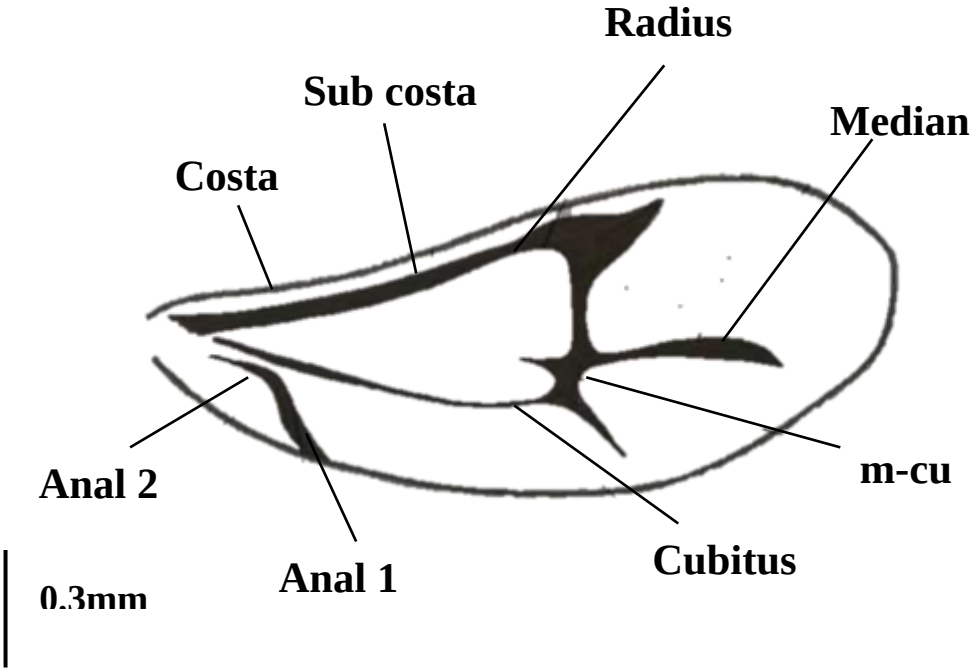
اللوحة (52) الصدر الأوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكرالنوع *Rhyzopertha dominica*



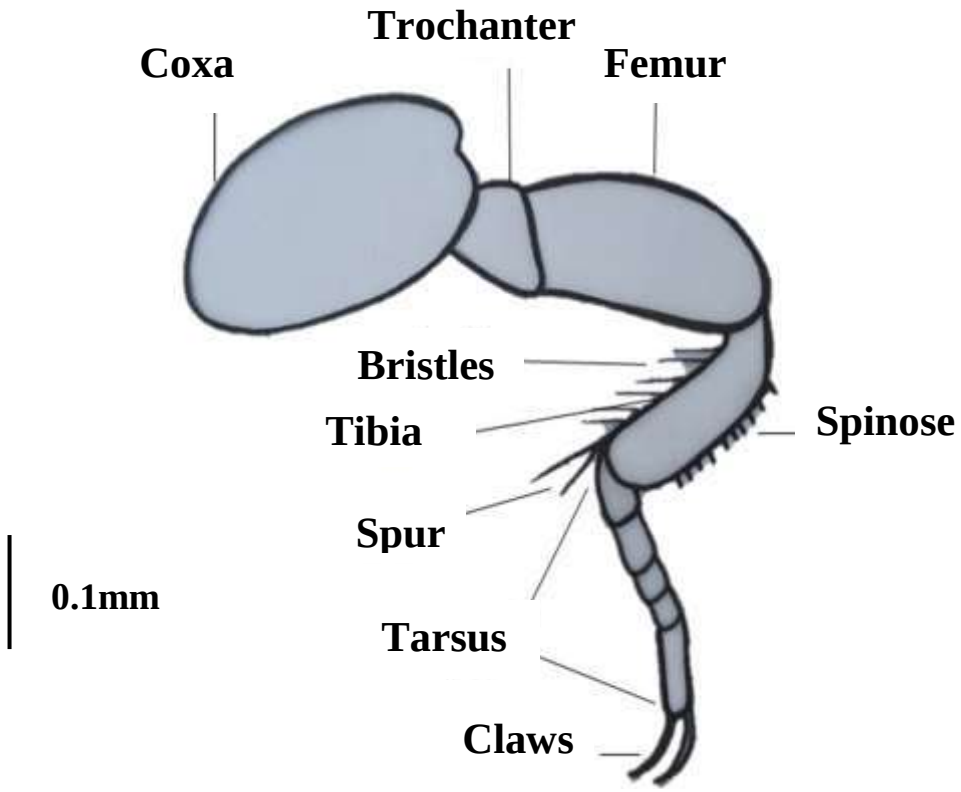
اللوحة (53) الغمد Elytron لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*



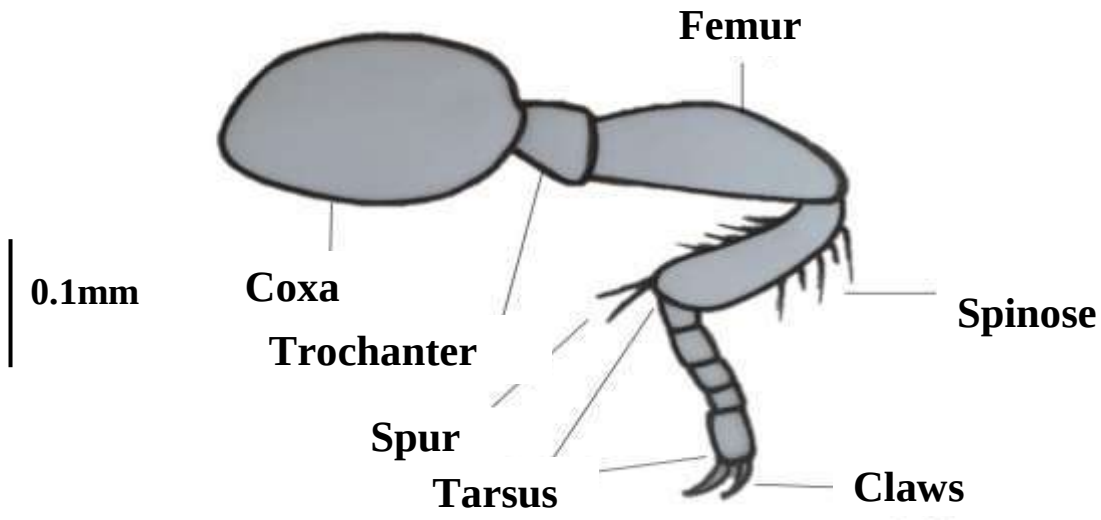
اللوحة (54) الغمد Elytron لأنثى النوع *Rhyzopertha dominica*



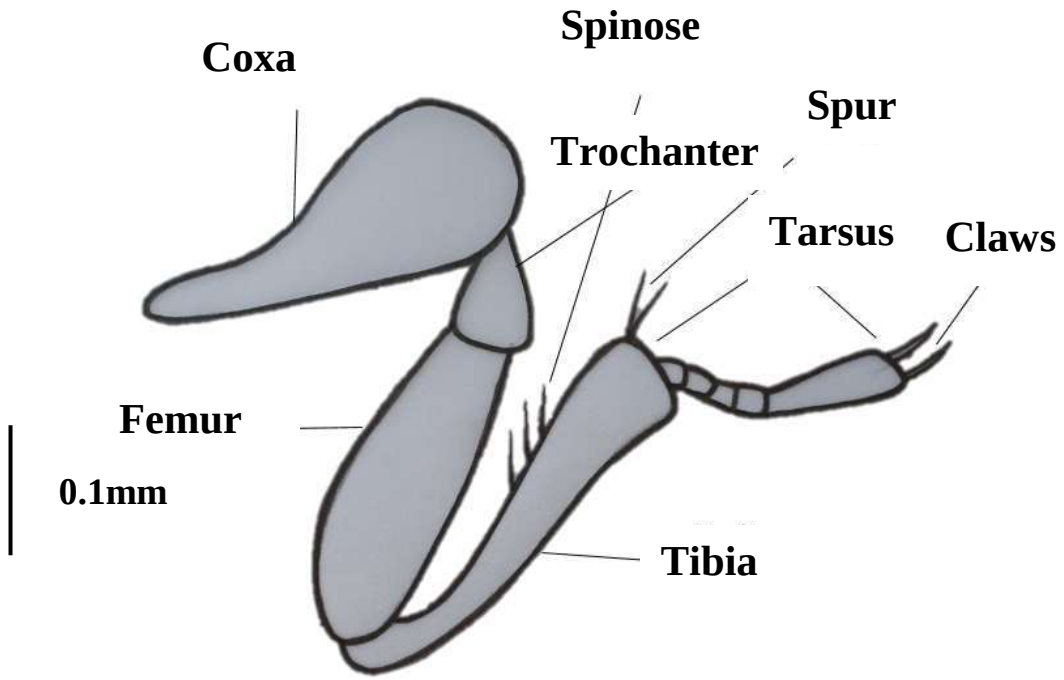
اللوحة (55) الجناح الخلفي الغشائي لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*



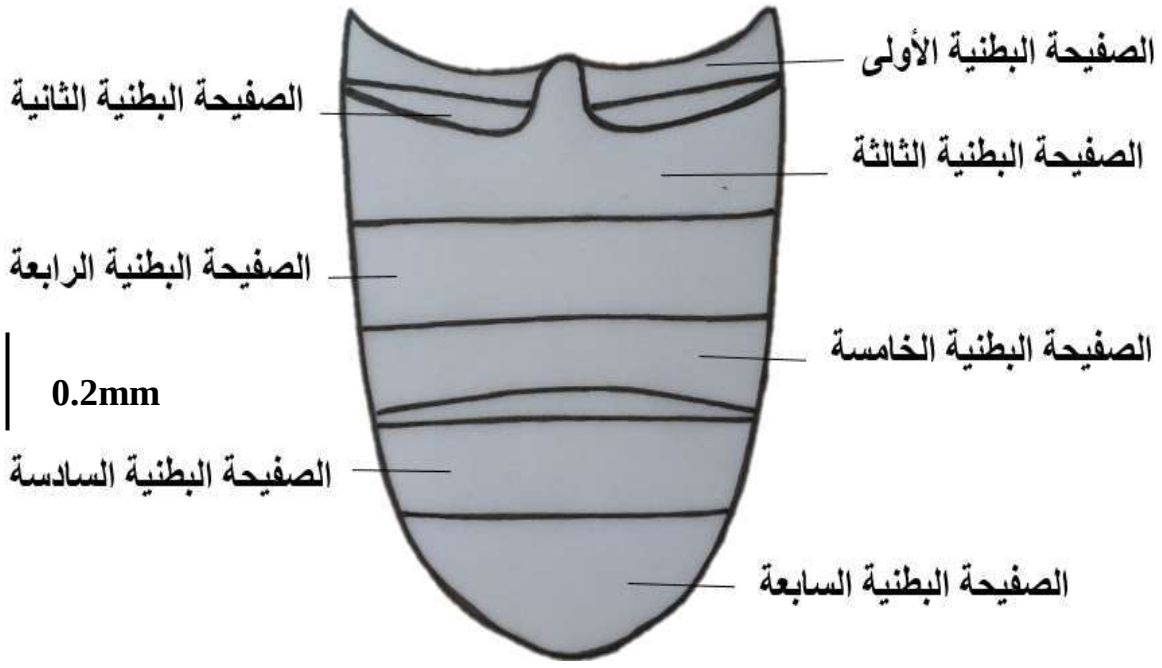
اللوحة (56) الارجل الامامية لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*



اللوحة (57) الارجل الوسطى لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*



اللوحة (58) الارجل الخلفية لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*



اللوحة (59) البطن لذكر النوع *Rhyzopertha dominica*

6.1.3- خنفساء اللوبيا الجنوبية *Callsobruchus maculatus* Fabricius,1775

***Bruchus maculatus* Fabricius,1775**
***Callsobruchus ornatus* Boheman,1829**

الشكل العام للجسم : بني فاتح إلى بني غامق مائل للاحمرار ،بيضوي متسع من الجهة الخلفية ،لسطح الجسم شعيرات تتباين بين اللون الابيض إلى بني مصفر و تكون بقع غير متساوية بالحجم وذات اشكال مختلفة الطول في الاناث 3.5 -4 ملم وفي الذكور 2.5- 3 ملم (صورة 18 و19 و20 و 21 و22).

الراس: صغير الحجم ، بني فاتح إلى بني غامق وبعض الاحيان مائل للأسود ، منطقة الهامة محدبة الشكل غامقة اللون ، **العيون المركبة :** سوداء اللون، ذات شق وسطي و تمتد للجانب الظهري من الرأس مما للجانب البطني ، المسافة بينها من الجهة البطنية أكبر مقارنة بالجهة الظهرية ، عند النظر اليها من الاعلى تبدو شبيه بالمنجل (اللوحة 60).

قرون الاستشعار :11 عقلة و ذات لون بني فاتح إلى بني غامق و منشاري ، الاصل بيضوي بشكل متطاول و قريب من العيون المركبة ، الحامل صغير ، العقل الست الوسطية منشارية متساوية بالطول تقريباً والعقل الأخيرة مثلثة الشكل بالمقلوب ، تسنن العقل واضح في الذكور اكثر مما في الاناث و مغطاة بشعيرات قصيرة مبعثرة ذات لون بني (اللوحة 61).

الصدر : بني غامق إلى اسود، الصفيحة الظهرية للحلقة الصدرية الاولى عريضة ، القمة ضيقة مقارنة بالقاعدة ، الحافة الامامية مقعرة والخلفية متعرجة ، هناك انخفاض عند قاعدة الحلقة الصدرية الاولى و على قاعدتها بقعة بيضاء وعلى سطحها تنتشر نقر مع زغب ذهبية اللون ، الصفائح الجانبية عريضة والبطنية ضيقة الدريع مربع الشكل (اللوحة 62 و63).

لواحق الصدر

الاجنحة الامامية : قوية وشبه بيضوية أو مستطيلة وذات لون بني فاتح مع وجود بقعتين على كل غمد بلون أسود مثلثة الشكل ولهذه السبب سميت بخنفساء اللوبيا ذات الاربع بقع ، مقدمة ومؤخرة الغمد مربعة الشكل ، هناك خطوط مستقيمة من النقر متوازية و عددها بين 10-11 بشكل خط مستقيم (اللوحة 64).

الاجنحة الخلفية : غشائيان و مطويان طولياً تحت الاجنحة الامامية و قليلات العروق الطولية ، العرق تحت الضلعي يمتد من قاعدة الجناح (أسفل الحافة الامامية) ولا يصل إلى الحافة الخارجية ، ينفصل بمسافة ثم يبدأ من الثلث الاخير و يصل إلى الحافة الخارجية ، العرق الكعبري يمتد من منتصف الجناح بصورة مائلة ولا يصل إلى الحافة الداخلية ، العرق الوسطي يمتد في نهاية الجناح وينتهي بالحافة الداخلية

، العرق الزندي يمتد من المقدمة و يميل ولا يصل للحافة الداخلية ، لا توجد عروق مستعرضة وهناك طيتان قرب حافته الخارجية (اللوحة 65) .

الارجل الامامية : ذات لون بني فاتح إلى بني محمر ، الحراقف عريضة بيضوية بشكل متطاول ، المدور مثلث وذو لون بني أغمق من بقية أجزاء الارجل ، الفخذ اسطواني متطاول ، هناك بقعة داكنة عند قاعدته في مكان ارتباطه بالساق ، ، الساق رفيع وطويل و نهايته الامامية ضيقة مقارنة بنهاية الخلفية العريضة ، ويحمل مهمازين قصيرين في قاعدته ، الرسغ خمس عقل ، العقلتين الاولى والثانية متداخلة و الاولى أطول من الثانية ، الثالثة ذات فصين ، العقلة الرابعة صغيرة ومختفية بين العقلة الثالثة و الخامسة متطاولة وتحمل مخلبين مقوسين (اللوحة 66).

الارجل الوسطى : مشابه للأرجل الامامية ماعدا الحراقف بيضوية بشكل متطاول ، الساق اطول من الفخذ ، ينتهي الرسغ بزوج من المخالب الناعمة والدقيقة ، (اللوحة 67).

الارجل الخلفية : بنية مائلة إلى الاسود ، الحراقف عريضة وكبيرة ، المدور مثلث و يبدو كجزء من الفخذ ، حافة الفخذ الداخلية ملساء وزائدة القريبة من القمة كبيرة ، الساق مثلث قصير الحجم، القاعدة ضيقة مقارنة بالقمة الاكثر عرضاً ، والمهماز عند قمته (اللوحة 68).

البطن : بنية محمرة إلى سوداء ،من سبعة صفائح ظهرية ، الصفائح الست المستعرضة غشائية و الحافة الخلفية للصفيحة الاخيرة محدبة ، تظهر الصفائح مضغوطة مع بعضها ، مواضع انغراس الحراقف عميقة وواضحة وكبيرة ، تظهر الحلقة البطنية الاخيرة خارج الغمد في الاناث ، ولها بقعتان سوداويتان وكبيرتان في الاناث وهذا غير موجود في الذكور (اللوحة 69 و70 و71).

العينات المشخصة : عدد العينات المعزولة 420 حشرة ، 125 من الذكور و 205 من الاناث عزلت من حبوب الحمص واللوبيا البيضاء و الحمراء و الفاصوليا التي جلبت من الاسواق المحلية والرئيسية للمدة من 2021/1/18 إلى 2021/7/5.

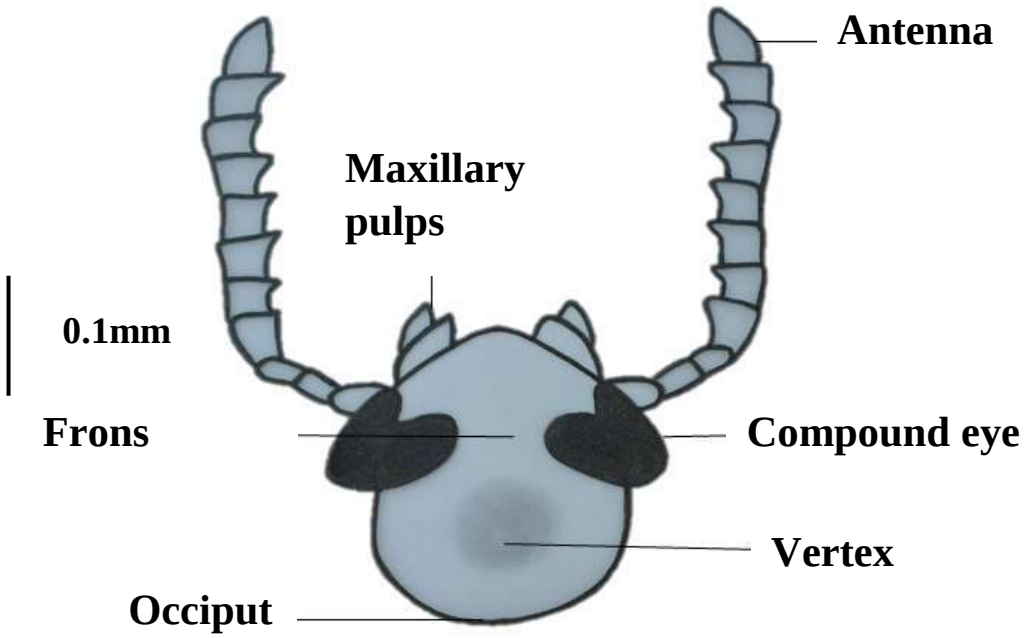
صورة (18) المظهر الظهري لأنثى للنوع *Callsobruchus maculatus*

صورة (19) المظهر البطني لأنثى للنوع *Callsobruchus maculatus*

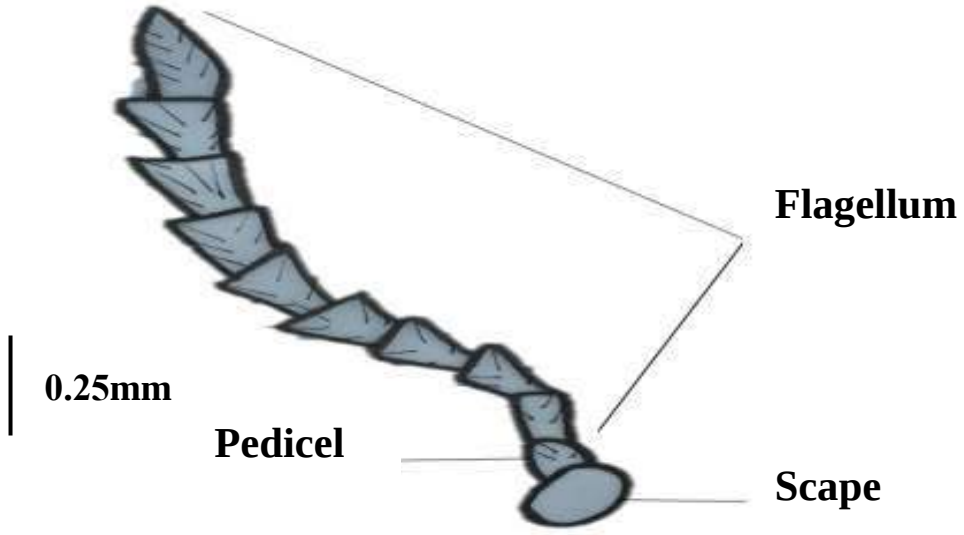
صورة (20) المظهر الجانبي لأنثى للنوع *Callsobruchus maculatus*

صورة (22) المظهر البطني لذكر النوع
Callsobruchus maculatus

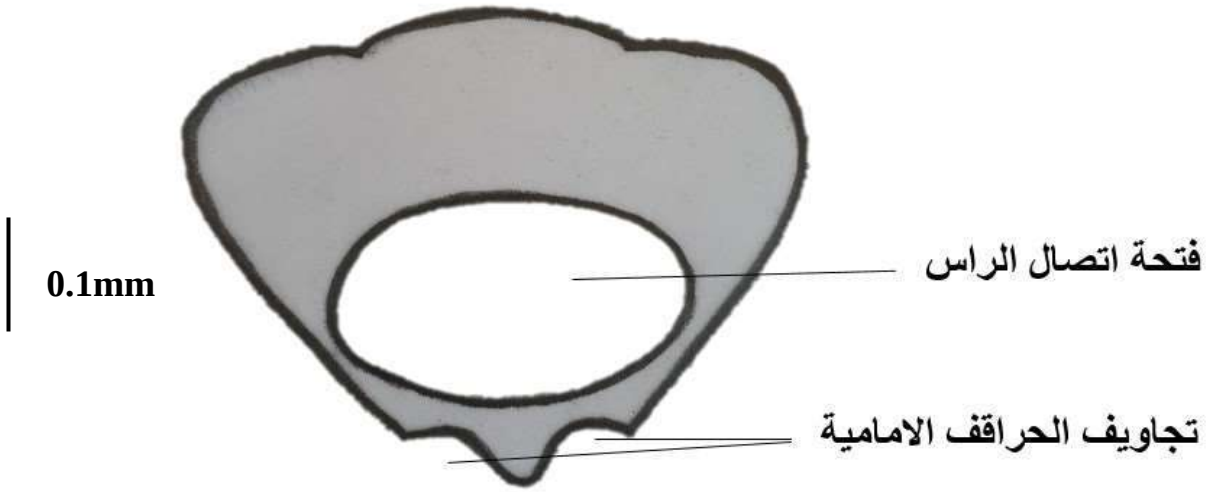
صورة (21) المظهر الظهري لذكر النوع
Callsobruchus maculatus



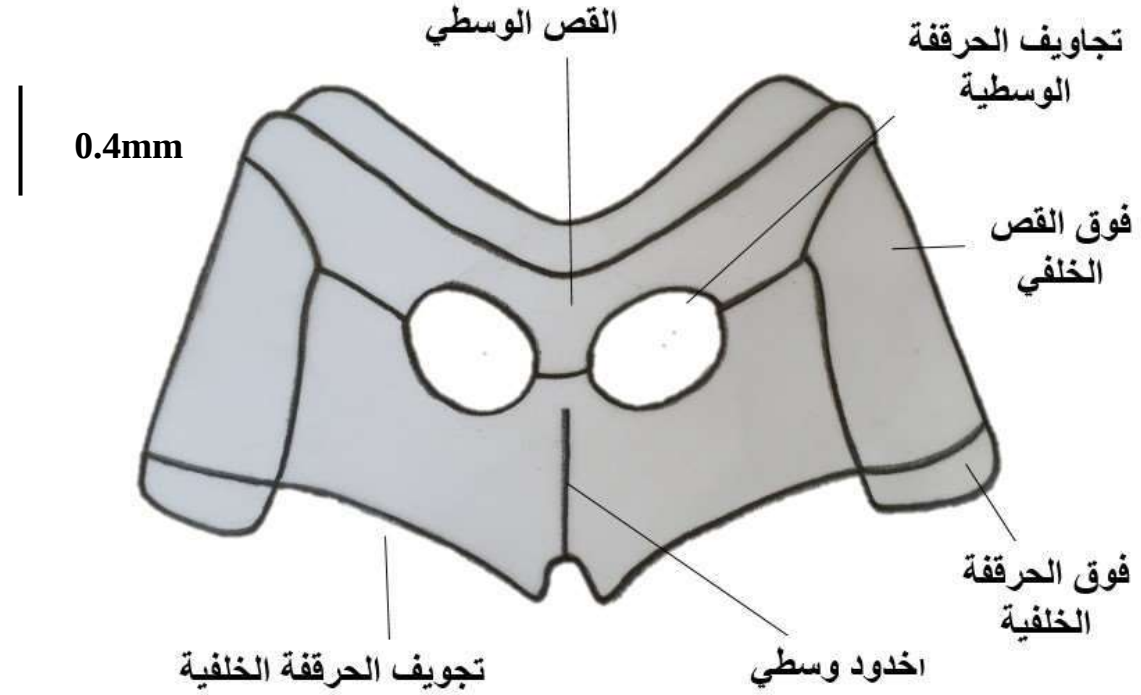
اللوحة (60) الرأس وأجزاؤه لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*



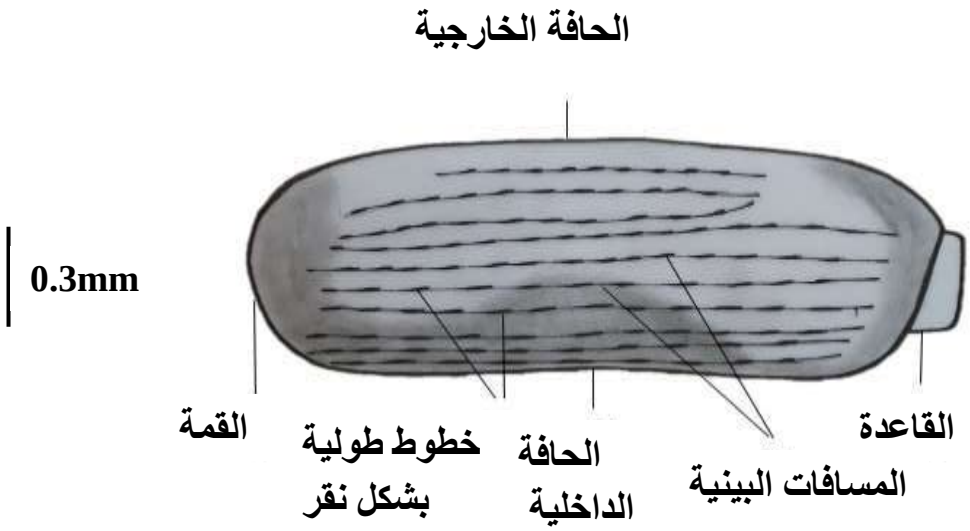
اللوحة (61) قرن الاستشعار لذكرالنوع *Callsobruchus maculatus*



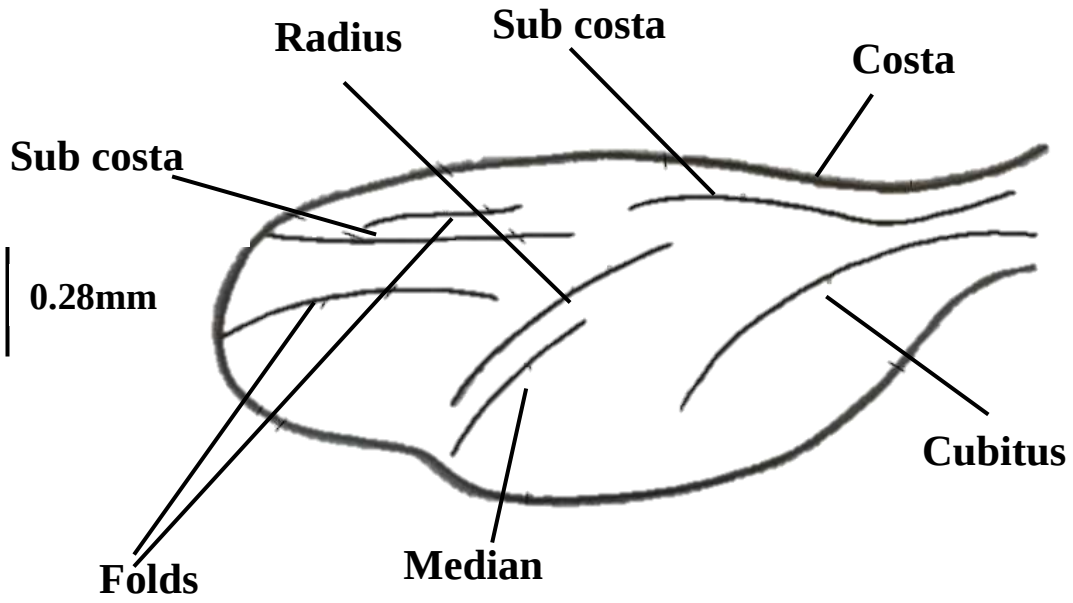
اللوحة (62) ظهر الصدر الامامي لذكر للنوع *Callsobruchus maculatus*



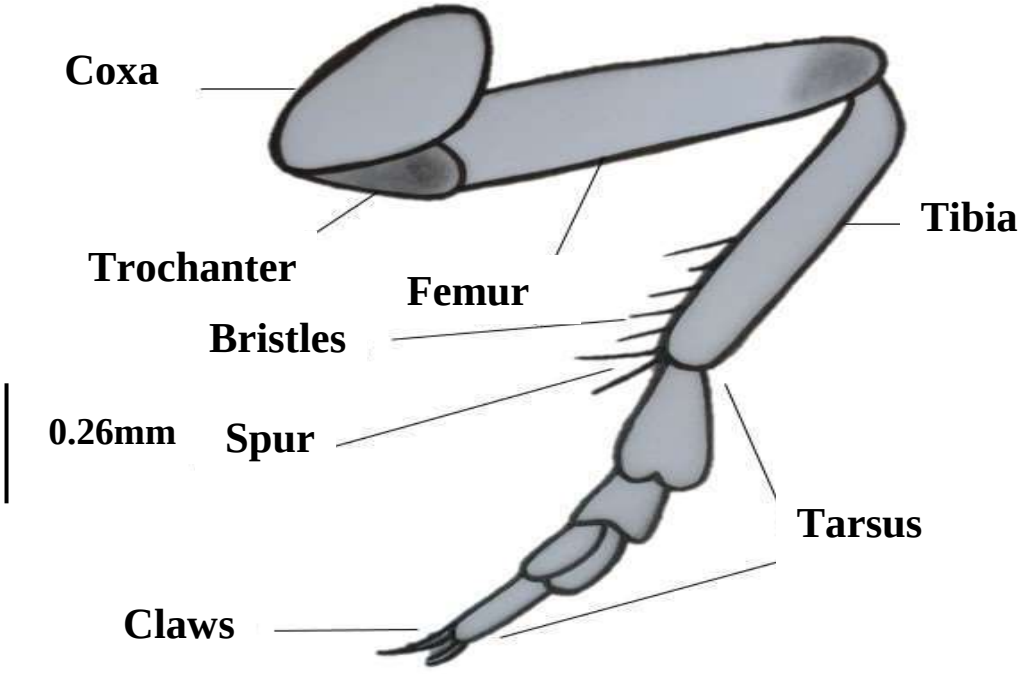
اللوحة (63) الصدر الأوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكرالنوع *Callsobruchus maculatus*



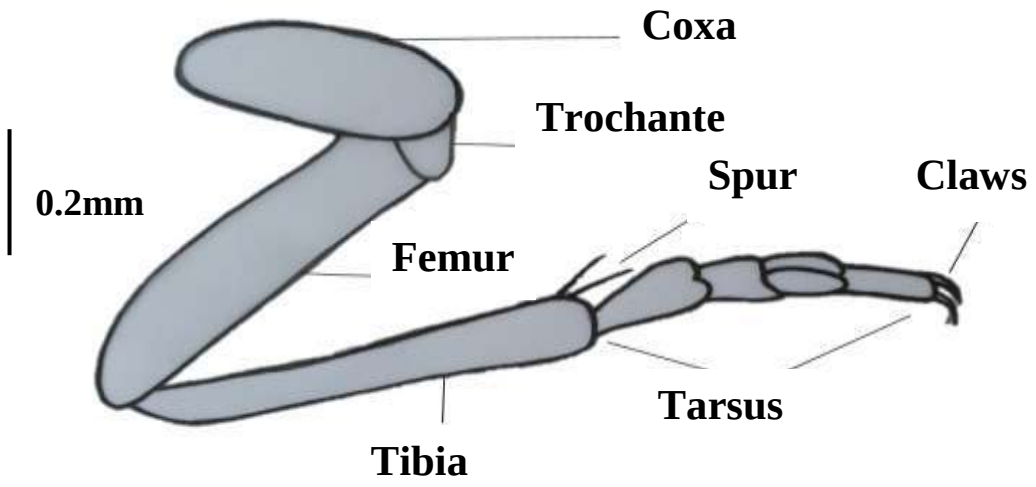
اللوحة (64) الغمد Elytron لأنثى النوع *Callsobruchus maculatus*



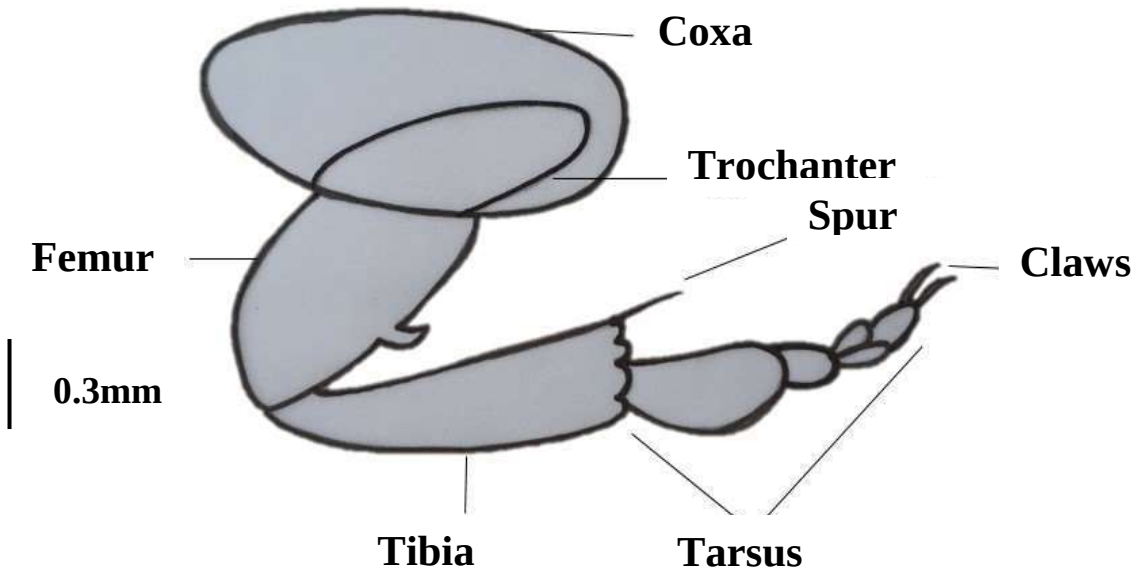
اللوحة (65) الجناح الخلفي الغشائي لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*



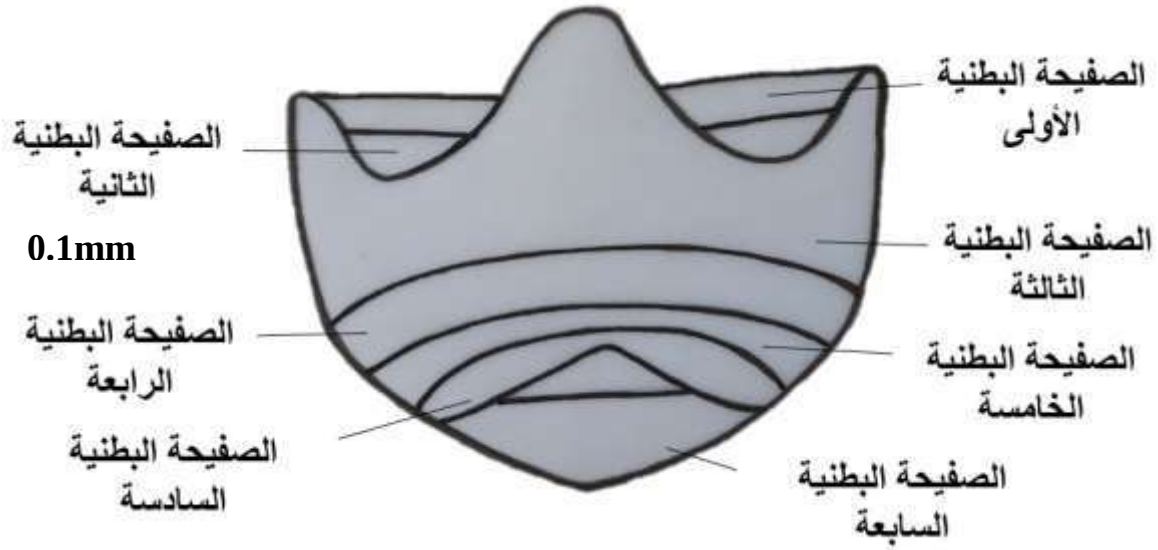
اللوحة (66) الارجل الامامية لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*



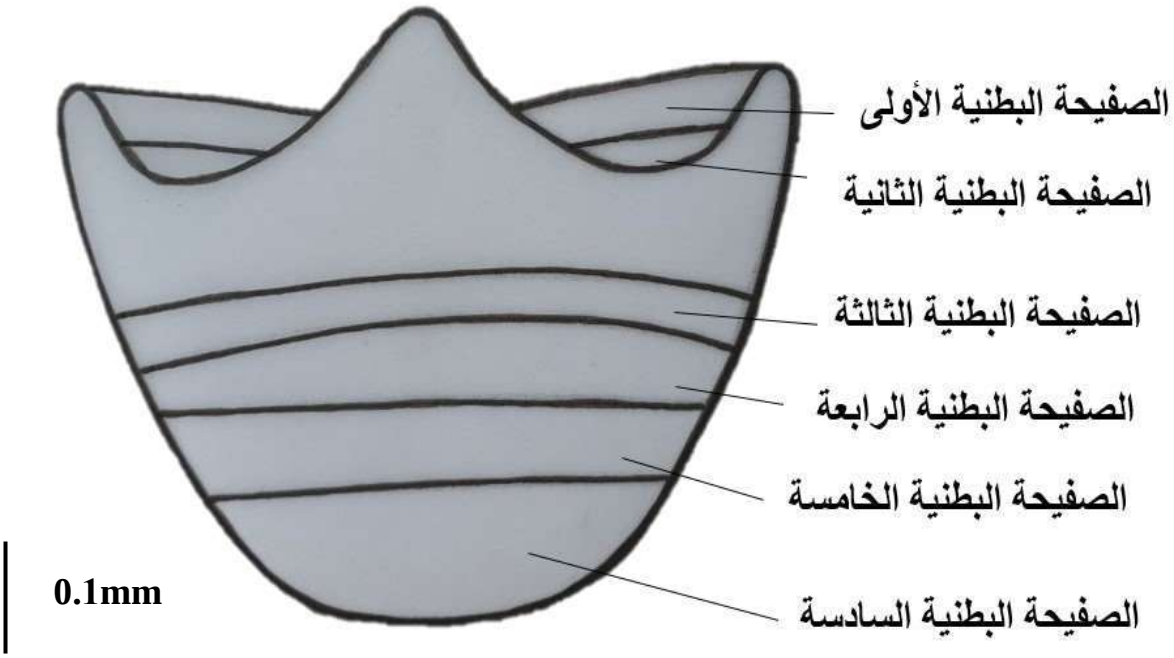
اللوحة (67) الارجل الوسطى لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*



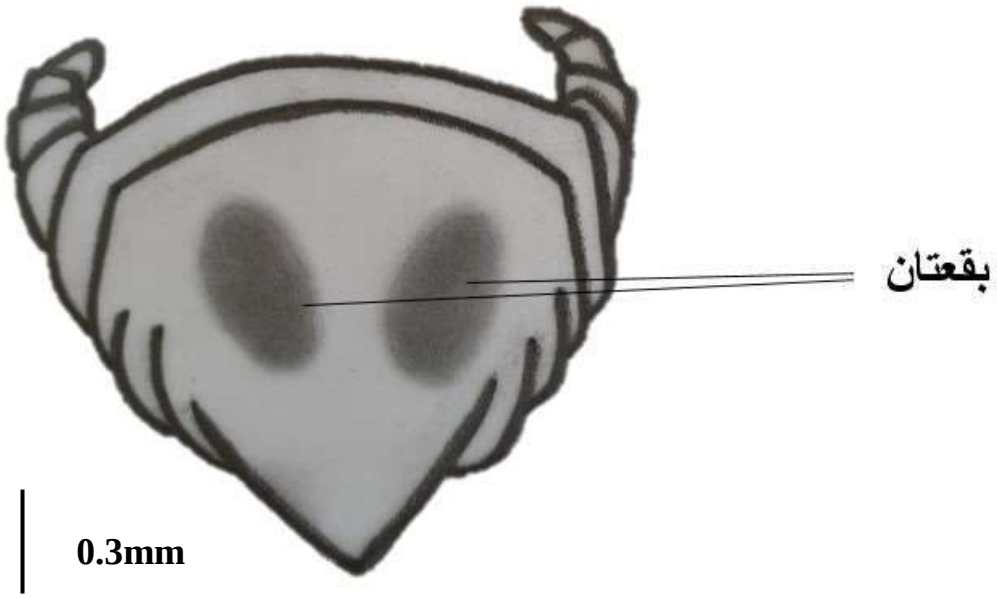
اللوحة (68) الارجل الخلفية لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*



اللوحة (69) البطن لذكر النوع *Callsobruchus maculatus*



اللوحة (70) المظهر البطني لبطن أنثى النوع *Callsobruchus maculatus*



اللوحة (71) الحلقة البطنية الأخيرة لأنثى النوع *Callsobruchus maculatus*

7.1.3- خنفساء الحبوب المفلطحة

***Cryptolestes ferrugineus* Stephanus ,1831**
***Cucujus ferrugineus* Stephens ,1831**
***Laemophloeus alluaudi* Grouvelle,1906**
***Laemophloeus carinulatus* Wollaston ,1877**
***Laemophloeus concolor* Smith,1851**
***Laemophloeus emgei* Reitter,1887**
***Laemophloeus exilis* Rey,1899**
***Cucujus monilicornis* Stephens,1831**
***Laemophloeus obsoletus* Smith,1851**
***Laemophloeus perplexus* Rey,1889**
***Laemophloeus testaceus* Paykul,1799**

الشكل العام للجسم : بني فاتح إلى بني محمر ، متطاول و اسطواني ، تنتشر على كامل الجسم نقر صغيرة بمسافات متباينة، ، طول الذكر 1.2- 2ملم (صورة 23 و24).

الرأس: شبه مثلث ، عريض من القاعدة والجوانب و مستدق من القمة ، نهايته الخلفية عريضة في حين الامامية ضيقة ، و يستقر في ثلم عريض للحلقة الصدرية الاولى ، الملامس الشفوية بشكل انياب مقوسة للداخل . **العيون المركبة :** صغيرة الحجم و سوداء اللون ونصف دائرية ، قريبة من الحافة الامامية للحلقة الصدرية الاولى ، المسافة بينهما من الجهتين كبيرة ومتساوية (اللوحة 72).

قرون الاستشعار : 11عقلة ،الاصل بيضوي ، الحامل اصغر من الاصل ، العقل من 3-5 متساوية تقريباً وشكلها دائري ، العقلة السادسة صغيرة شبه مثلثة ، العقلتان السابعة والثامنة شبه منتظمة و متساوية تقريباً والعقلة الاخيرة متطاولة بيضوية و اصغر من العقلتين السابعة و الثامنة (اللوحة 73).

الصدر : الحافة الامامية للصفيحة الظهرية للحلقة الصدرية الاولى اكثر عرضاً مقارنة الحافة الخلفية ، تتوزع نقر صغيرة على الحلقة الصدرية بالكامل ، حراقف الارجل الامامية تستقر في الحافة الخلفية في الجانب البطني للحلقة الصدرية الاولى ، المسافة بين حراقف الارجل كبيرة ، الحلقة الصدرية الثانية صغيرة والثالثة مثلثة و كبيرة ، تستقر حراقف الارجل الوسطى في الحافة الخلفية للحلقة الصدرية الثانية وحراقف الارجل الخلفية تنغرس في الحد الفاصل بين الحلقة الصدرية الثالثة وقص الصفيحة البطنية الأولى (74 و75 و76) .

لواحق الصدر : الاجنحة الامامية : مستطيلة و متطاولة و بنية فاتحة تميل إلى البني الغامق ، تسعة خطوط طولية تمتد على الاغماد بشكل خط مستقيم ، هناك نقشات سداسية الشكل على سطحه وتزداد هذه المنقوشات وتصبح أكثر وضوحاً عند حوافه الجانبية (اللوحة77).

الاجنحة الخلفية : شفافان و مطويان تحت الاغماد الامامية ، ولها طية كبيرة عند الحافة الخارجية ، العرق الضلعي يمتد بمحاذاة الحافة الامامية والعرق تحت الضلعي يمتد من قاعدة الجناح مع العرق الضلعي ليكونان شكلاً ذا راس بيضوي في مقدمة الجناح و يمتد ولكنه لا يصل إلى الحافة الخارجية (اللوحة 78).

الارجل الامامية : بنية فاتحة إلى غامقة ، الحراقف بيضوية ، المدور مثلث و صغير و أغمق لوناً من بقية الاجزاء ، مقدمة الفخذ ضيقة متطاولة في حين نهايته الخلفية عريضة ومدببة ،مقدمة الساق ضيقة مقارنة بالجانب الخلفي ، هناك مهمازان صغيران عند ارتباط الساق بالرسغ ، الرسغ خمس عقل ، العقل الاربع تتدرج بالحجم ، الثالثة والرابعة اصغر من العقلتين الاولى والثانية ، عقلة الرسغ الاخيرة متطاولة و ينتهي بزوج من المخالب شبه المقوسة (اللوحة79).

الارجل الوسطى : مشابه للأرجل الامامية ماعدا الحراقف أكثر بيضوية وبشكل متطاول والفخذ أكثر عرضاً عند نهايته الخلفية (اللوحة 80).

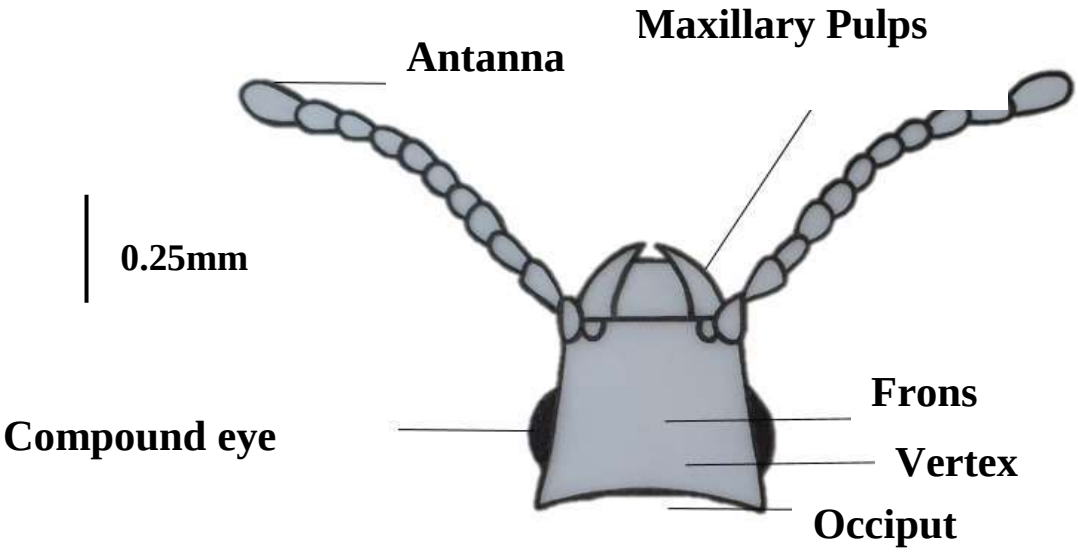
الارجل الخلفية : الحراقف بيضوية بشكل متطاول ، المدور مثلث و صغير، يبدو إلى الحراقف ، الفخذ ضيق عند القمة واكثر عرضاً عند القاعدة ، الساق متطاول واقل عرضاً من الفخذ ، الرسغ من اربع عقل في الذكور و في الاناث من خمس عقل ، الاولى اصغر من الثانية والثالثة والرابعة شبه مثلثة وصغيرة أما الاخيرة فمتطاولة وتنتهي بزوج من المخالب المقوسة (اللوحة 81 و 82).

البطن : خمس حلقات صغيرة ، حراقف الارجل الخلفية تنغرس في الصفيحة القصية البطنية الثالثة و لا تقسم الصفيحة البطنية ، الحلقة الأولى اعرض واكبر من بقية الحلقات ، الحلقة الأخيرة نهايتها بيضوية (اللوحة 83)

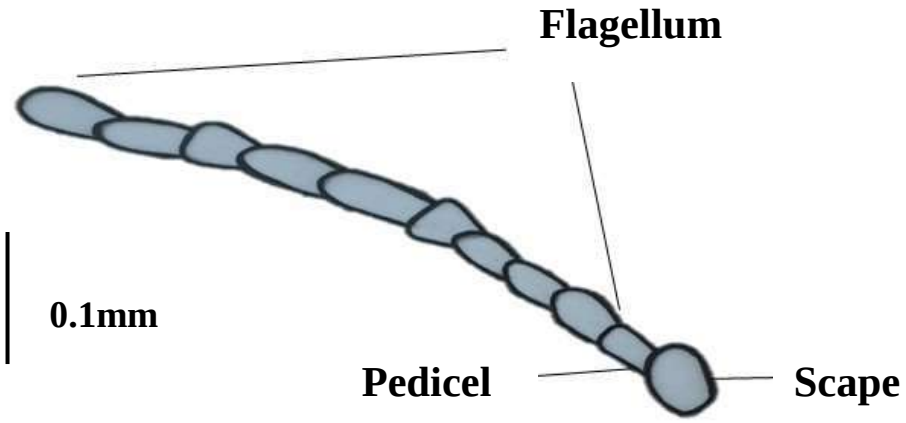
العينات المشخصة : عدد العينات المعزولة 5 حشرات ، 3 من الذكور و2 من الاناث عزلت من التمر المجفف الذي جلب من الاسواق المحلية والمركزية للمدة 2021/3/15إلى 2021/7/5.

صورة (23) الجانب الظهري لذكر النوع
Cryptolestes ferrugineus

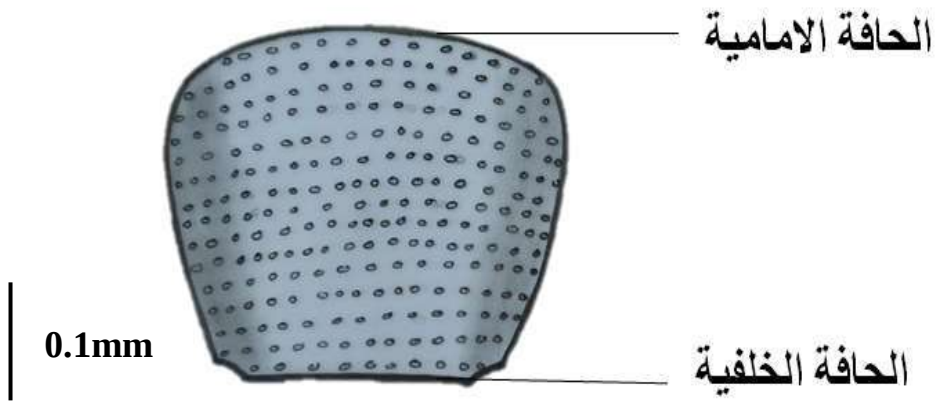
صورة (24) الجانب البطني لذكر النوع
Cryptolestes ferrugineus



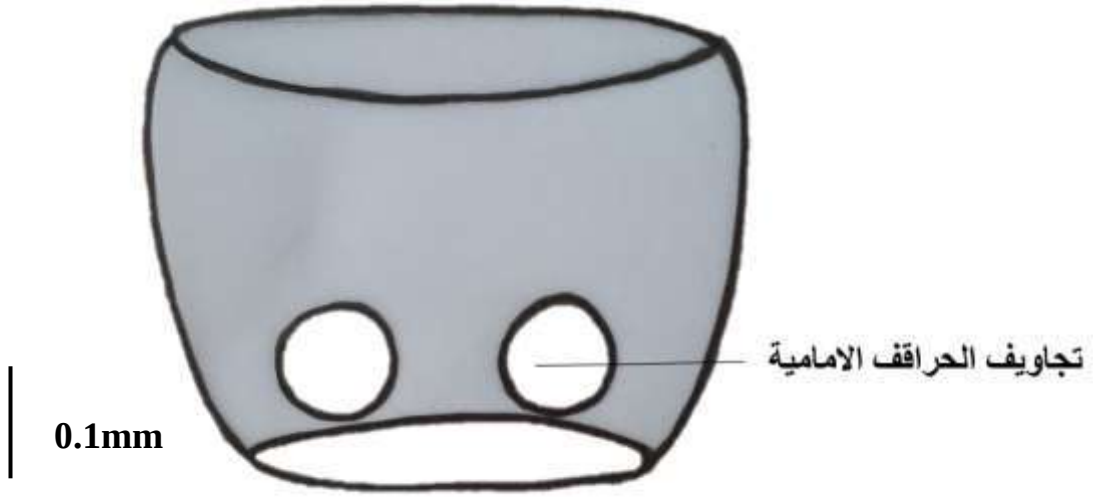
اللوحة (72) الراس وأجزاؤه لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*



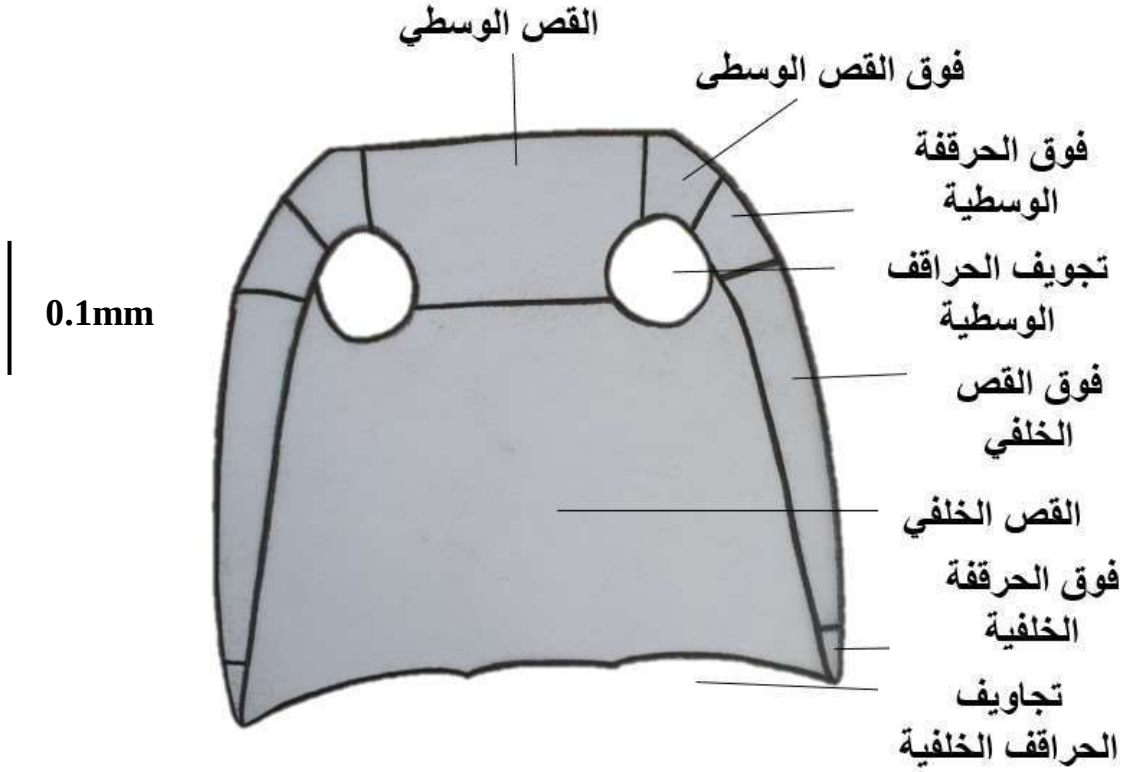
اللوحة (73) قرن الاستشعار لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*



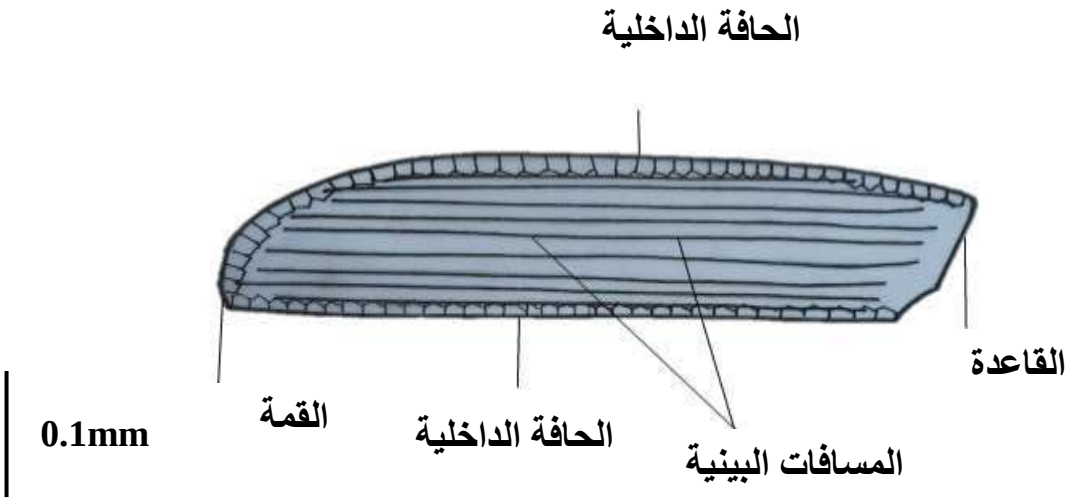
اللوحة (74) ظهر الصدر الامامي Pronotum لذكرالنوع *Cryptolestes ferrugineus*



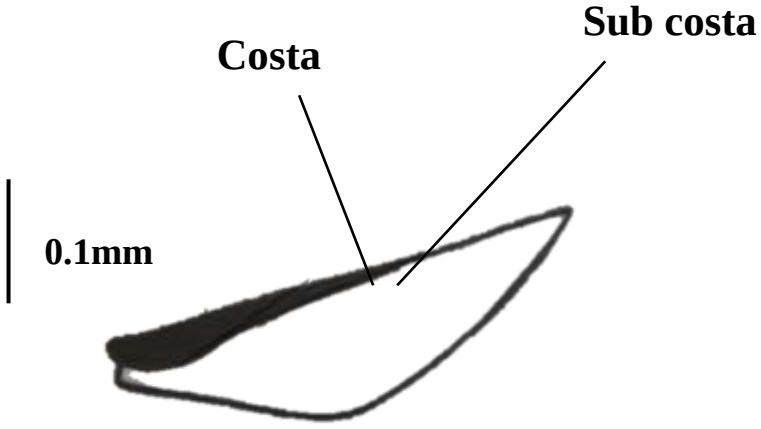
اللوحة (75) الجانب البطني للحلقة الصدرية الأولى لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*



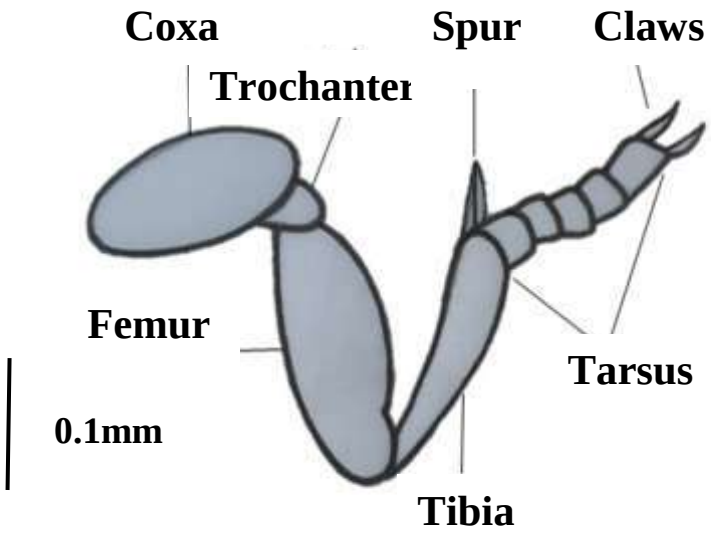
اللوحة (76) الصدر الأوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكرالنوع *Cryptolestes ferrugineus*



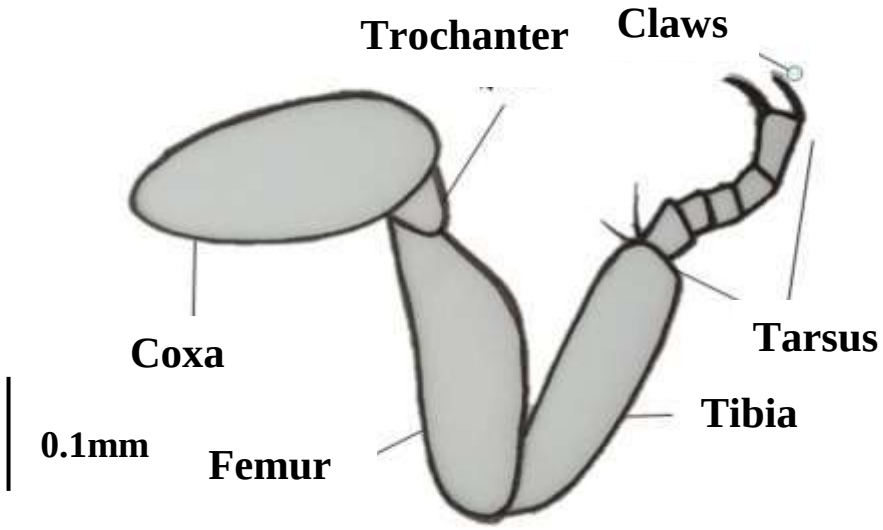
اللوحة (77) الجناح الامامي الغمدي لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*



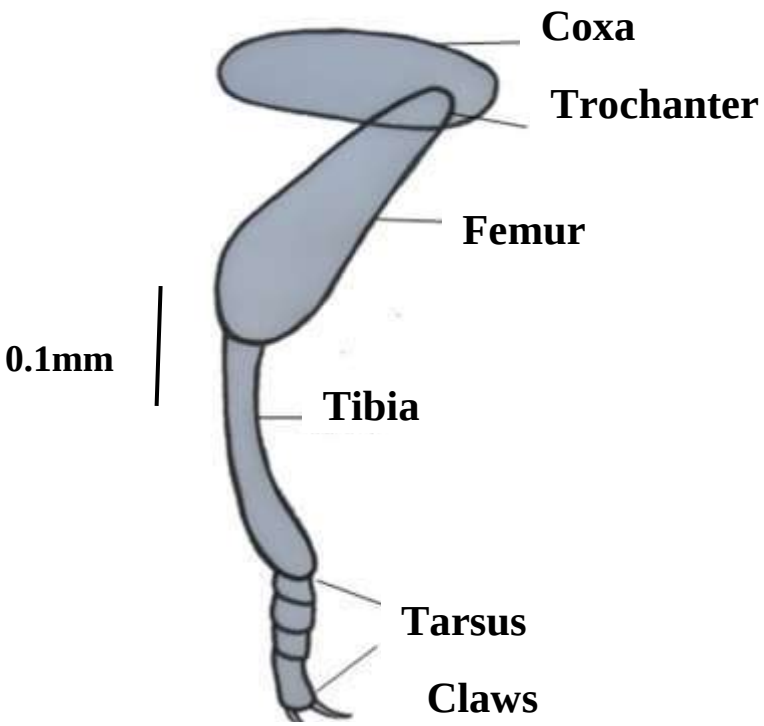
اللوحة (78) الجناح الخلفي الغشائي لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*



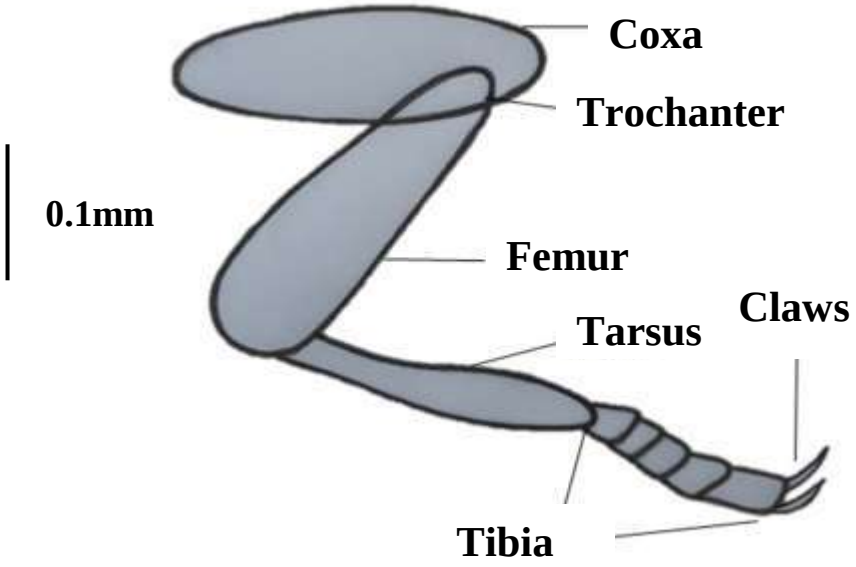
اللوحة (79) الارجل الامامية لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*



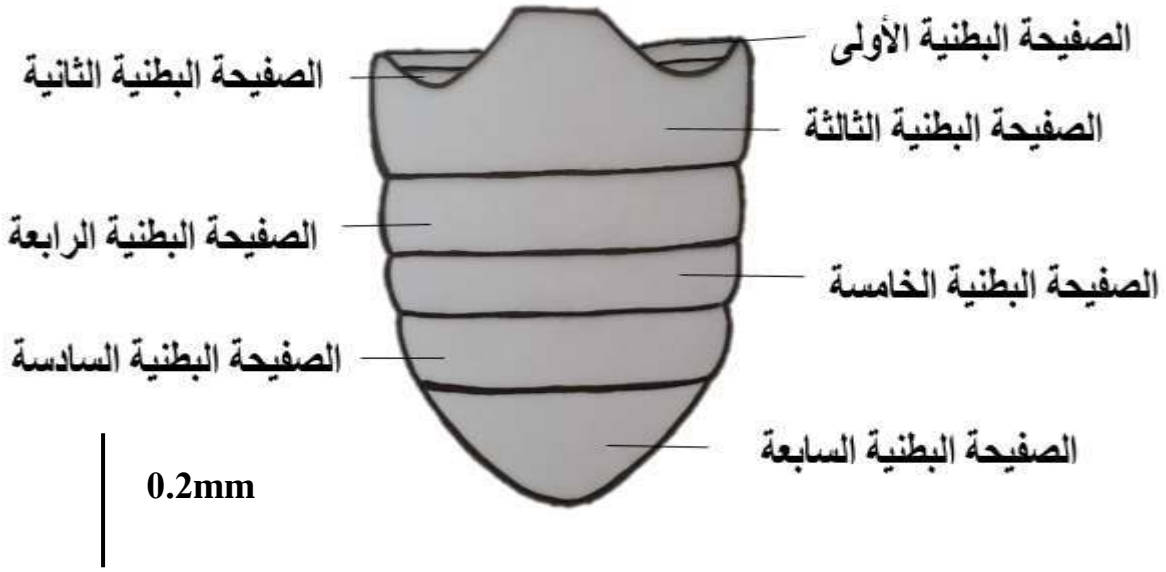
اللوحة (80) الارجل الوسطى لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*



اللوحة (81) الارجل الخلفية لذكر النوع *Cryptolestes ferrugineus*



اللوحة (82) الارجل الخلفية لأنثى النوع *Cryptolestes ferrugineus*



اللوحة (83) المظهر البطني لبطن ذكر النوع ***Cryptolestes ferrugineus***

8.1.3- النوع سوسة الرز *Sitophilus oryzae* L.1758

calandra minor **Sasaki, 1910**
Calandra oryzae **(L., 1763)**
Curculio bituberculatus **Fabricius, 1781**
Curculio frugilegus **De Geer, 1775**
Curculio oryza **Linnaeus, 1763**
Curculio oryzae **Linnaeus, 1763**
Sitophilus oryzae **(Linnaeus,) Linnaeus, 1758**
Sphenophorus quadriguttatus **Montrouzier, 1861**

الشكل العام للجسم: بيضوي متطاول و ذو لون بني محمر إلى اسود لماع وتتوزع نقر مختلفة الاحجام و الاشكال على كامل الجسم ، كما تنتشر شعيرات صفراء براقة بكثافة في نهاية الجسم وتوجد اربع بقع صفراء محمرة على حواف الغمد ، الطول من 3- 4 ملم (صورة 25 26).

الرأس: مثلث و ذا لون بني غامق مائل للاحمرار و يمتد إلى الامام مكونة الخرطوم ، الجهة الامامية يرتبط به الخرطوم الذي يمتد بصورة مستقيمة أما الجهة الخلفية محدبة ، على سطح الرأس نقر مختلفة الاحجام تتوزع بمسافات متباينة ، ينتهي الخرطوم بأجزاء الفم ، وبالقرب من العيون المركبة يوجد زغب بني ونقر كثيفة ، الخد Gena يكون على الجوانب بشكل ضيق ، الجبهة Frons متطاولة ، **العيون المركبة :** سوداء **و** بارزة من الجهة الظهرية (اللوحة 84).

الخطم : متطاول و يقع في مقدمة الرأس و اسطواني الشكل ، تتوزع النقر مستديرة و متوسطة بالحجم بشكل خطوط ، لمقدمة الخرطوم جوانب مثلثة الشكل بزاوية حادة ونهاية البعيدة مستطيلة (اللوحة 84) .

قرون الاستشعار : 8 عقل و من النوع المرفقي –الصولجاني ، محمر و افتح لونا من بقية الاجزاء ، ينشأ من جيب على حافة جانبي الخرطوم ، الاصل متطاول وهي اكبر العقل ، الحامل صغير الحجم مثلث يختفي جزء منه تحت الاصل ، العقل الخمس الوسطية كأسية متدرجة بالحجم وينتهي بعقلة بيضوية تستدق عند قمتها و يكسو العقلة الاولى زغب بني مصفر (اللوحة 85) .

الصدر : الصفيحة الظهرية الامامية Pronotum بنية غامة مائلة للأسود ، طولها اكبر من عرضها ، القمة ضيقة مقارنة بالقاعدة العريضة ، يغطي سطحها نقر مستديرة عميقة غير منتظمة بمسافات بينية ، الصدر الامامي بني غامق مائل إلى الاسود اللامع ، الحلقتان الثانية والثالثة تبدو كأنهما قطعة واحدة و الثانية صغيرة والثالثة أكبر منهما ، الدريع مثلث صغير وقمته مستديرة واسود لماع ويبرز بين الغمدين (اللوحة 86 و 87 و88).

لواحق الصدر : الاجنحة الامامية : بنية داكنة إلى الاسود اللامع و بيضوية و متطاولة ، الحافة الامامية مستقيمة وعريضة مقارنة بالحافة الخلفية المستدقة وعلى سطحها نقر متوزعة بشكل خطوط عددها 11، يختلف شكل النقر في الجوانب اكبر حجما عما هو موجود عند خط التقاء الاجنحة (اللوحة 89).

الاجنحة الخلفية : متطاول وشبه مثلثة ، شفافة ، صفراء باهت ، صفيحة العضدية شبة مثلثة تقريباً، العرق الضلعي يمتد بمحاذاة الحافة الامامية ، العرق التحت الضلعي قصير يمتد من مقدمة الجناح بمسافة قصيرة ، العرق الكعبري يمتد من الثلث الأول من الجناح و يربط مع العرق التحت الضلعي ونهاية يكون تركيب بيضوي متطاول اغمق لوناً ينفصل بمسافة ثم يمتد وينقسم إلى قسمين العرق الشعاعي الثاني والثالث . ما العرق الوسطى يمتد من مقدمة الجناح وينقسم إلى العرق الوسطي الثاني والثالث ، هناك طية صغيرة في مقدمة الجناح(90).

الارجل الامامية : بنية محمرة إلى بنية غامقة ، الحراقف مثلثة ، المدور مثلث و صغير ، الفخذ كبير صولجاني عند الاتصال بالمدور ويتضخم عند الاتصال بالساق مكسو بشعيرات صفراء ، الساق اسطواني به نقر وينتهي بمهمازين المهماز الخارجي أكبر من الداخلي يبرز من مقدمة الساق والساق التي تكون بشكل تركيب نصف دائري يستند الية الرسغ ، الرسغ من اربع عقل ، يتدرج بالحجم ، الثلاثة الاولى شبه مثلثة والاخيرة متطاولة اسطوانية ومقوسة للداخل ، لعقله الثلاثة الأولى شعيرات بشكل ازواج بنية اللون و تتوزع النقر على جميع أجزاء الارجل وينتهي الرسغ بزوج من المخالب (اللوحة 91).

الارجل الوسطى : مشابه للأرجل الامامية ماعدا الحراقف بيضوية ومتطاولة والفخذ اقل طولاً واكثر عرضاً من الارجل الامامية (92).

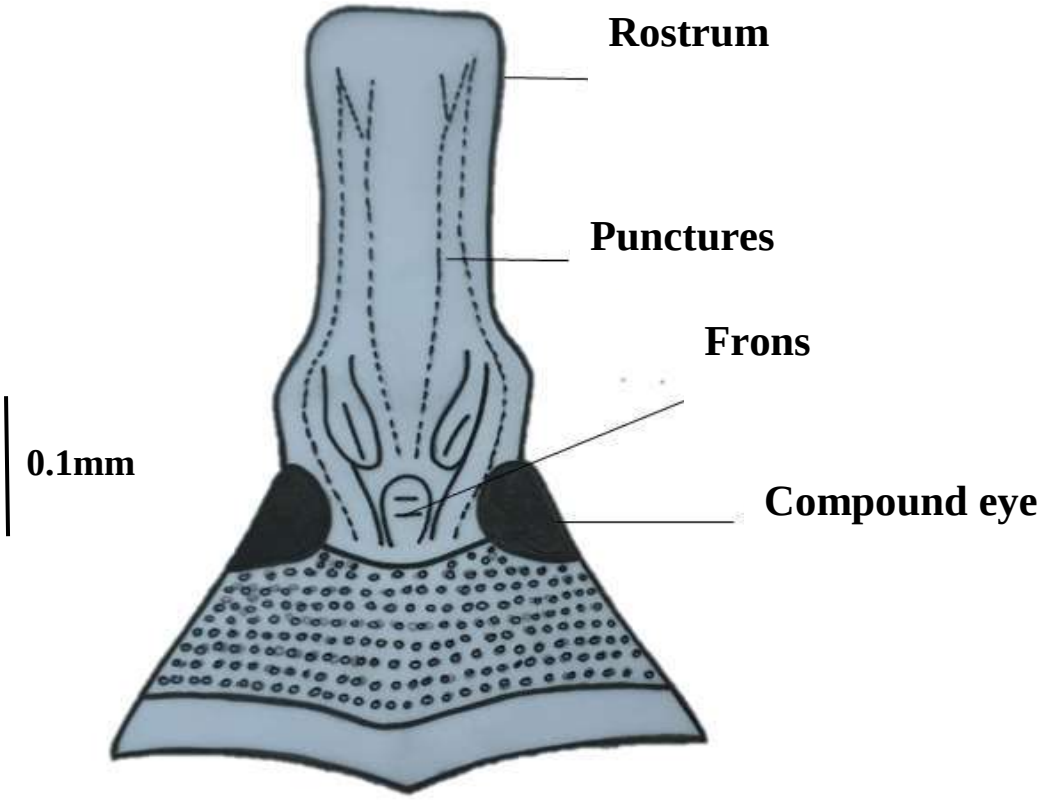
الارجل الخلفية : الحراقف متطاولة ، الفخذ اطول واكثر عرضاً من فخذي الارجل الامامية والوسطى ، الساق مكسوة بشعيرات صفراء و قصيرة (93) .

البطن : متطاولة و بيضوية و بسبب اندماج الصفائح الظهرية التاسعة والعاشرة لا يظهر منها سوى ثمانية صفائح فقط أما الصفائح البطنية القصية ثمانية لا يظهر منها سوى أربعة صفائح ، الصفيحة الأولى مستعرضة والثانية والثالثة متساوية في الطول تقريباً والرابعة ذات نهاية بيضوية مستدقة (اللوحة 94 و95) .

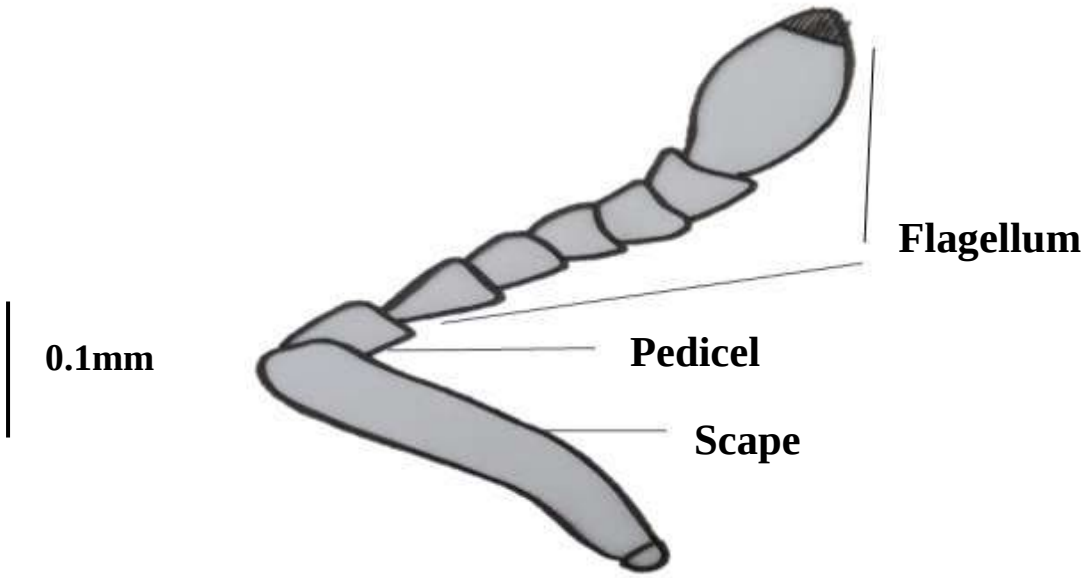
العينات المشخصة : عدد العينات المعزولة 12 حشرة ، 7 من الذكور و 5 من الاناث عزلت من البرغل الذي جلب من الاسواق المحلية والمركزية والحمص الموزع خلال مفردات البطاقة التموينية للمدة من 2021/7/15إلى 2021/10/20.

صورة (25) المظهر الظهري لذكر النوع
Sitophilus oryzae

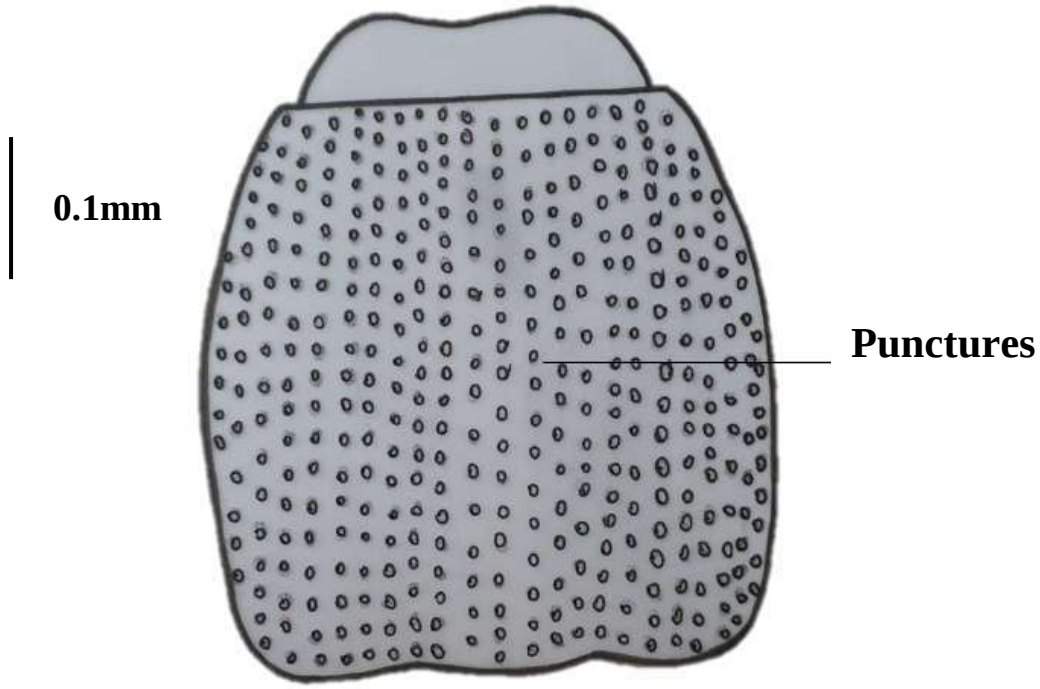
صورة (26) المظهر البطني لذكر النوع
Sitophilus oryzae



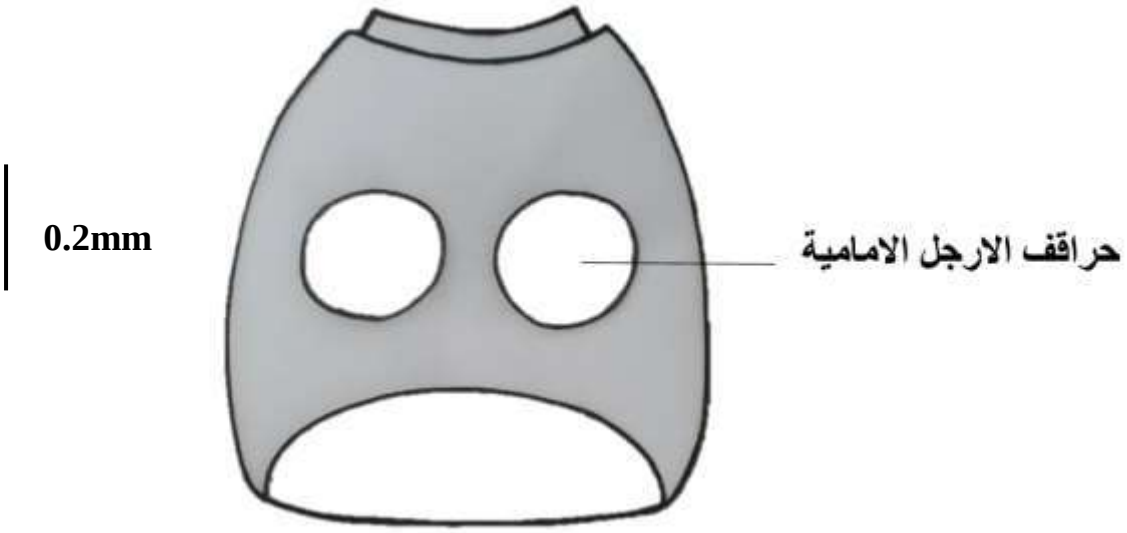
اللوحة (84) الراس والخطم لذكر النوع *Sitophilus oryzae*



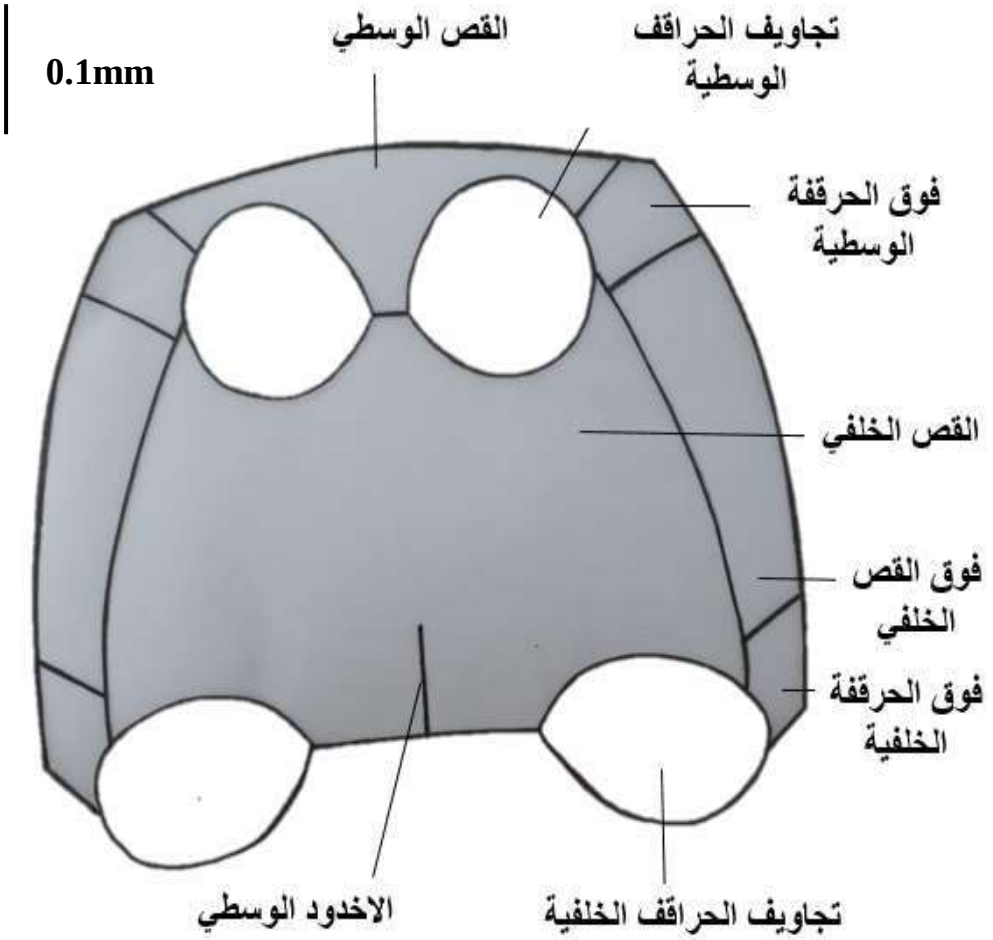
اللوحة (85) قرن الاستشعار لذكرالنوع *Sitophilus oryzae*



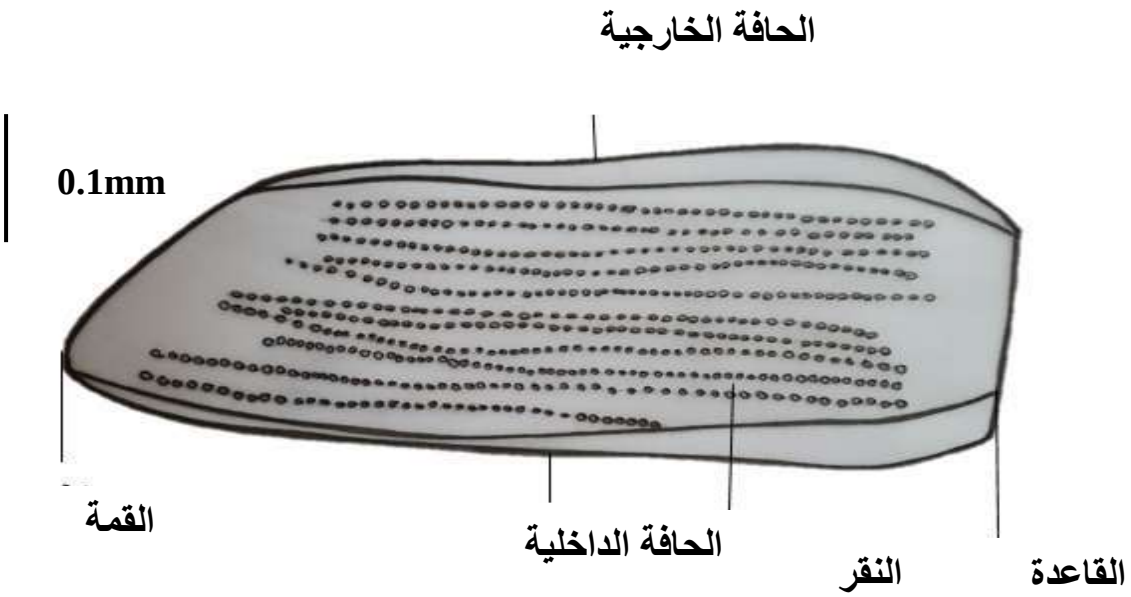
اللوحة (86) ظهر الصدر الامامي Pronotum لذكرالنوع *Sitophilus oryzae*



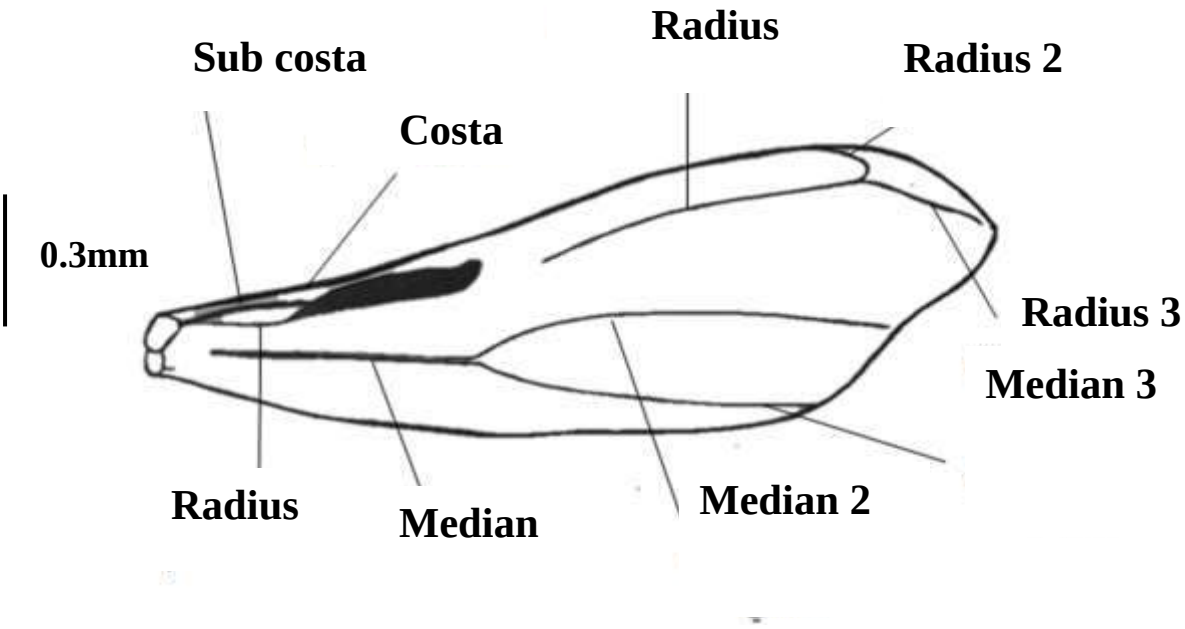
اللوحة (87) الصفيحة البطنية لصدر الامامي Pronotum لذكرالنوع *Sitophilus oryzae*



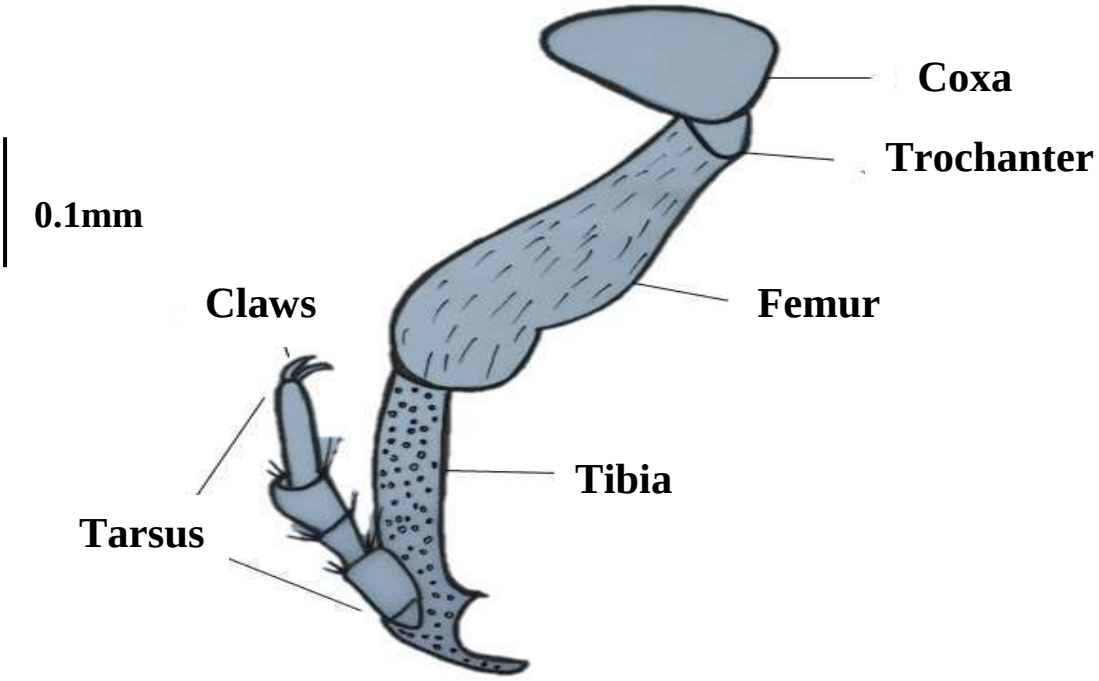
اللوحة (88) الصدر الأوسط والخلفي Meso and Metathorax لذكرالنوع *Sitophilus oryzae*



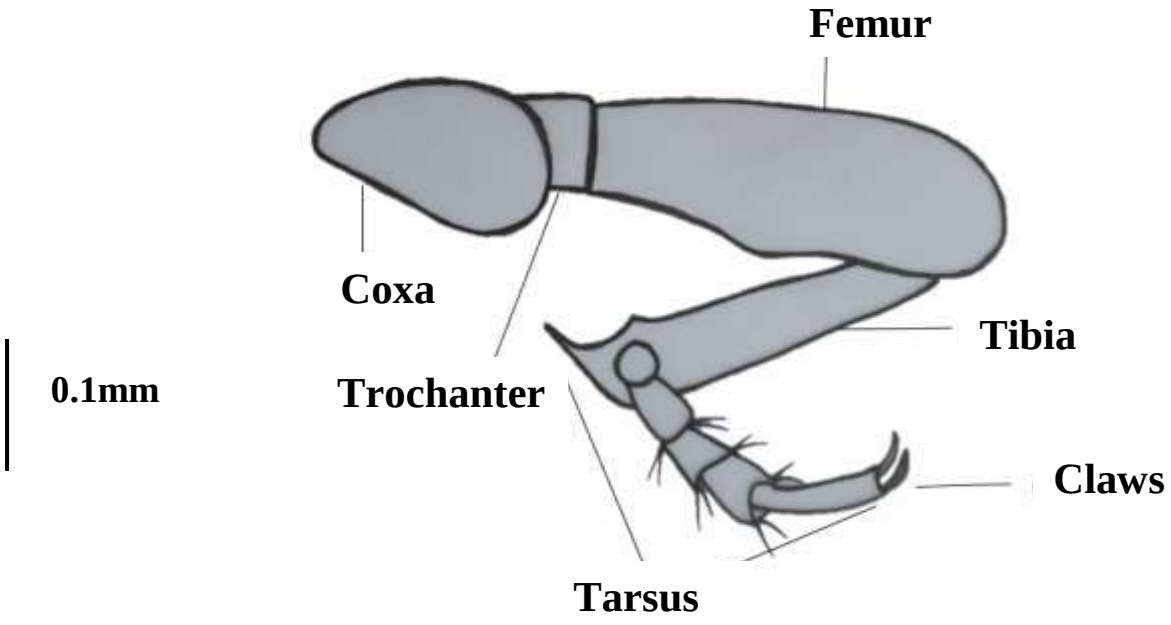
اللوحة (89) الغمد Elytron لذكر النوع *Sitophilus oryzae*



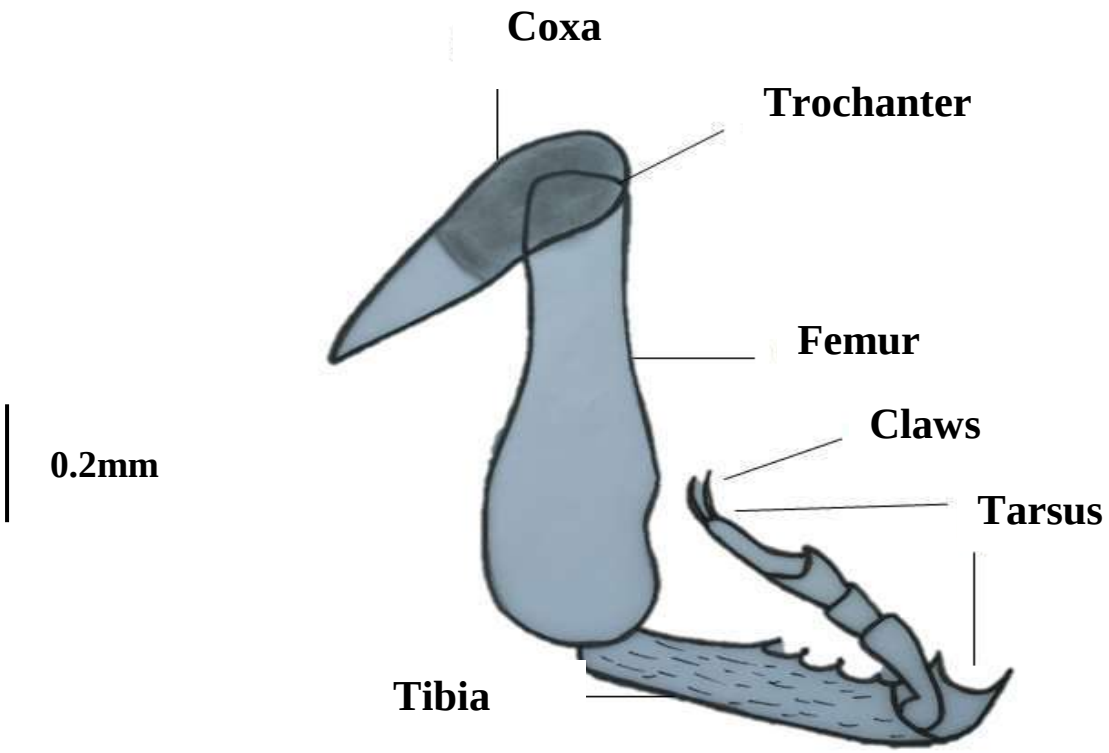
اللوحة (90) الجناح الخلفي الغشائي لذكرالنوع *Sitophilus oryzae*



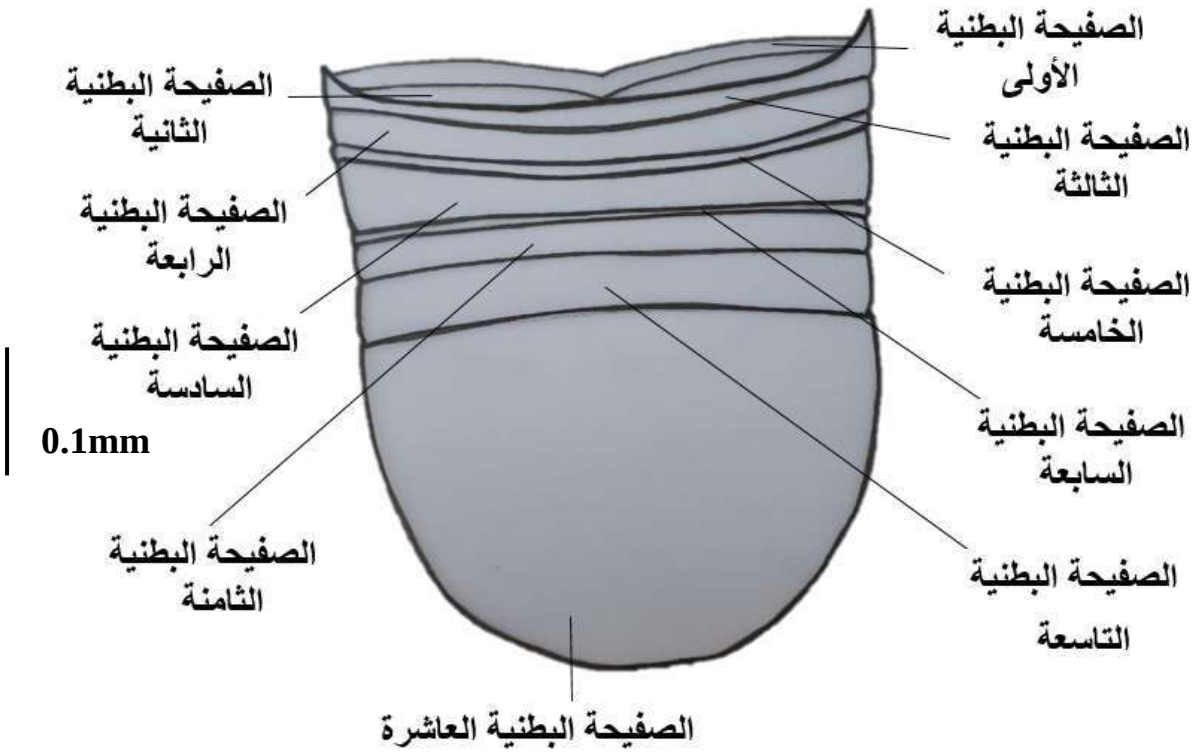
اللوحة (91) الارجل الامامية لذكر النوع *Sitophilus oryzae*



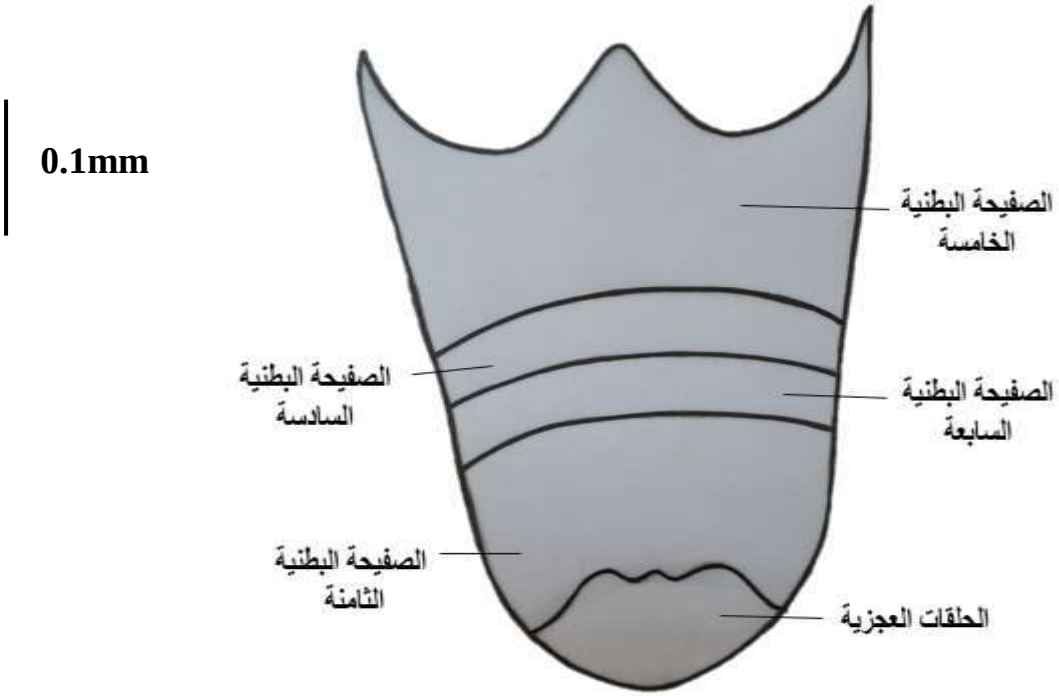
اللوحة (92) الارجل الوسطى لذكر النوع *Sitophilus oryzae*



اللوحة (93) الارجل الخلفية لذكر النوع *Sitophilus oryzae*



اللوحة (94) المظهر الظهري لبطن ذكر النوع *Sitophilus oryzae*



اللوحة (95) الصفائح البطنية لذكر النوع *Sitophilus oryzae*

9.1.3- الدبور المتطفل (Howard,1881) *Anisopetromalus calandrae*

Sub family: Pteromalinae
***Pteromalus calandrae* Howard,1881**
***Anisopteromalus mollis* Ruschka,1912**
***Aplastomorpha vandinei* (Tucker)Waterstor,1921**
***Anisopteromalus calandrae* (Howard)Peck,1951**
***Meraporus calandrae*(Howard,1881)**

الشكل العام للجسم : ، لون الذكور أسود و الاناث اخضر معدني ماعدا الارجل وقاعدة قرن الاستشعار صفراء ، مغزلي الشكل تقريباً ، تظهر آلة وضع البيض خارج الجسم حتى في اثناء الراحة ، الطول 3.5- 3.8 ملم (صورة 27).

الراس : بيضوي متطاول ، أسود في الذكور و اخضر معدني في الاناث ،العيون البسيطة ثلاث صفراء عند قمة الرأس و بين العيون المركبة ، شعيرات ناعمة دقيقة باهتة باتجاه واحد منتشرة على الرأس بأكمله ، **العيون المركبة :** ، بنية مائلة للاحمرار و بيضوية و المسافة كبيرة بينهما في الاناث و تقسيماتها واضحة بشكل جيد (اللوحة 96).

قرون الاستشعار: 11عقلة ، مرفقي Geniculate و تخرج من منتصف مقدمة الراس بين العيون المركبة ، المسافة بين قرني الاستشعار قليلة ،يتدرج لونه من الاصفر إلى بني غامق و يتدرج بالحجم ، الاصل طويل ، الحامل صغير وهي أصغر العقل الموجودة في قرون الاستشعار والعقلة الثالثة شبه مثلثة تبدو كمسند لبقية عقل قرون الاستشعار ، العقل من 4-10 متساوية ، أما العقلة الاخيرة مستدقة شبه مثلثة كما ان لون العقل من العقلة الخامسة للأخيرة بني غامق ومكسوة بشعيرات ناعمة دقيقة جداً (اللوحة 97).

الصدر: اسود لماع في الذكور و في الاناث أخضر معدني ، الحلقات الصدرية الاولى والثانية محدبة و عريضة من الجهة الظهرية ، الصفائح الجانبية ضيقة ومستدقة ، الحلقة الصدرية الثانية اعرض من الاولى ولونها اسود في الذكور واخضر معدني في الاناث ، الدريع مثلث و نهاية الامامية عريضة والخلفية حادة ، لجانبي الدرع هناك تركيبان مثلثان ، واتصال الحلقة الصدرية الثالثة بمنطقة البطن بوساطة خصر (اللوحة 98).

لواحق الصدر :

الاجنحة الامامية : شفافان و كبيران وعريضان ومدوران عند الحافة الخارجية وضيقان عند منطقة اتصالهم بالحلقة الصدرية الثانية ، ولسطحها شعيرات سوداء منتشرة بمسافات متقاربة ، العرق الضلعي يمتد بمحاذاة الحافة الامامية اما العرق تحت الضلعي و العرق الكعبري فيكوّنا تقسيمات مربعة تندمج قرب الحافة الامامية بشكل بقعة ذات نهاية راسية (اللوحة 99).

الاجنحة الخلفية : أصغر من الاجنحة الامامية و متطاولة ، للعرق الضلعي خمسة شعيرات طويلة بالقرب من قاعدة الجناح (اللوحة 100).

الارجل الامامية : طويلة و نحيفة ، الحرقفة شبه مثلثة الشكل وبنية غامقة ، المدور أصفر و شبه مثلث و صغيرة ، الفخذ عريض اصفر وقمته مائلة لبني غامق ، الساق مستطيل و متطاول ، له مهمازان طويلان لونها اصفر باهت مائل للأبيض ،الرسغ من 5 عقل الاولى كأسية بيضاء والثانية والثالثة متساوية تقريباً و لونها بني فاتح مائل للأصفر والرابعة تساوي الثالثة ولونها بنية فاتحة إلى صفراء والخامسة بنية غامقة واصغر العقل تنتهي بزوج من المخالب (اللوحة 101).

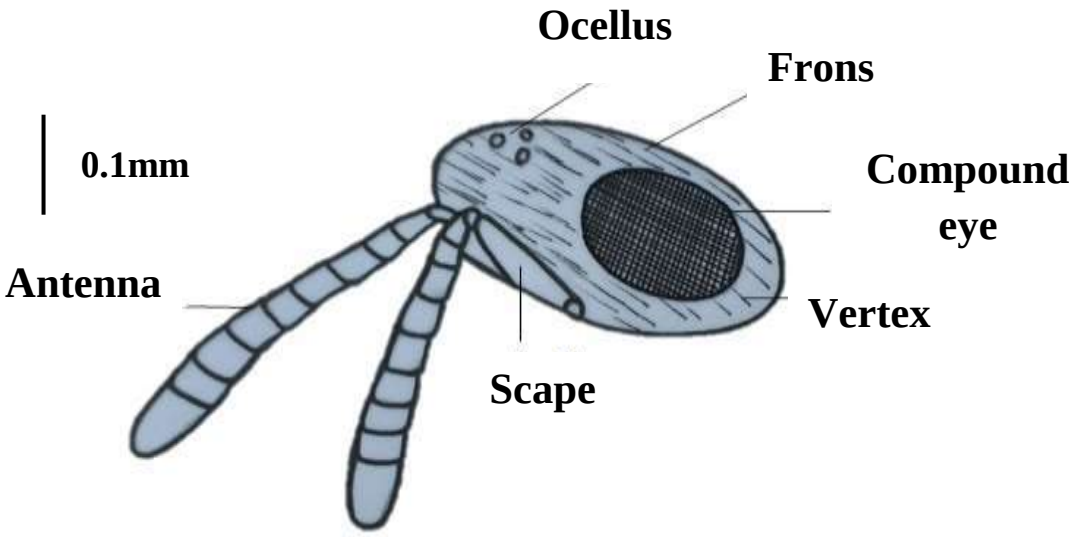
الارجل الوسطى : مشابه للأرجل الامامية ما عدا حرقفة الارجل مائلة للشكل المدور والفخذ اقل طولا وعرضا من فخذ الارجل الامامية (اللوحة 102) .

الارجل الخلفية : الحرقفة أكبر من حرقفتي الارجل الامامية والوسطى بنية غامقة مائلة للون الاسود ، المدور شبه مربع و صغير وأصفر ،الفخذ عريض عند المنتصف ولونه اصفر مائل للبني ، الساق مثلث وأصفر باهت و على سطحه شعيرات ناعمة جداً والرسغ من 5عقل ، العقل الثلاث الاولى صفراء فاتحة والاثنان الاخيرتان اغمق لوناً وعقلة الرسغ الأولى أطول العقل (اللوحة103).

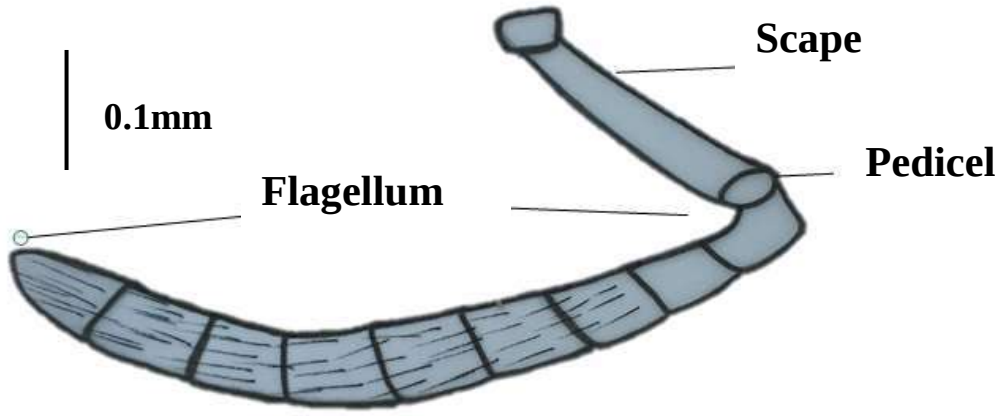
البطن : بيضوية و سوداء في الذكور وخضراء معدنية في الاناث ، الصفيحة الظهرية محدبة والقمة مستدقة ، الخصر في بداية البطن و تكون نهاية البطن المستدقة من إلتقاء الصفيحة القصية مع الصفيحة الظهرية بزاوية حادة ، تنتشر على حلقات البطن شعيرات دقيقة صفراء وبشكل عشوائي وتكون أكثر طولاً على الحلقة الأخيرة والتقسيم واضح على حلقات البطن الأخيرة (اللوحة 104) آلة وضع البيض طويلة جداً وقد يزيد طولها على طول الجسم وتتكون من تركيب ابريين (اللوحة 105).

العينات المشخصة :عدد العينات المعزولة 17عينة ، 10 من الذكور و 7 من الاناث ، عزلت من حبوب الحمص المصاب *Callsobruchus maculatus* الذي جمع من الاسواق المحلية والرئيسية.

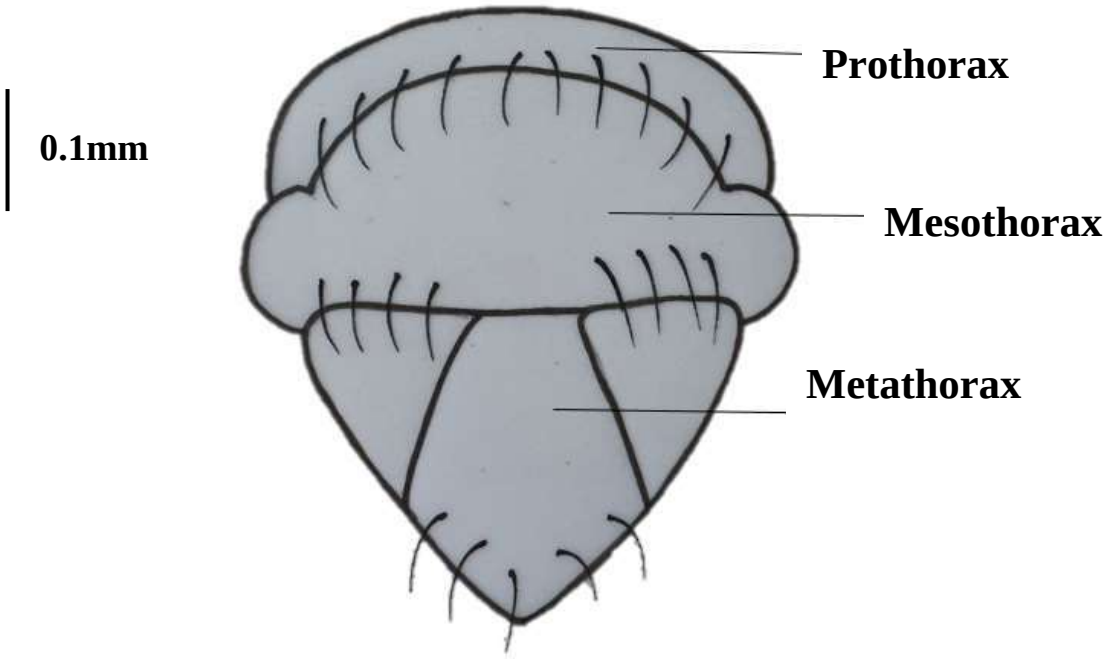
صورة (27) مظهر جانبي لأنثى متطفل النوع *Anisopetromalus calandrae*



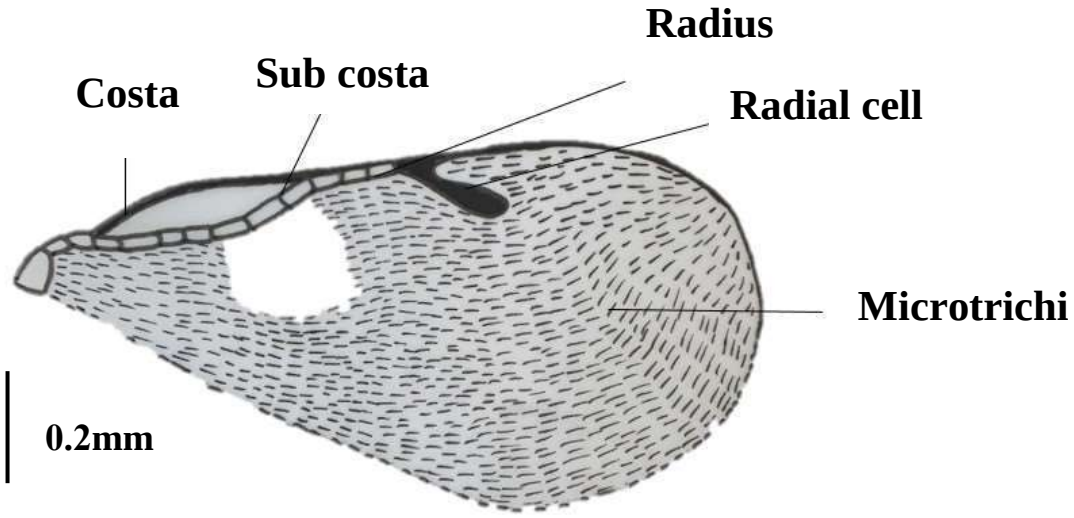
اللوحة (96) الرأس وأجزاؤه لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*



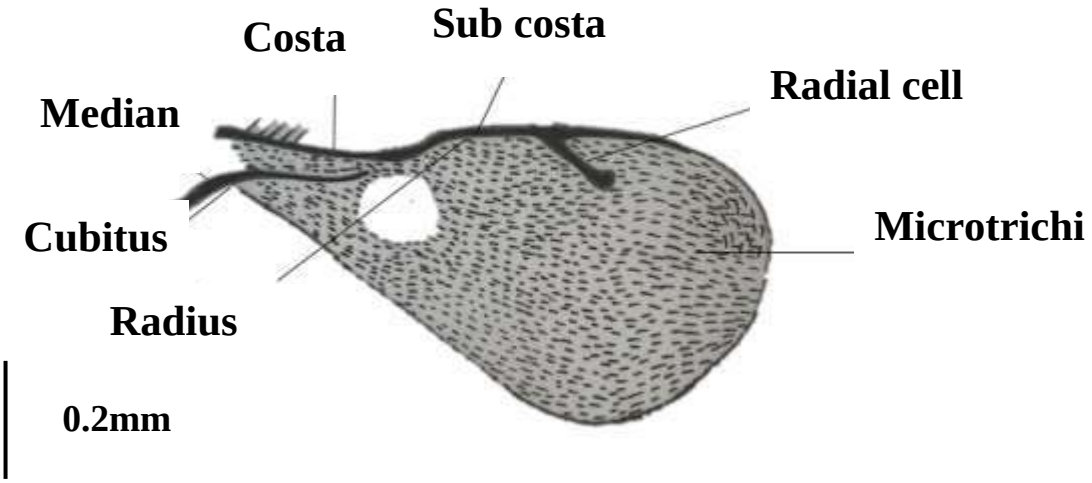
اللوحة (97) قرن الاستشعار لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*



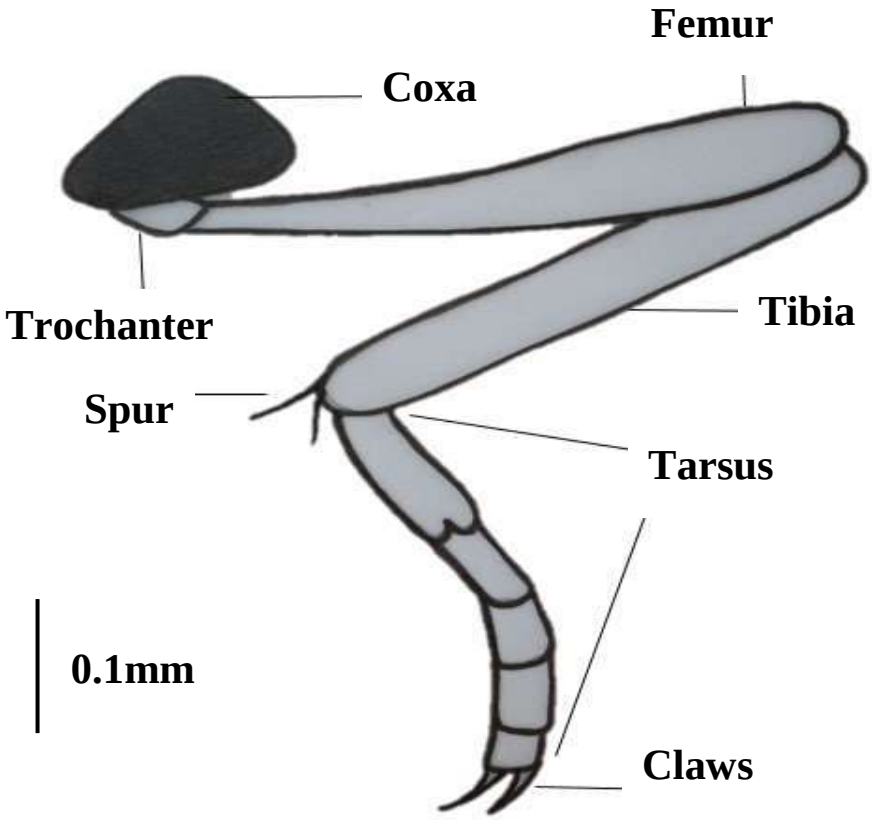
اللوحة (98) الصدر لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*



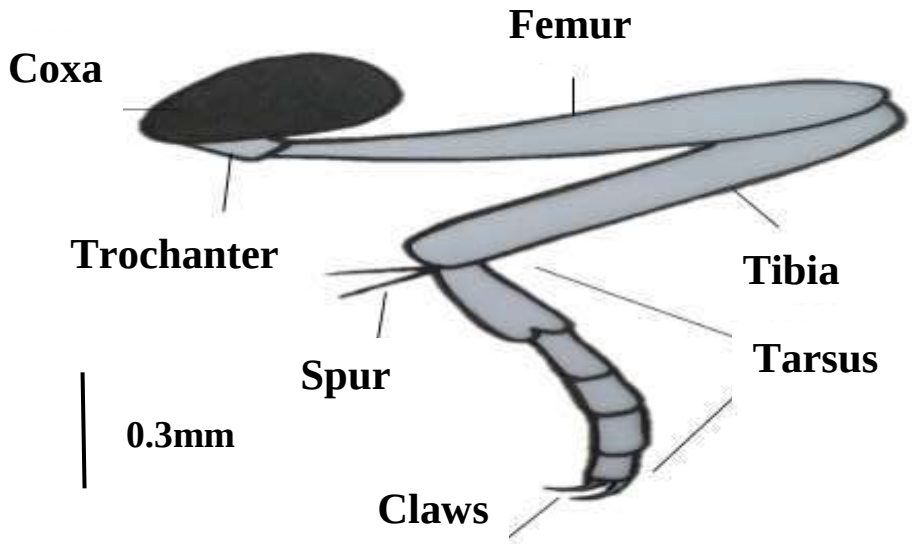
اللوحة (99) الجناح الامامي لأنثى النوع *Anisopetromalus calandrae*



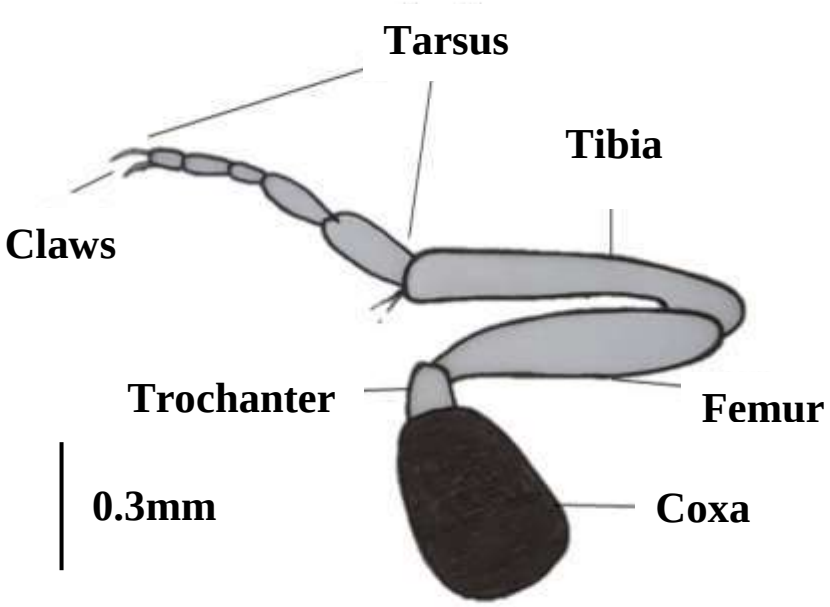
اللوحة (100) الجناح الخلفي لأنثى النوع *Anisopetromalus calandrae*



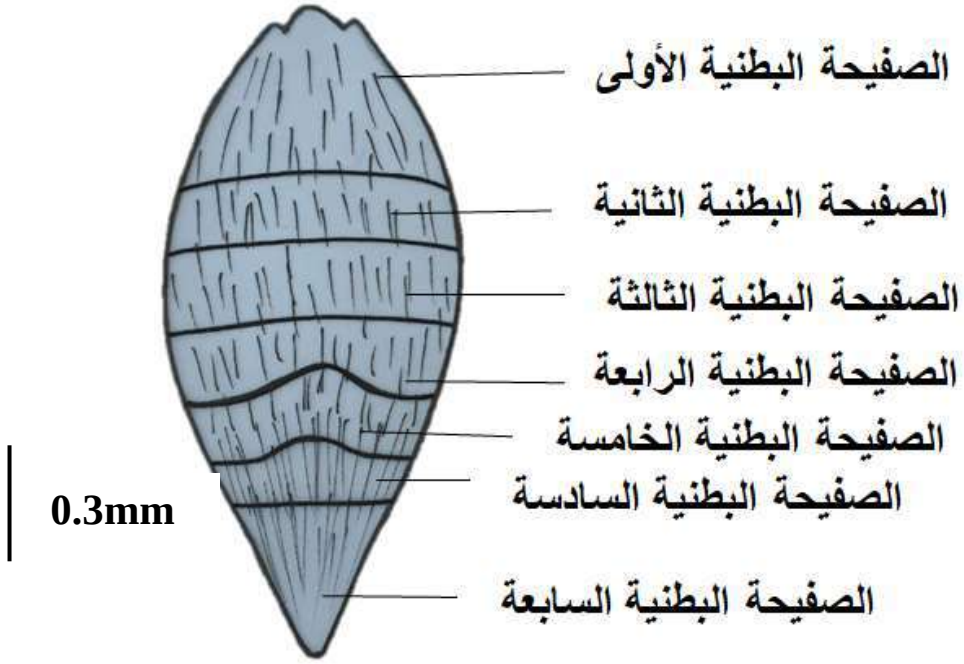
اللوحة (101) الارجل الامامية لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*



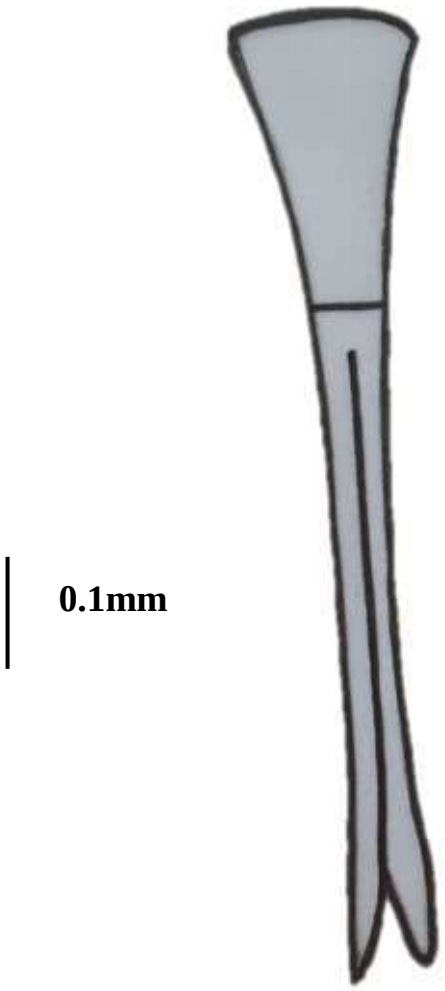
اللوحة (102) الارجل الوسطى لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*



اللوحة (103) الارجل الخلفية لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*



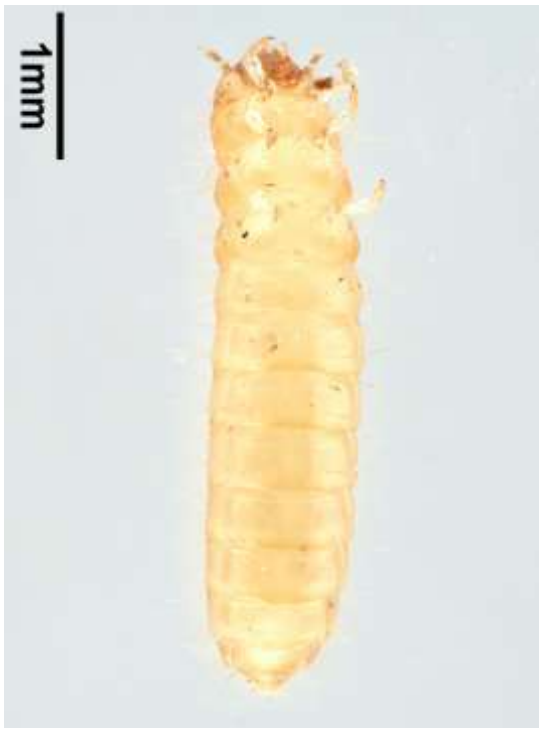
اللوحة (104) البطن لانثى النوع *Anisopetromalus calandrae*



اللوحة (105) آلة وضع البيض لإناث النوع *Anisopetromalus calandrae*

10.1.3- يرقات النوع *Tribolium castaneum*

الشكل العام للجسم :الطول من 3-5 ملم ، 12 حلقة مع الرأس ، اسطوانية متطاولة ، ذات لون بني فاتح مائل للاحمرار ، الجانب الظهري للجسم ذا لون بني مائل للاحمرار في بعض الاجزاء ومن الجانب البطني ذات لون اصفر باهت ، الرأس مربع متوازي الجوانب ، النهاية الامامية أكثر عرضاً من النهاية الخلفية ، اجزاء الفم بارزة في مقدمة الرأس وهي ذات لون بني محمر ، الحلقات الصدرية واضحة بشكل جيد ، الحلقة الصدرية الاولى عريضة متساوية الجوانب وهي ذات لون بني فاتح من الجانب الظهري واصفر باهت من الجانب البطني ، الحلقة الصدرية الثانية اقصر واقل عرضاً من الحلقة الصدرية الاولى والنهاية الخلفية اعرض من النهاية الامامية ، توجد بقعتان ذات لون بني فاتح على جانبي الحلقة الصدرية الثانية من الناحية الظهرية ، الحلقة الصدرية الثالثة اعرض من الحلقة الثانية ، النهاية الخلفية للحلقة الثالثة اعرض من النهاية الامامية ، الحلقات البطنية من الحلقة الرابعة لغاية الحلقة الثامنة متساوية بالحجم تقريباً ، الحلقة التاسعة اعرض من الحلقات السابقة والعاشرة اقصر واعرض من الحلقة التاسعة و الحلقة الاخيرة مستدقة شبه مثلثة ، النهاية الامامية للحلقة البطنية الأخيرة من الجانب الظهري عريضة ونهاية الخلفية مستدقة تنتهي الحلقة البطنية الاخيرة بزوجين من Urogomphi موجودة في اليرقات وهي زوجان من الزوائد الطرفية المسماة بالقرون الكاذبة (صورة 28 و29).



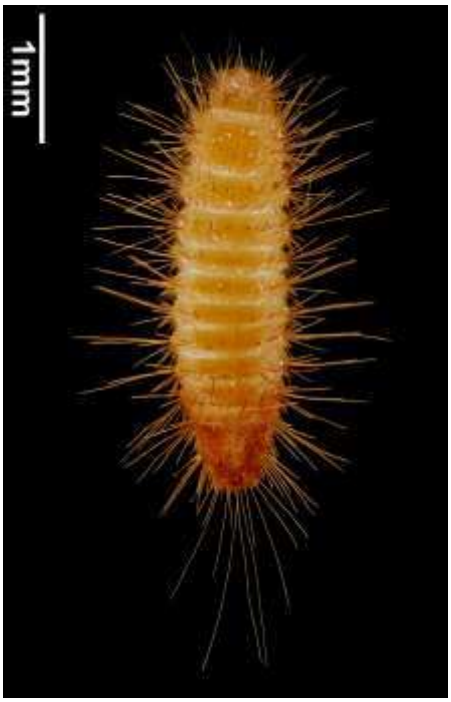
صورة (28) المظهر البطني ليرقات النوع *Tribolium castaneum*

صورة (29) المظهر الظهري ليرقات النوع *Tribolium castaneum*

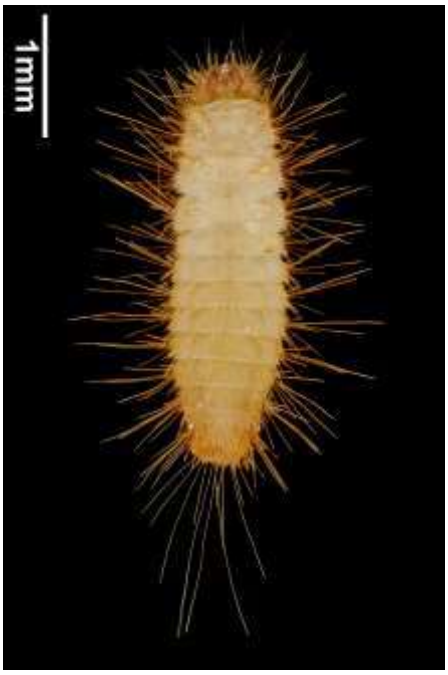
11.1.3- يرقات النوع *Trogoderma granarium*

الشكل العام للجسم : الطول من 2- 2.5 ملم ، 11 حلقة مع الرأس ، ذات لون بني فاتح مائل للبني الغامق في الحلقات الأخيرة وفي بعض الاجزاء صفراء اللون ، أهم صفة مميزة هي وجود شعر باطوال مختلفة يغطي كامل الجسم ويكون على نوعين النوع الأول شعيرات متجهة للأعلى صغيرة و مدببة و مغطاة بقشور صلبة تسمى Spiciseta تنتشر على السطح الظهري للرأس والجسم والنوع الثاني يتمثل بشعيرات رمحية مكونة من قطع متعددة يطلق عليه Hastisetae تتوزع على جميع الحلقات البطنية ، لكن تكون على الحلقات الثالثة والرابعة والحلقة البطنية الأخيرة بشكل خصلات مميزة منتصبة ومزدوجة . مقدمة الرأس اضيق من النهاية الخلفية ذات لون بني فاتح مائل

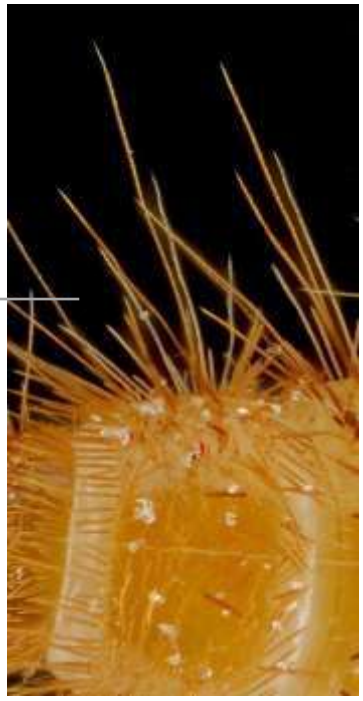
، يتوزع الشعر القصير على حواف الامامية والخلفية للحلقات الصدرية والبطنية واتجاه هذه الشعيرات يكون متعاكسا ، الشعيرات في الحافة الامامية باتجاه الخلف والشعيرات في الحافة الخلفية تمتد باتجاه الامام ، يزداد الشعر طولاً والكثافة مع تقدم الحلقات باتجاه البطن .الحلقة الصدرية الاولى اعرض من الحلقتين الثانية والثالثة ولكنها متساوية بالطول تقريبا معهما ، الحلقات البطنية من الرابعة لغاية التاسعة متساوية بالحجم والطول تقريباً والحلقات الثلاثة الأخيرة الطرفية ذات لون بني غامق مائل للاحمرار ، الشعر الموجود في نهاية الحلقة الأخيرة اطول بثلاث مرات ونصف من بقية الشعر المتوزع على الجانبين ، الحلقة الأخيرة مستدقة النهاية ، الارجل بشكل ازواج على الحلقات الصدرية ذات لون أصفر باهت (صورة 30 و 31 و 32 و 33).



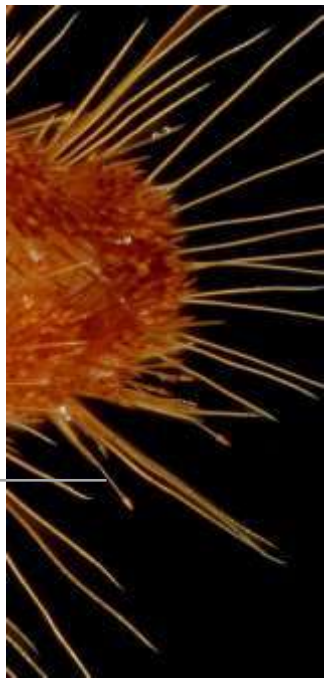
صورة (30) المظهر الظهري ليرقات النوع
Trogoderma granarium



صورة (31) المظهر البطني ليرقات النوع
Trogoderma granarium



صورة (32) المظهر Spicisetae ليرقات النوع
Trogoderma granarium



صورة (33) المظهر Hastisetae ليرقات النوع
Trogoderma granarium

12.1.3- المفتاح التشخيصي لعزل انواع الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة في محافظة ميسان – جنوب العراق :

1- قرون الاستشعار مؤلفة من ثمان حلقات ، ظهر الصدر الامامي حفر دائرية ، للغمد أربعة بقع صفراء جانبية ..... *Sitophilus oryzae*

- قرون الاستشعار اكثر من ثمان حلقات ، ظهر الصدر الامامي ذو درينات باعداد كثيرة خاصة في جزئه الامامي ، الغمد خالٍ من البقع 2

2- الغمد عليه تراكيب غير منتظمة بشكل حفر 3

- الغمد خالٍ من تراكيب غير منتظمة بشكل حفر وعليه شعيرات طويلة مع بقع سوداء بشكل حرف H عندما تتقابل في خط مستقيم في منتصف الخط الظهري. *Callsobruchus maculatus* .....

3- الرأس مثلث وصغير الحجم ومنحني تحت الحلقة الصدرية الأولى 4

- الرأس عريض وواضح وغير منحني تحت الحلقة الصدرية الأولى 5

4- قرون الاستشعار رأسية والحلقات الثلاثة الطرفية منتفخة و مفككة ..... *Rhyzopertha dominica* .....

- قرون الاستشعار غير راسية والحلقات الثلاثة الطرفية غير منتفخة وغير مفككة ..... *Cryptolestes ferrugineus*.....

5- الصدغ مثلث و ذات تسننات غير حادة .....*Oryzaephilus mercator*

- لا يوجد صدغ وخالي من التسننات 6

6- المسافة بين العيون المركبة من الجانب الظهري صغيرة وعقل الثلاث الطرفية تتضخم فجأة ..... *Tribolium castaneum*.....

- المسافة بين العيون المركبة من الجانب الظهري كبيرة والعقل الثلاثة الطرفية لا تتضخم بشكل مفاجئ 7

7- الرأس طويل وقرون الاستشعار متدرجة في الحجم والملامس الشفوية مثلثة ..... *Latheticus oryzae*.....

- الراس دائري وقرون الاستشعار رأسية والملامس الشفوية غير مثلثة و بارزة صفراء . *Trogoderma granarium*.....

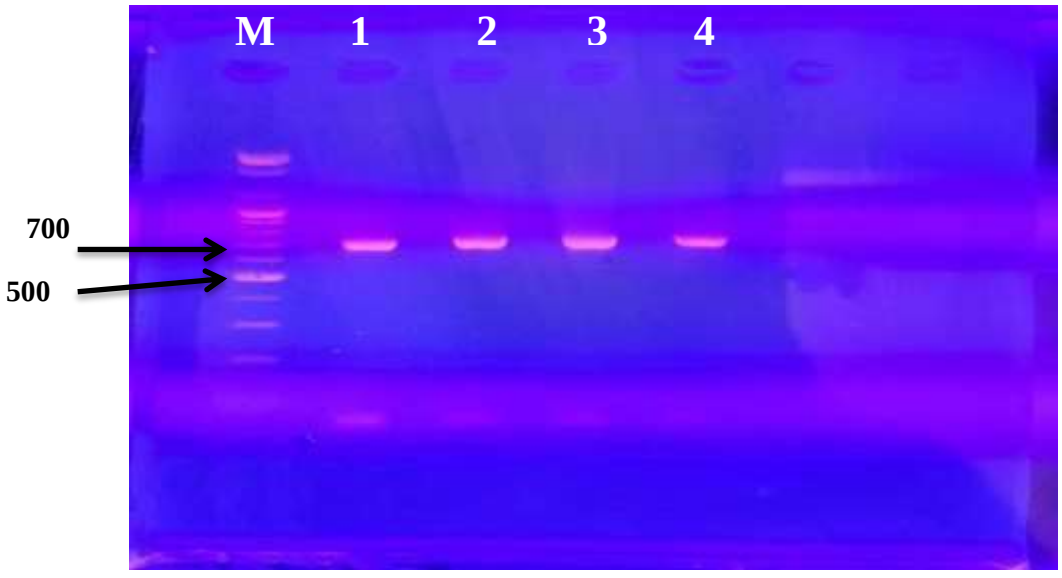
2.3 - الدراسة الجزيئية

1.2.3- استخلاص وتضخيم الحامض النووي الرايبوزي المنقوص الاوكسيجين DNA Extraction

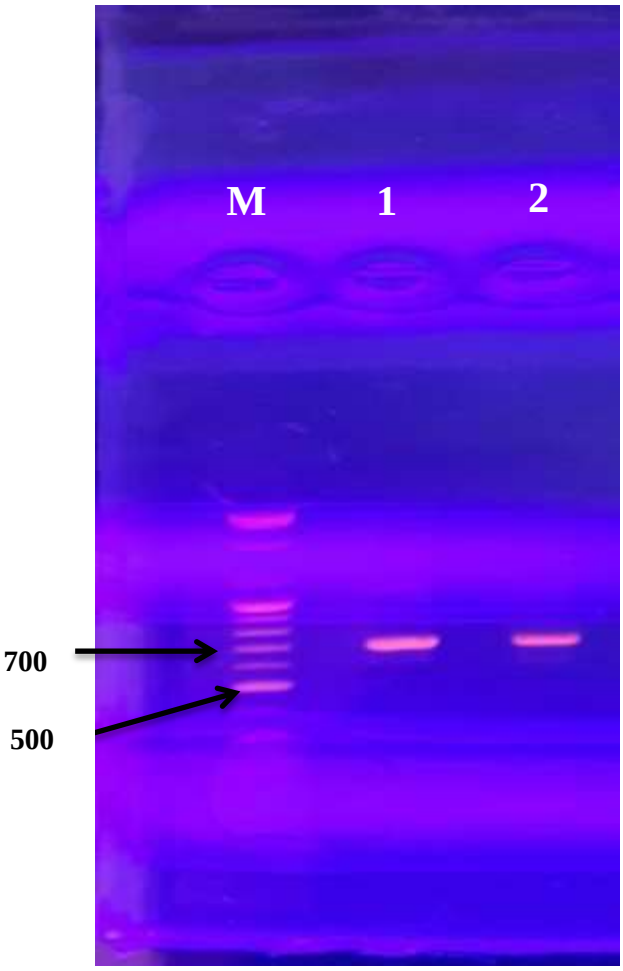
أظهرت نتائج الاستخلاص ان تركيز الحامض النووي DNA للأنواع الخمسة من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة وهي *Tribolium castaneum* و *Oryzaephilus mercator* و *Trogoderma granarium* و *Rhyzopertha dominica* و *Callsobruchus maculatus* كانت 175 و171 و162 و182 و193 نانوغرام / مايكروليتر على التوالي أما النقاوة فبلغت 1.81 و1.75 و1.96 و1.62 و1.87 على التوالي اما تركيز ونقاوة المتطفل الواحد *Anisopetromalus calandrae* بلغ 165 نانوغرام / مايكرو ليتر و 1.73 على التوالي .

2.2.3- تقنية تفاعلات البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction Technique

استعملت تقنية تفاعلات البلمرة المتسلسل لتشخيص خمسة أنواع من الآفات ، والتي تعود إلى عوائل مختلفة وتعود إلى رتبة غمدية الاجنحة ومتطفل واحد يعود إلى رتبة غشائية الاجنحة ولأول مرة في محافظة ميسان من خلال الكشف عن الجين Cytochrome Oxidase subunite I وأظهرت نتائج التشخيص الجزيئي ظهور الجين للأنواع الخمسة والمتطفل الواحد *Tribolium castaneum* و *Oryzaephilus mercator* و *Callsobruchus maculatus* و *Rhyzopertha dominica* و *Trogoderma granarium* و *Anisopetromalus calandrae* عند الوزن الجزيئي 700 bp زوج قاعدي مقارنة بالدليل الحجمي DNA Marker (صورة 34 و35) .



صورة (34) الترحيل الكهربائي لناتج تفاعلات البلمرة المتسلسل لتضخيم الجين COXI بوزن جزيئي 700bp زوج قاعدي لمدة 60 دقيقة ، M: DNA Ladder 1: *Tribolium castaneum* 2: *Anisopetromalus calandrae* 3: *Callsobruchus maculatus* 4: *Oryzaephilus mercator*



صورة (35) الترحيل الكهربائي لناتج تفاعلات البلمرة المتسلسل لتضخيم الجين COXI بوزن جزيئي 700bp زوج قاعدي لمدة 60 دقيقة ، M: DNA Ladder :1 *Trogoderma granarium*: 2 *Rhyzopertha dominica*

3.2.3- تحليل الشفرات الوراثية وتحليل قطع تتابعات الجين Cytochrome Oxidase subunite I

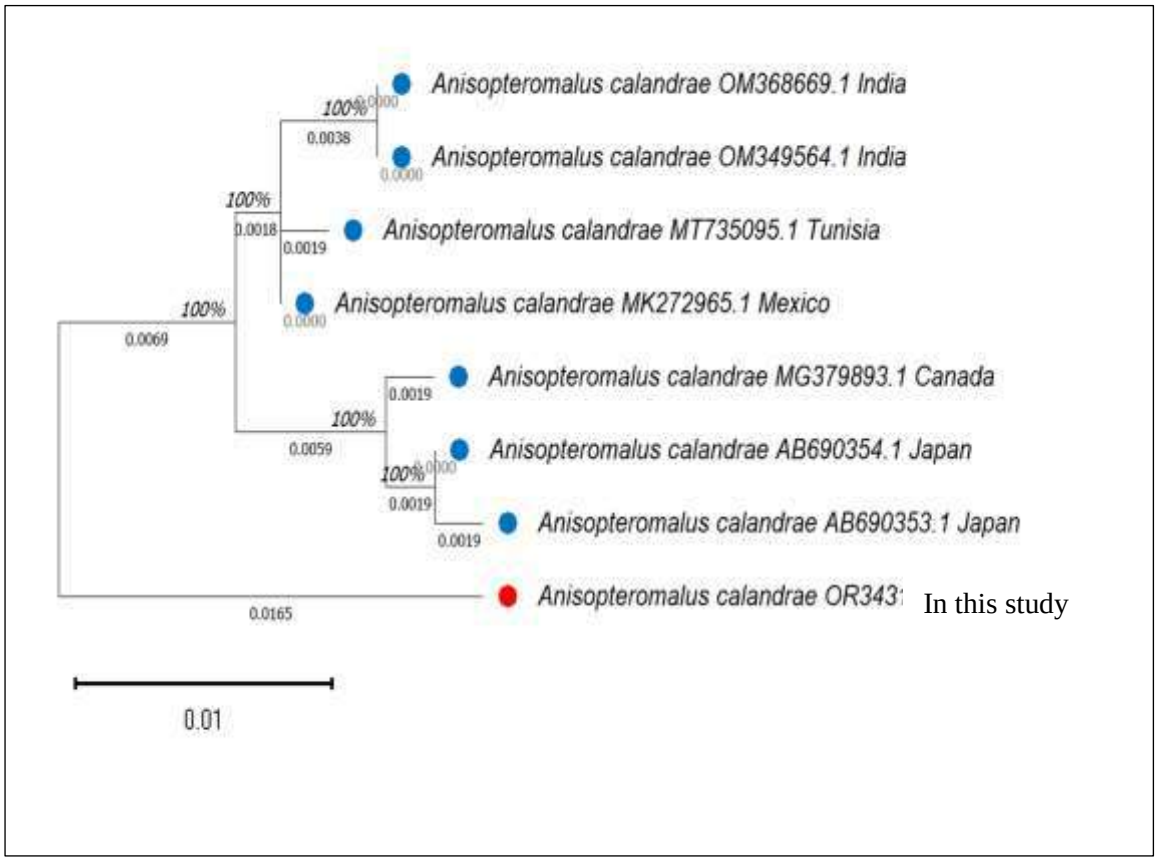
بعد تحليل النيوكليوتيدات لقطع DNA لمنطقة الجين mtCOI للأنواع الخمسة من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة والتابعة إلى عوائل مختلفة ومتطفل واحد و بعد تصفية القطع لتكون أقل حجماً واجراء محاذاة، وضحت النتائج تطابق الانواع المدروسة مع تتابعات الجينية للأنواع المحفوظة كمصادر References في بنك الجينات بنسبة تراوحت 100 % وكل الانواع المدروسة خضعت لتحليل التشابه باستعمال برنامج تحليل التشابه Blast ووثقت نتائج تتابع الجين mtCOXI للأنواع المدروسة من الآفات في NCBI بنك الجينات لأول مرة كمصادر للآفات التي تصيب الحبوب المخزونة في محافظة ميسان – جنوب العراق ووثقت الرقم التسلسلي Accession numberلكل قطعة للأنواع بشكل مستقل (جدول 11).

جدول (11) نسبة التطابق الوراثي لقطع الجين mtCOXI المستهدف في ألانواع الخمسة من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة والمتطفل الواحد وأرقام الانضمام في بنك الجينات.

ت	اسم النوع	رقم انضمام في بنك الجينات	رقم انضمام الانواع في بنك الجينات	نسبة التطابق
1	*Anisopetromalus calandrae*	OR343195	MK272965.1	100%
2	*Callsobruchus maculatus*	OR343194	MG458971.1	100%
3	*Oryzaephilus Mercator*	OR343197	MG458965.1	100%
4	*Rhyzopertha dominica*	OR343198	MN271961.1 MH910056.1 KY440152.1 KM450240.1 OM882649.1 KC407717.1	100%
5	*Tribolium castaneum*	OR343196	OQ509919.1 OP604564.1 OP604557.1 KM439779.1 ON505589.1 ON482348.1	100%
6	*Trogoderma granarium*	OR343199	LC386209.1 OQ358899.1 OP597472.1 HM398878.1	100%

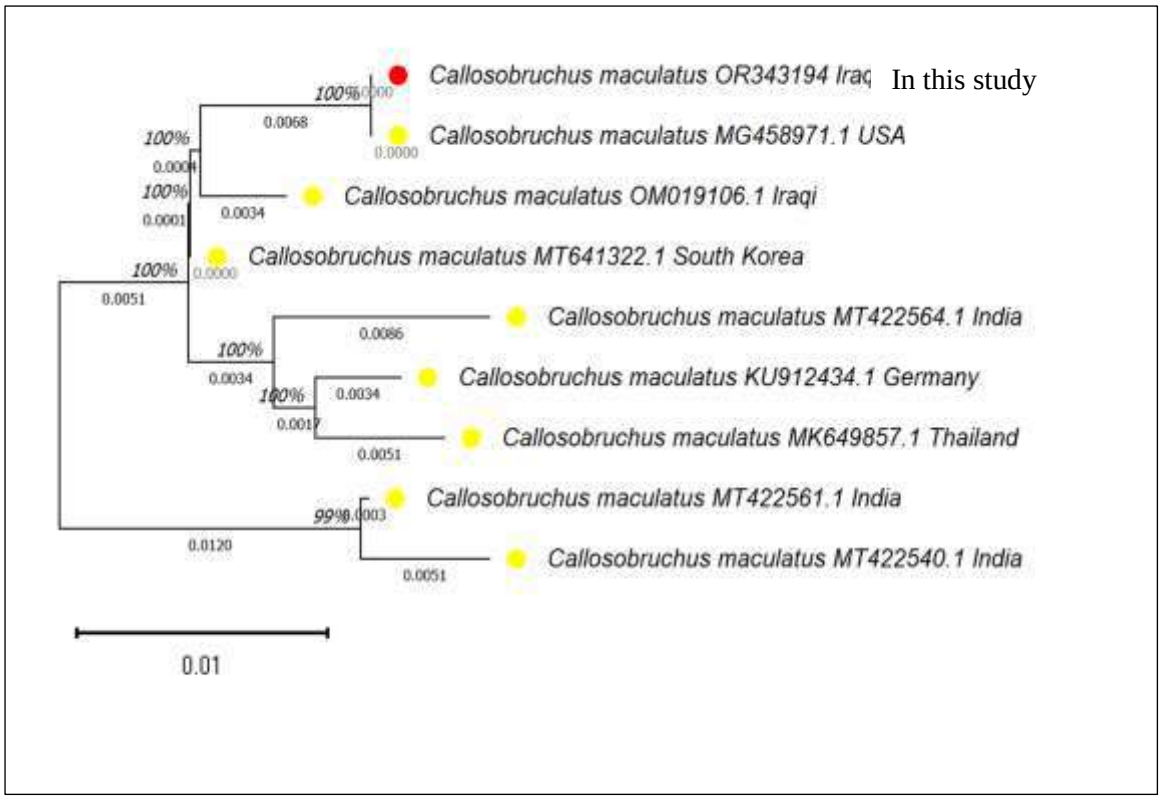
4.2.3- شجرة التطور Phylogenetic tree للجين mtCOXI لخمسة أنواع من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة ومتطفل واحد في محافظة ميسان –جنوب العراق

اوضحت نتائج تحليل شجرة النشوء والتطور للأنواع الخمسة من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة ومتطفل واحد في الدراسة الحالية ، التي تستهدف جين mtCOXI بان المتطفل *Anisopetromalus calandrae* المحلي متطابق وراثياً من العزلة ذات الرقم التسلسلي MK272965.1 من المكسيك (شكل 1)



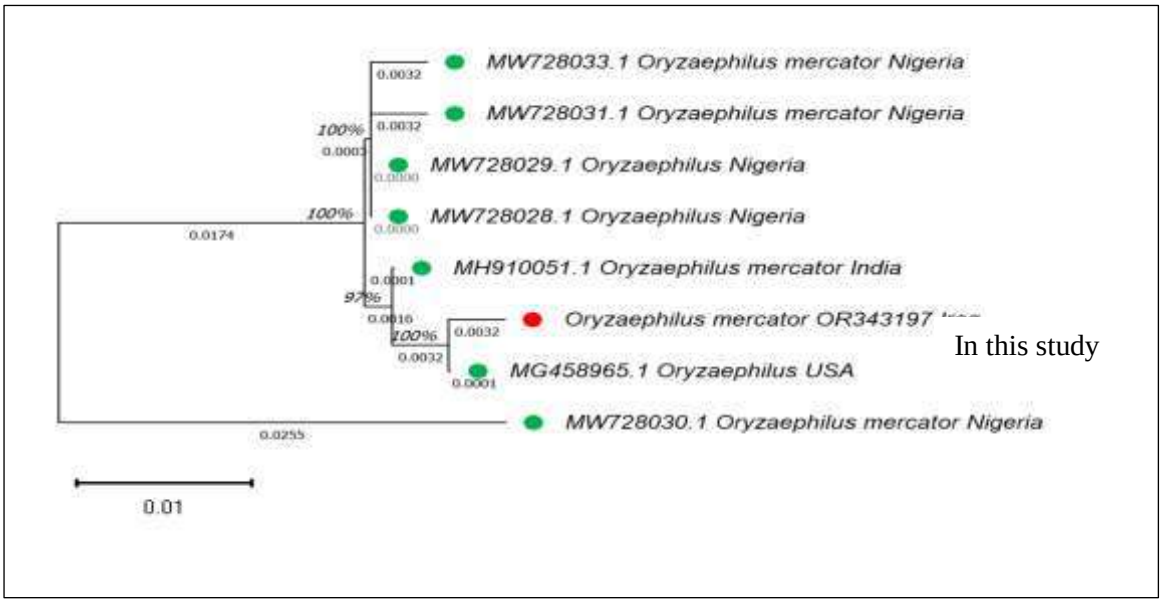
شكل (1) شجرة التطور للجين mtCOXI للمتطفل *Anisopetromalus calandrae* في محافظة ميسان – جنوب العراق

أما النوع *Callsobruchus maculatus* المحلي فمتطابق وراثياً بالعزلة ذات الرقم التسلسلي MG458971.1 من الولايات المتحدة الامريكية (شكل 2)



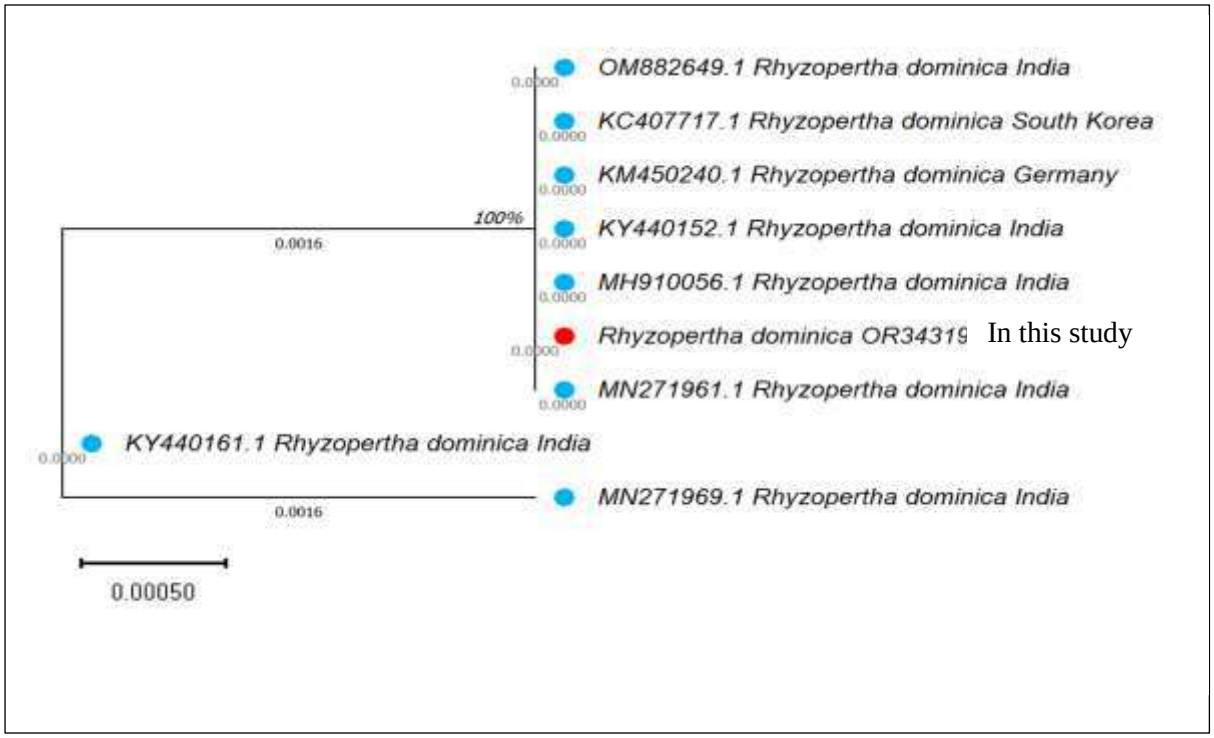
شكل (2) شجرة التطور للجين mtCOXI للنوع الاول من الآفات *Callsobruchus maculatus* في محافظة ميسان – جنوب العراق

و النوع *Oryzaephilus mercator* المحلي كان قريباً وراثياً من العزلة ذات الرقم التسلسلي MG458965.1 في الولايات المتحدة الامريكية (شكل 3)



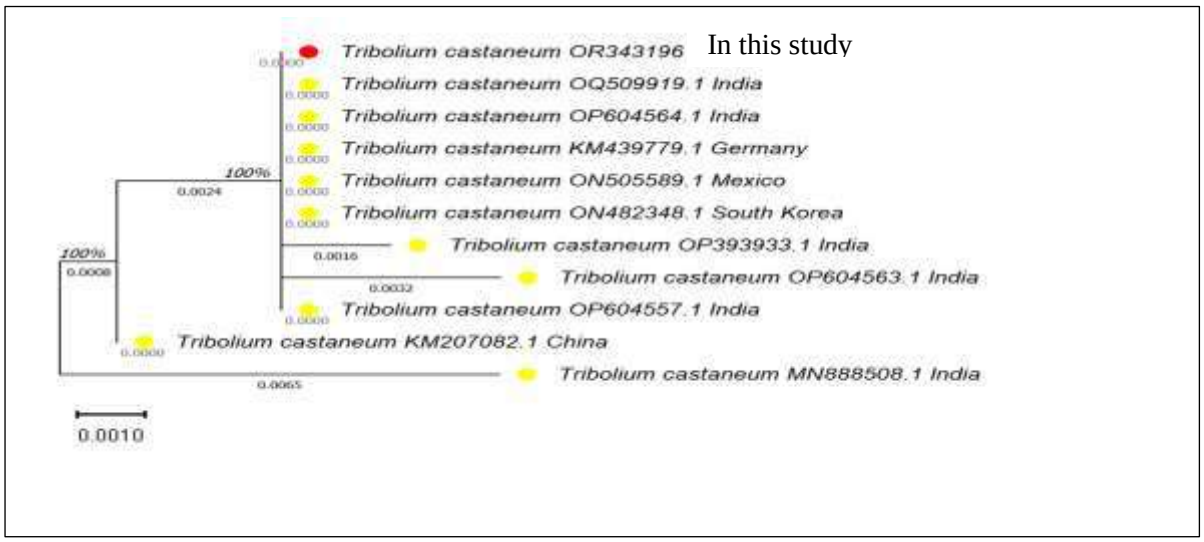
شكل (3) شجرة التطور للجين mtCOXI للنوع الثاني من الآفات *Oryzaephilus mercator* في محافظة ميسان – جنوب العراق

والنوع الثالث من الآفات *Rhyzopertha dominica* متطابقة وراثياً بالعزلات ذات الارقام المتسلسلة MN271961.1 و MH910056.1 وKY440152.1 و OM882649.1 من الهند و KM450240.1 من المانيا و و KC407717.1 من كوريا الجنوبية ومتقاربة وراثياً بالعزلة ذات الرقم التسلسلي KY440161.1 من الهند (شكل 4)



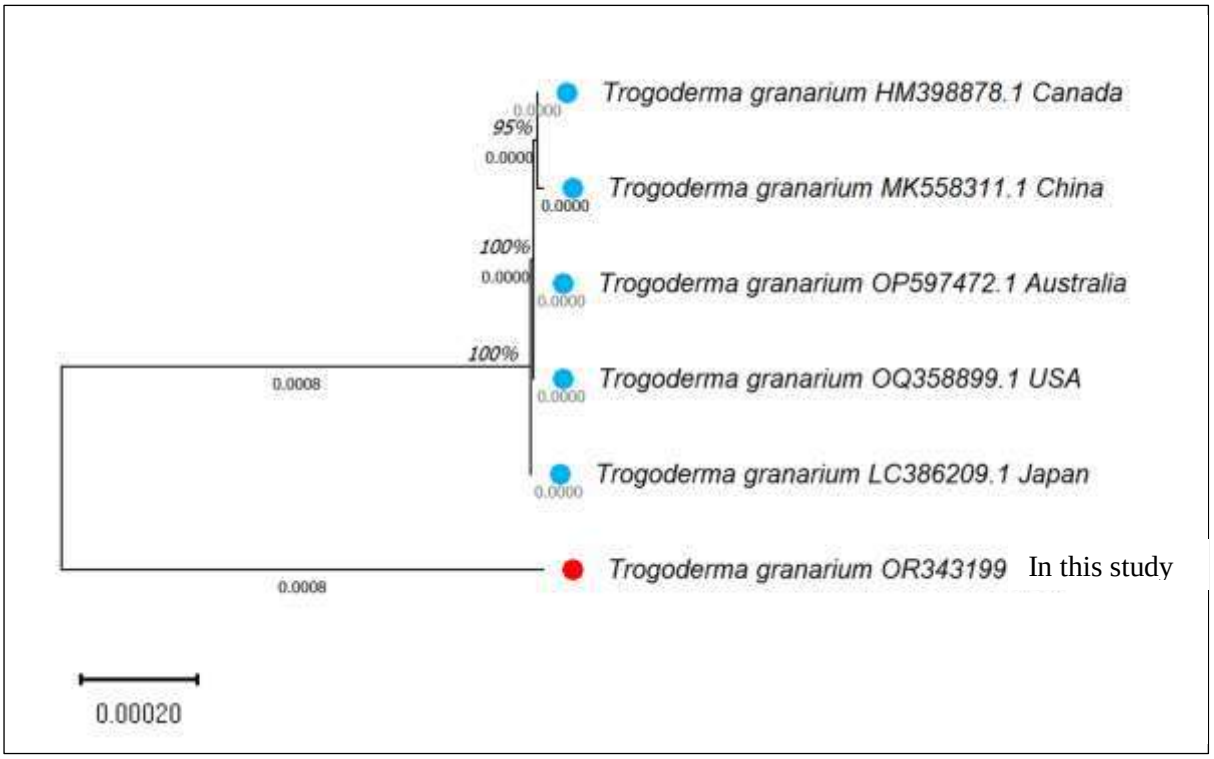
شكل (4) شجرة التطور للجين mtCOXI للنوع الثالث من الآفات *Rhyzopertha dominica* في محافظة ميسان – جنوب العراق

والنوع الرابع*Tribolium castaneum* المحلي فمتطابق وراثياً بالعزلات ذات الأرقام المتسلسلة OQ509919.1 وOP604564.1 وOP604557.1 من الهند و 439779.1 من المانيا و ON505589.1 من المكسيك و ON482348.1 من كوريا الجنوبية (شكل 5) .



شكل (5) شجرة التطور للجين mtCOXI للنوع الرابع من الآفات *Tribolium castaneum* في محافظة ميسان – جنوب العراق

اما النوع الخامس من الآفات *Trogoderma granarium* المحلي متقاربة وراثياً من العزلات ذات الأرقام المتسلسلة LC386209.1 من اليابان و OQ358899.1 من الولايات المتحدة الامريكية و OP597472.1 من استراليا وHM398878.1 من كندا بنفس درجة التقارب والصين MK558311.1 (شكل 6).



شكل (6) شجرة التطور للجين mtCOXI النوع الخامس من الآفات *Trogoderma granarium* في محافظة ميسان – جنوب العراق

3.3- استخدام التشخيص الجزيئي في الكشف المبكر عن الاصابة في الحبوب المخزونة

1.3.3- استخلاص الحامض النووي DNA وتضخيمه

أظهرت نتائج الاستخلاص ان تركيز الحامض النووي DNA للعينات الثلاثة تراوحت ما بين 157-197 إذ بلغ تركيز DNA للعينة الاولى الذي تشمل *R.dominica* و *T.castenum* و *O.mercator* معاً 157 نانوغرام /مايكروليتر أما في العينة الثانية الذي شملت *T.granarium* و *C.maculatus* فبلغ تركيز DNA 179 نانوغرام / ميكروليتر وفي العينة الثالثة بلغ تركيز DNA للنوعين *T.granarium* و *L.oryzae* 197 نانوغرام / مايكروليتر اما النقاوة للعينات الثلاثة فبلغت 1.09 و 1.73 و1.53 على التوالي .

2.3.3 - خصوصية البادئات

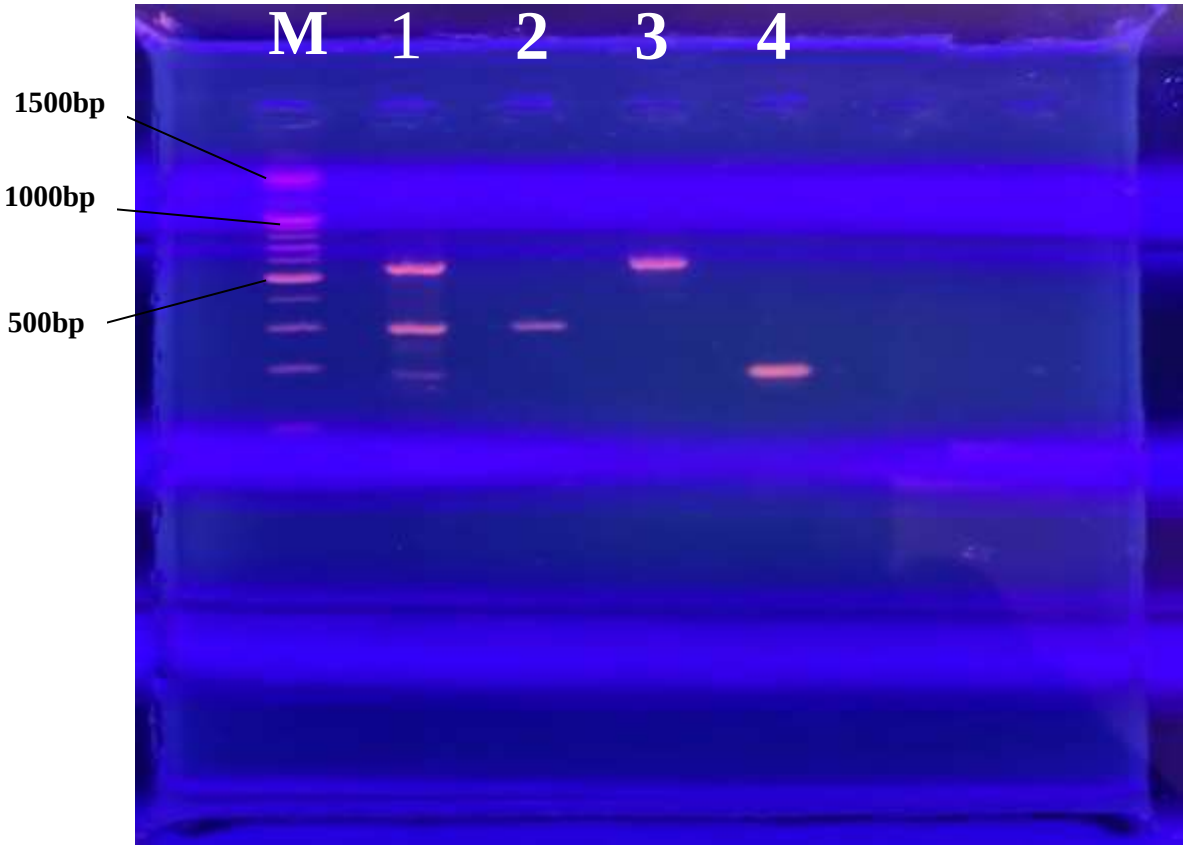
جميع البادئات الخمسة التي استعلمت في تقنية Multiplex-PCR هي بادئات متخصصة بالأنواع المستعملة في التجارب الثلاثة ما عدا البرايمر ZBJ-ARTflc/ZBJ-ARTr2c فقد كان مشترك بين نوعين *Callsobruchus .maculatus* و *Latheticus.oryzae* ولهذا السبب استعملت بشكل منفصل مع نوع *Trogoderma.granarium* في تجربتين ، أما بالنسبة لبقية الانواع لم تتداخل مع الحزم الموجودة للأنواع الاخرى ولهذا لم يتداخل مع تشخيص الانواع الاخرى .

ان عينات الآفات الحشرية استعملت مع البادئات الخاصة بكل نوع أظهرت ثلاث حزم في التجربة الاولى وحزمتين في كل من التجربتين الثانية والثالثة بنجاح . وهذا دليل على الخصوصية العالية لهذه البادئات ما عدا برايمر واحد كما سبق ذكره فقد كان متشابه بين نوعين من الآفات .

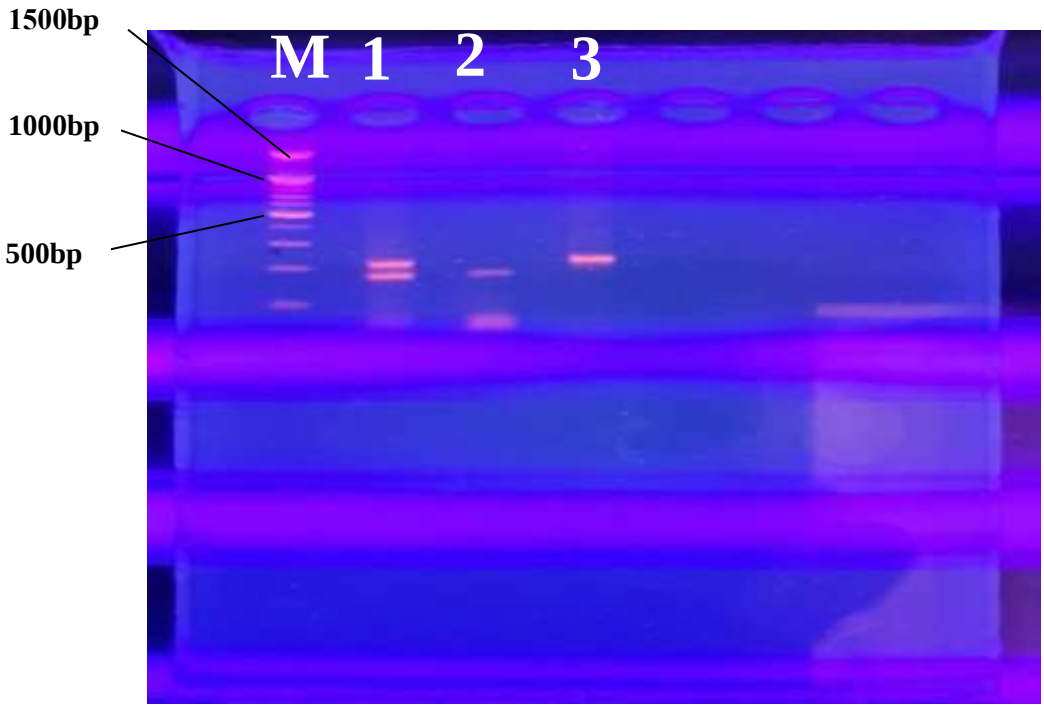
3.3.3- تفاعلات البلمرة المتسلسل المتعدد الحزم Multiplex-PCR

ان تقنية تفاعلات البلمرة المتسلسل المتعدد الحزم Multiplex-PCR تقنية ممتازة جداً في تشخيص انواع مختلفة من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة في برنامج تفاعلي واحد و ظهور وتشخيص الانواع يعتمد على الوزن الجزيئي الخاص بالبادئ ،الذي يكون خاص بكل نوع والذي يختلف عن الوزن الجزيئي للنوع الآخر .

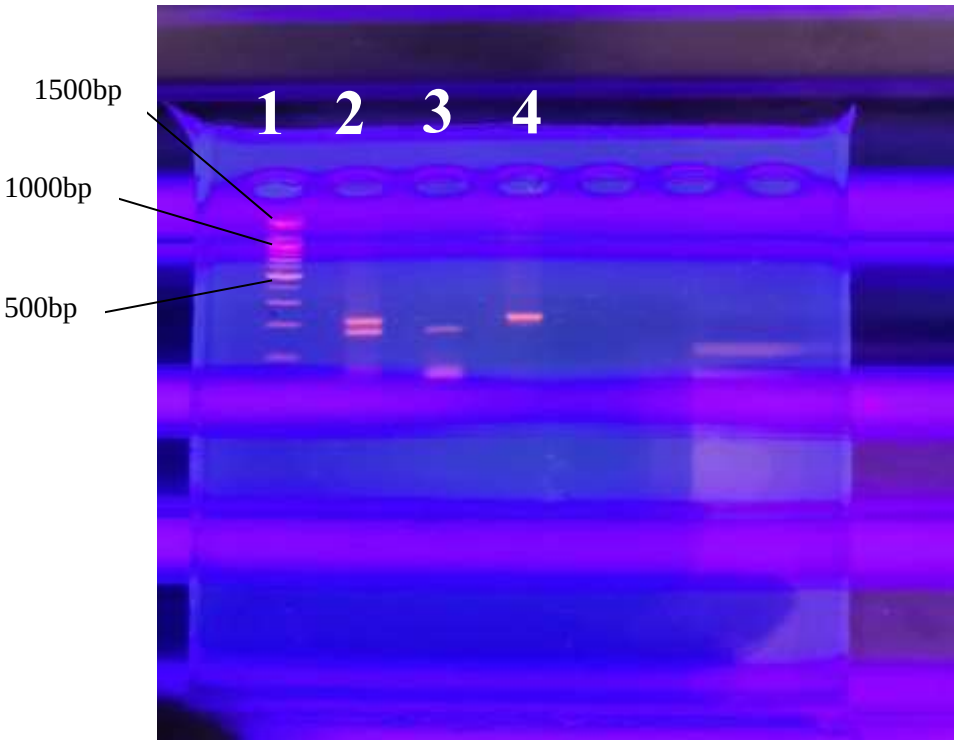
أظهرت نتائج التجربة الاولى ان درجة حرارة 51 ° م هي أفضل درجة حرارة لارتباط البوادئ في ثلاثة انواع من الآفات وهما *R.dominica* و *T.castenum* و *O.mercator* عند استعمال ثلاثة بوادئ في نفس انبوبة التفاعل وايضاً عن استعمال بادئ خاص بكل نوع في انابيب التفاعل لكل نوع بصورة مفردة .إذ ظهر النوع الاول بالوزن الجزيئي 286 bp ، أما النوع الثاني فظهر بالوزن الجزيئي 535bp ، أما النوع الثالث فظهر عند الوزن الجزيئي 200bp على التوالي (صورة 36) . أما في التجربتين الثانية والثالثة كانت درجة الحرارة 54 ° م هي الافضل في ارتباط البوادئ إذ إن في التجربة الثانية ظهر النوعان هما *T.granarium* و *C.maculatus* إذ ظهر النوع الاول بالوزن الجزيئي 210 bp والنوع الثاني عند الوزن الجزيئي 190 bp وفي التجربة الثالثة ظهرت نوعين هما *T.granarium* و *L.oryzae* بالوزن الجزيئي 210bp للنوع الاول و 190bp للنوع الثاني (صورة 37).



صورة (36) ناتج الترحيل الكهربائي لتفاعل البلمرة المتسلسل Multiplex-PCR لثلاثة أنواع. عينة(M) DNA Ladder ذات الحجم من 100-1500bp و عينة (1) الحزم الثلاثة لثلاثة أنواع من الآفات هما *T.castenum* و *O.mercator* و *R.dominica* وعينة (2) ذات وزن جزيئي 286bp للنوع *R.dominica* وعينة (3) بالوزن الجزيئي 535bp للنوع *T.castenum* والعينة (4) ذات وزن جزيئي 200bp للنوع *O.mercator* .



صورة (37) ناتج الترحيل الكهربائي لتفاعل البلمرة المتسلسل Multiplex-PCR لنوعين في عينة واحدة . عينة (M) DNA Ladder وعينة (1) الحزمتين لنوعين من الآفات هما *C.maculatus* و *T.granarium* وعينة (2) ذات وزن جزيئي 190 bp للنوع *C.maculatus* وعينة (3) بالوزن الجزيئي 210 bp للنوع *T. granarium* .



صورة (38) ناتج الترحيل الكهربائي لتفاعل البلمرة المتسلسل Multiplex-PCR لنوعين في عينة واحدة . عينة (1) DNA Ladder وعينة (2) الحزمتين لنوعين من الآفات هما *L.oryzae* و *T.granarium* وعينة (3) ذات وزن جزيئي 190 bp للنوع *L.oryzae.* وعينة (4) بالوزن الجزيئي 210 bp للنوع *T. granarium* .

تشابهت الاوزان الجزيئية عند استخدام نفس البادئ للنوعين *Callsobruchus maculatus* و *Latheticus oryzae* لذلك استخدام كل نوع بشكل منفصل مع النوع *Trogoderma granarium* (صورة 38) .

الفصل الرابع

المناقشة

4 – المناقشة Discussion

1.4- الدراسة التشخيصية المظهرية:

1- النوع *Tribolium castaneum*(Herbst,1797)

ينتشر هذا النوع في جميع انحاء العالم ، إذ ينتشر في قارات أمريكا و آسيا وافريقيا ووسط وشرق أوروبا (Hagstrum *et al.*,2013) سجـــل فـــي الـــعراق لأول مرة بعد ان أصيبت حبوب الحنطة والرز المخزون والدقيق (Buxton and Mellan,1918) كما سجل عام 1976 في العراق من قبل Abdul-Rassoul . من اكثر التسميات الشائعة لهذه النوع هي خنفساء الطحين الصدئية Rust flour beetle وخنفساء الطحين الحمراء Red flour beetle الموطن الأصلي لها الهند وأستراليا وتوجد بشكل واسع في مخازن الحبوب ومطاحنها وتتواجد بكثرة في المناطق الدافئة ومعتدلة الحرارة (Rees,2007; Tripathi *et al.*,2001) وسجل من قبل البكر (1962) في محافظة البصرة بعد اصابته للتمور المخزونة.

اشتهرت بتغذيتها على الفواكه المجففة والنشويات وتفضل الغذاء الحاوي على كميات كبيرة من البروتين وعند وجودها مع أنواع أخرى مثل سوسة الرز وثاقبة الحبوب الصغرى تسبب بفقدان محتويات الحبوب بكثره لهذه السبب اعتبرت آفة ثانوية إذ تتغذى على الحبوب الذي سبق و أصيبت بالآفات الأولية الأخرى (العراقي ،2002).

تطابق وصف النوع قيد الدراسة مع ما ذكرته سلمان وجماعته (2018) بأن قرون الاستشعار رأسية الشكل والنقر بمسافات على سطح الظهر الامامي والحواف الجانبية للحلقة الصدرية الأولى Pronotum مستقيمة في الشكل تقريبا . كما تطابق مع ما وصفه (2010) Farrell في تضخم الحلقات الثلاثة الطرفية لقرون الاستشعار بصورة مفاجئة وظهر الصدر الامامي عريض من المنتصف وحافة الراس منحنية ، كما تطابق وصف النوع المحلي مع ما وصفته مزهر(2022) ان العيون المركبة لها انبعاج واضح جداً و قطر العين المركبة يساوي المسافة بين العيون المركبة من الجانب البطني و عدم وجود أي ارتفاع فوق العيون المركبة و الدريع نصف كروي و العقل الثلاثة الطرفية لقرون الاستشعار تتضخم بشكل مفاجئ.

2- *Latheticus oryzae* Waterhouse,1880

ينتشر في افريقيا وآسيا وجنوب أمريكا وأوروبا (CABI,2021) وأشارت العديد من الدراسات إلى تواجد النوع *Latheticus oryzae* في لبنان وليبيا وسودان والعراق (Al-Ali,1977). سجل في بلغاريا لأول مرة من قبـــــــــــــــــــل (Sivilov & Cvetkovska – Gorgievska,2014) . و سجل في مصر عام 1927 من قبل Andre في الخشب المتحلل تحت لحاء الأشجار وترتبط مع الآفات الأخرى في الحبوب المخزونة (Badawi,1972) . سجل في العراق لأول مرة من قبل (Lobl *et al.*, (2008 و تصيب الحبوب المكسورة والنخالة (Srivastava and Subramanian ,2016) ويعد هذا النوع اقل انتشارا وتواجدا مقارنة بالنوع *Tribolium castaneum* .

تطابق وصفنا مع ما وصفه Badawi(1972) في الشكل الخارجي العام للجسم الا انه اختلف بينهما في اللون البني الفاتح واصغر بالحجم والراس طويل وممتد إلى الامام.

كما تطابقت ما تم ملاحظته في النوع الحالي مع ما وصفه Ress (2004) بان الحلقة الصدرية الامامية متوازية الجوانب و الجسم متطاول ومسطح والعيون تبدو على جانبي الراس على شكل هلال والحلقات الخمسة الطرفية لقرون الاستشعار بارزة ومميزة والحلقة الأخيرة اضيق من بقية الحلقات السابقة . كما و تطابق مع وصف Deshwal *et al.*, (2020) في لون الجسم الفاتح و الراس الطويل كما ذكر الباحث بتواجده في منتجات الحبوب المطحونة ووجد في الدقيق بدراستنا الحالية .

كما تطابق وصف النوع مع ما وصفته مزهر(2022) بان قرون الاستشعار صغيرة بالحجم واقصر من طول الراس ، ظهر الصدر الامامي شبه مستطيل في الشكل ، كما تطابق مع ما ذكره زكريا وجماعته(2014)الجسم بني مصفر وبراق .

3- *Oryzaephilus mercator* Fauvel,1889

تسمى بخنفساء الحبوب التجارية ، وتنتشر في افريقيا و أمريكا الشمالية والوسطى والشرق الأوسط و آسيا وامريكا الجنوبية وأوروبا (Hagstrum *et al.*,2013) سجل من قبل (1971)El-Haidari *et al.*, في العراق.

تطابق وصفنا مع ما ذكره Thomas and Woodruf (2011) بان الصدغ خلف العيون المركبة اصغر من ثلث قطر العين ويميل إلى الخلف بشكل حاد والاسنان المنشارية في حواف الحلقة الصدرية الأولى قليلة الحدة . كما تطابق الوصف مع مزهر(2022) بان العيون المركبة كبيرة و تطابق مع

وصف (1980) Halstead بان العيون المركبة كبيرة والصدغ قصير . كما تطابق مع ما ذكره (1956) Howeالذي اعتمد على كبر حجم العين و صغر الصدغ .

4- *Trogoderma granarium* Everts ,1898

ينتشر في أمريكا الوسطى والشمالية و الجنوبية و افريقيا وآسيا والشرق الأوسط واوروبا (Hagstrum *et al.*,2013) وسجل في العراق من قبل (1976) Abdul-Rassoul لأول مرة وقد ذكر (2006) Szito ان هذه النوع غير موجود في نيوزلندا وأستراليا .

تسمى ايضاً *Trogoderma arrow* و *Trogoderma affrum* وتعد واحدة من اسوء 100 نوعٍ غازي في انحاء العالم المختلفة (Athanassiou *et al.*,2019; Lowe *et al.*,2000) . ويعود موطنها إلى شبه القارة الهندية وتم تسجيله لأول مرة عام 1894 ((1916) Barnes and Grove, ; (Paini and Yemshanov,(2012) ; Rahman *et al.*,(1945).

وسجل في الولايات المتحدة الامريكية لأول مرة عام 1953 وبأعداد كبيرة في مستودعين للقمح والشعير ويعتقد انها دخلت بوقت مبكر عام 1946لكن شخصت بشكل خاطئ على انه خنفساء السجاد السوداء (Olivier) *Attagenus piceus* التي حاليا تسمى *Attagenus unicolor* . (Beal,1956;Armitage,1954)

تطابق وصفنا مع ما وصف Singh *et al* (2017) في الشكل الجسم البيضاوي المتطاول وقرون الاستشعار المكونة من 11حلقة والرأس الصغير المنحني للأسفل وكانت هناك اختلافات قليلة في الطول والعرض وفي وجود البقع البنية المحمرة غير الواضحة وفي نوعنا المحلي المشخص كانت هناك بقع واضحة ومميزة على الغمد في الذكور .

كما تطابق وصفنا مع ما وصفه (2019) Athanassiou *et al.*, بأن الطول من 2-3 ملم وهو مختلف عن طول النوع المحلي لكن تطابق مع صفات أخرى مثل الشعيرات الناعمة التي تغطي السطح البطني والظهري ووجود العين البسيطة بين العيون المركبة في منطقة الهامة وقرون الاستشعار.

أيضا تطابق الوصف مع ما ذكرتها الاتفاقية الدولية لوقاية النبات (2016),IPPC في ان الجسم بيضوي ، الراس المنحني للأسفل ، الحلقة الصدرية الامامية والبطن اغمق من الغمد ، الارجل بنية اللون ، الاناث اكبر حجما من الذكور وافتح باللون ، قرن الاستشعار من 11 حلقة ، القطع الكأسية الأخيرة في الذكر من 4-5 حلقات اما في الانثى من 3-4 .

تطابق وصفنا ايضاً مع ما وصف Kulkarni *et al.*, (2015) مع الطول والعرض والراس المنحني للأسفل مع 11 قطعة لقرون الاستشعار واللون الغامق للذكر مع بقع بنية غير واضحة على الغمد والذي يمكن تمييزها عن الاناث بكونها افتح باللون والبقع واضحة على الغمد .

5- *Rhyzopertha dominica* Fabricus,1792

ينتشر هذا النوع في جنوب أمريكا وامريكا الشمالية وامريكا الوسطى وأوروبا والشرق الأوسط واسيا وافريقيا (Hagstrum *et al*.,2013) سجل لأول مرة في العراق من قبل Derwesh (1965) و موطنها الأصلي هو المناطق الاستوائية وانتقلت عبر التجارة إلى المناطق شبه الاستوائية (العزاوي ومهدي ،1983) .تتميز بقابليتها على الانتشار على ما يقارب 1000م من نقطة الانطلاق والمناطق الذي تزداد فيها درجات الحرارة والرطوبة هي المفضلة لديها (Hagstrum ,2001).

العالم Fabricius هو اول من وصفه و تحت اسم *Synodenron dominicum* عام (1792) بعد ان أصيبت ثمار الجوز والبندق المستورد من الهند (Chittenden,1911) بعد ذلك في عام 1896 سجل العالم Lesne النوع تحت اسم *Rhyzopertha dominica* مع الوصف الكامل له النوع و كانت تسمى ببق الخشب قبل عام 1911(Potter,1935) و تعد من الآفات الأولية (صالح وعبدالستار ،2014) .

تطابق وصفنا مع ما وصف مزهر 2022 بان الدريع شبه مربع ، قمة الغمد مستديرة وعند منتصفه حفر وتسننات ، القطع الثلاثة الطرفية لقرون الاستشعار تتدرج في الطول وتتسع في احد طرفي القطع .

كما تطابق مع ما وصف (2012) Edde بان الشكل العام للجسم طويل واسطواني وذات لون بني محمر مائل إلى بني غامق، الرأس لا يمكن مشاهدته عند النظر اليه من الأعلى ، لأنّه يختفي تحت الحلقة الصدرية الأولى ، ظهر الصدر الامامي يتملك اسنان تشبه المبرد خاصة في المقدمة ، الغمد متوازي الجوانب وسطح الصدر والغمد منقر. وكانت هناك اختلافات قليلة في الطول والعرض عن نوعنا المحلي المسجل في الدراسة.

تطابق وصف Park *et al* (2015) مع وصف نوعنا المحلي إذ تراوح الطول بين 2.1- 3.0ملم واختلف في لون العام للجسم بكونه كستنائي إلى بني فاتح و قرون الاستشعار مكونه من 11 عقلة وتطابق مع شكل الحلقات الثلاث الطرفية لقرون الاستشعار وكانت كأسية و قمة الغمد مستديرة وتوجد على سطحه شعيرات قصيرة ومصفرة .

و تطابق نتائج دراستنا الحالية مع كل من وصفه (2005) Robinson و(2007) Rees و (2012) Mason and McDaugh بان اللون بني فاتح إلى بني داكن إلى الأسود مع سطح خشن إلى حد ما .

كما ذكر Rees (2007) و McDonough (2012) بان الجسم اسطواني وعند النظر اليه من الأعلى يكون مختفي تحت الحلقة الصدرية الأولى وتطابق مع وصف Rees (2007) للبطن إذ نهايتها مدببة والغمد ينحني تدريجيا على نهاية البطن و سطح الصدر والغمد عليه حفر ، و تترتب الحفر على الغمد بشكل خطوط طولية مما يمنحها مظهراً مخططا . وتطابق مع وصف McDonough (2012) Mason andلقرون الاستشعار إذ تتكون من عشر حلقات والثلاث الطرفيات كأسية الشكل .

6 - *Callsobruchus maculatus* Fabricius ,1775

اقترح اسم *Callsobruchus* بوساطة Pic (1902) كتحت جنس *Bruchus* من بين 58 جنساً من خنافس البذور. يختلف جنس *Callsobruchus* عن الاجناس الأخرى بوجود اشواك تحت قمة كل من الحافة الداخلية والخارجية لفخذ الارجل الخلفية (Borowiec,1987) .

يشار له بسوسه الا انه يفتقر إلى الخطم المميز للسوس وينتمي إلى مجموعة متنوعة من خنافس البقول Bruchid beetle عائلة Chrysomelidae يمكن تميزها عن باقي خنافس البقولية الأخرى بالجسم المتطاول ولون جسم البالغات الأحمر البني والغمد القصير الذي لا يغطي الحلقة البطنية الأخيرة في الاناث (Idowu *et al.*,2022)

ينتشر في قارات افريقيا وأوروبا وامريكا الشمالية و الجنوبية و سجل في قارة آسيا في العديد من البلدان من هذه البلدان كالصين و الهند و إندونيسيا و ايران و العراق و الكويت و سريلانكا و سوريا و تايلند و تايوان و تركيا و اليمن وباكستان (Hagstrum *et al.*,2013) وسجل في العراق لأول مرة من قبل Derwesh (1965) .

اختلف وصفنا قليلا عن ما وصفته مزهر(2022) في طول الاناث وتطابق مع شكل الجسم البيضوي المتطاول وكبر حجم الاناث والشعيرات البيضاء التي تكون بقع غير منتظمة بالشكل وقرون الاستشعار المنشارية في الذكور والاناث والحافة الداخلية لفخذ الارجل الخلفية ملساء والزوائد الموجودة بالقرب من القمة اكبر من تلك الموجودة في الحافة الخارجية.

و تطابق وصف النوع المحلي مع وصف جاسم (2019) في الشكل العام للجسم بيضوي وذات لون بني و هناك بقعة بيضاء عند قاعدة Pronotum و في منتصف الغمدين بقع سوداء تبدو مثلثة الشكل و

كبر حجم الاناث عن الذكور ونهاية بطن الاناث المدببة والقصيرة في الذكور و هناك اربع بقع على الغمدين موجودة في الاناث غير موجودة في الذكور وقرون الاستشعار من النوع المنشاري واقل تسنن في الاناث مما في الذكور .

وصف النوع المحلي تطابق مع وصف (Seram *et al.*, 2022) في قرون الاستشعار المنشارية ولون الجسم ذات لون بني مع بقع داكنة موجودة على اغماد الاناث وظهر الصدر الامامي Pronotum اسود اللون وذات شعيرات ذهبية و الحلقة البطنية الأخيرة في الاناث خارج الغمد مع بقعتين سوداويتين بينما البطن في الذكور تكون بطول الغمد.

ذكر Fatima *et al.*,(2016 ان الحافة الداخلية لفخذ الارجل الخلفية ملساء وظهر الصدر الامامي Pronotum غامق باللون و تنتشر على سطحه شعيرات ذهبية و العيون بارزة و الراس منحني تحت الحلقة الصدرية الأولى وكان هذا متطابق تماماً مع وصفنا للنوع المحلي .

7- *Cryptolestes ferrugineus* Stephanus ,1831

خنفساء الحبوب الصدئية والمعروفة باسم خنفساء الحبوب الصدئية الحمراء او خنفساء الحبوب المسطحة وصفها (1831) Stephens باسم *Cucujus ferrugienus* وادراج *Cryptolestes* تحت جنس subgenus لجنس *Laemophloeus* وتم الإشارة إلى الحشرة باسم *Laemophloeus ferrugienus* (Stephens) بينما اوضح Casey ان *Cryptolestes* هو جنس فردي و بسبب طبيعتها المميزة والمتفق عليها من قبل العديد من الباحثين مثل Sheppared (Rilett,1949) .

سجل النوع في اكثر من 110 دولة وعثر عليها في انحاء مختلفة من العالم وفي ظروف مناخية مختلفة وسبب انتشارها قابليتها على التطور والتكيف في الظروف المناخية و ظروف التجارة العالمية (Sinha and Walter ,1985) و من بين 195 دولة تم ذكرها في قائمة منظمة الأغذية والزراعة (FAO,2023) لم تكن هناك مصادر تؤيد وجود هذا النوع في 82 دولة في القارات المختلفة و منها أمريكا الجنوبية (Kislev and Simchoni.,2007) و أوروبا (Barrer,1983) وآسيا وافريقيا (Casteels *et al.*,1996) و هناك بلدان مثل كندا تتميز بشتاء بارد ويكون انتشار الآفات فيها محدود ومع هذه الظروف شخص النوع في أوائل الاربعينات كواحدة من الآفات الرئيسة في غرب كندا و كما وجد في الحفريات الاثرية الرومانية في إنكلترا وفلسطين (Kislev and Simchoni.,2007).

تطابق وصفنا الحالي مع (1991) Arbogastو (1993) Halsted بان قرون الاستشعار نصف طول الجسم و ظهر الصدر الامامي Pronotum ضيق من الخلف وخاصة في الذكور .

و كما تطابق مع وصف (1976) Biege and Partida بوجود Sulcus فوق العيون المركبة والحافة الخلفية لظهر الصدر الامامي ضيقة .

Sitophilus oryzae L,1785 – 8

سجل في انحاء مختلفة من العالم و هو واسع الانتشار فقد سجل في العديد من القارات منها افريقيا و آسيا و أوروبا و منطقة البحر الكاريبي و الشرق الأوسط و أمريكا الجنوبية و الشمالية والمكسيك (Ebrahimi,2020) كما سجل في العراق لأول مرة من قبل (1965) Derwesh .

اقترح النوع *Sitophilus oryzae* لأول مرة من قبل Linnaeus و وضع في جنس *Curculio* فيما بعد اقترح العديد من الأسماء المرادفة بعد ذلك اقترح Schoenher,1838 (Schonherr,1836) جنس *Sitophilus* لهذه النوع من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة ووصف (Motschulsky 1855,) سوسة الذرة وتم جمعها من نباتات الذرة ولهذه النوع أوجه تشابه كبيرة مع سوسة الرز وفي الكثير من الحالات يتم الخلط بينهما في التشخيص في وقت سابق او تم اعتبارهما شكلين Morphs (Kuschel,1961 ; Plarre,2013) وهكذا تم تسمية السوستين على انهما الأنواع الشقيقة Sister species أو الأنواع المستترة Sibling species مما يمثل أوجه التشابه التام بينهما (Plarre,2013) .

تطابق وصف نوعنا المحلي مع الرهبان وعدوان (2011) بلون الجسم البني المائل إلى الأسود والثقوب والنقر المستديرة الصغيرة على سطح الصدر ولمقدمة الجسم خطم متطاول واسطواني ووجود الجناح الخلفي و جسمها اسطواني ومتطاول وبيضوي .

اختلف قليلا وصف نوعنا المحلي مع ما وصفته مزهر (2022) بالحجم وتطابق من حيث اللون البني الغامق المائل إلى الأسود والجسم المكسو بشعيرات وخاصة في نهاية الجسم وقرون الاستشعار من النوع المرفقي –الصولجاني ووجود اربع بقع صفراء المحمرة على حواف الغمد ووجود نقر بشكل خطوط طولية عددها 11 متوزعة على طول الغمد و الدريع الصغير ومثلث الشكل ذات القمة مستديرة وذات اللون الأسود والمعادلة الرسغية المكونة من 4-4-4.

وتطابق الوصف ايضا مع وصف (2017) ,.*et al* Devi بلون جدار جسم الخارجي الأسود المحمر ووجود اربع بقع شاحبة حمراء على جانبي الغمد وقد اختلف نوعنا في شكل النقر الموجودة على ظهر الصدر الامامي إذ كانت اهليجية في حين في نوعنا المحلي كانت مستديرة .

9- *Anisopetromalus calandrae* Howard ,1881

يعد المتطفل الوحيد في الدراسة الحالية و من المتطفلات الخارجية على العديد من الآفات التي تصيب الحبـــــــــــوب المـــــــخزونة مثـــــــــل *Sitophilus zeamais* (Wiliams and Floyed,1971;Arbogast and Mullen,1990) و *Sitophilus oryza* (Lucas and Riudavets,2002;Press,2016;Riudavets and Lucas,2000) و *Sitophilus granaries* (Hansen and Steenberg,2007) و *Callsobruchus maculatus* و *Rhyzopertha dominica* (Ngamo *et al.*,2007) و *Stegobium paniceum* و *Tribolium castaneum* و *Oryzaephilus surinamensis* (Sureshan ,2003) (Ahmed ,1996;Menon *et al.*,2002) .

وهو عالمي الانتشار (Sureshan,2010) ، كما وجد في جمهورية تشيك و مصرو بنكلادش و الولايات المتحدة الامريكية (Noyes ,2003) .وصف في العراق لأول مرة من قبل Abdul-Rassoul (1990) كمتطفل يصيب الخنافس التي تصيب البقوليات .

ذكرت (Fatima *et al.*, 2016) انه يتطفل على نوعين هما *Callsobruchus maculatus* و *Callsobruchus chinensis* التي تصيب الفاصوليا والحمص .

تطابق وصف النوع المحلي مع وصفة (Al-Obaidy *et al.*, 2019)ان اناثه البالغة لونها اسود داكن ، صغيرة بالحجم ، قرون الاستشعار غامقة ما عدا قطع 1 و 2 و3 وقاعدة الرابعة فهي صفراء كما في قاعدة الفخذ وقمة الساق والرسغ ، العيون المركبة داكنة حمراء بيضوية ، الصدر اسود ، الجناح شفاف ، الارجل قصيرة و سوداء ما عدا الفخذ وقاعدة الساق ، والرسغ أصفر، البطن سوداء وآلة وضع البيض قصيرة ومقسمة .

كما تطابق الوصف مع وصف (Bodlah *et al.*, 2016) بأن الرأس والصدر اسود و الراس عريض وقرون الاستشعار ذات اصل لا يصل إلى العيون البسيطة و مقدمة الدرع ذات حافة حادة ، الدريع اسود بني لماع معدني اخضر ومتطاول أطول من الصدر الأوسط والراس مجتمعان و الحرقفة متطابقة باللون مع الصدر الأوسط .

أوضح(Hamdy (2023 ان الجسم اسود ، قرون الاستشعار مرفقية ، الحلقات بنية غامقة ، الحلقات الأخيرة صفراء او صفراء مائلة للبني ، الراس بيضوي و يتميز بوجود ثلاث عيون بسيطة بالإضافة إلى زوج من العيون المركبة الحمراء الداكنة ، هناك خصر بين الصدر والبطن ، حرقفة والمدور والفخذ اسود او اسود بني في حين الساق والرسغ اصفر.

10-يرقات النوع *Tribolium castaneum*

سميت هذه الخنافس باسم حشرات النخالة Barn bugs وسبب تسميتها كونها تتغذى على الحبوب المتضررة والمتكسرة الناتجة عن إصابة الآفات الأولية Primary grain pests وان الدقيق المصاب بهذه الآفة يفقد الكثير من خواصه مثل المطاطية واللزوجة مما يجعله غير صالح للاستخدام (سليمان ،2005) .

تتغذى هذه الآفة على الفاكهة المجففة والنشا و تفضل الأغذية الغنية بالبروتين (العراقي، 2002) و تطابق وصف يرقة النوع المحلي مع وصف (2016) Sreeramoju *et al.*, و Soomro and Ahmed, (2023) و العزاوي ومهدي (1983) بأن اليرقة تمر بستة أدوار يرقية وهي نحيلة و اسطوانية و لونها كريمي او اصفر مع راس بني و تمتلك ستة ارجل مع شوكتين Forked متشعبين في النهاية الخلفية من جسمها .

11- يرقات *Trogoderma granarium*

تتميز يرقات عائلة Dermestidae بشعيرات تسمى Hastisetae ولهذه الشعيرات عدد من التأثيرات الصحية على الانسان مثل تهيج البشرة و الحساسية كما قد يحدث التـــــهاب الانف (Ruzzier *etal.*,2020;Brito *et al.*,2002) او الربو عند التعرض للغبار الحاوي على هذه الحشرات (Bernstein *et al.*,2009) .

يعتقد ان موطنها الأصلي شبه القارة الهندية ومنها انتشرت عن طريق التجارة إلى شرق آسيا وأوروبا وافريقيا وامريكا الجنوبية (Trematerra and Throne ,2012) وحسب (2018) Riudavets *et al.*, ان النوع هذا غير موجود في اسبانيا .

لليرقات قابلية التغذي على الحبوب ذات المحتوى الرطوبي اقل من 2% والبقاء على قيد الحياة لمدة قد تصل إلى ثلاث سنوات في سبات دون غذاء وهذا يجعلها تنتشر في الأماكن غير المصابة او عن طريق وسائل النقل ومن خلال الحبوب المصابة بهذه الآفة (Saure,1992) .

تطابق وصفنا الحالي مع وصف Beal and Stehr,(1991) بلون الجسم الابيض المصفر و بشكل موحد ويغطي الجسم نوعين من الشويكات وهما Spiciseta وهي شعيرات موجهه للأعلى ومغطاة بقشور scales صلبة و صغيرة و مدببة و شويكات Hastisetae الرمحية الشكل و المتعددة القطع . ينتشر النوع الاول من الشويكات بشكل مبعثر على السطح الظهري للراس والجسم و هنالك مجموعتين منها الطويلة على الحلقات البطنية وتأخذ الموجودة على الحلقة التاسعة شكل الذيل ، في حين ان

Hastisetae موجود في جميع القطع البطنية لكن الموجودة على الحلقات الثالثة او الاربعة البطنية الاخيرة تبدو بشكل خصلات مميزة ومزدوجة ومنتصبة .

وصفنا تطابق مع (CABI ,(2022 بان اليرقات ذات شويكات تترتب بأطوال مختلفة على السطح الظهري وتبرز فرشاة من Spicisetae طويلة على الحلقة التاسعة من البطن للخلف مثل الذيل ، طول الفرشاة يتناقص بالنسبة لحجم الجسم مع نمو اليرقات ، تظهرشوكة Hastisetae على الصفائح الظهرية في خصلات مميزة لرأس يشبه الرمح .

وتطابق ايضاً مع Singh *et al.*, (2017) بأن لها ذيلاً طويلاً يتكون من عدد من الشعيرات المحمولة على الحلقة البطنية الأخيرة و لون الجسم ابيض مصفرو شعيرات الرأس والجسم تبدو بنية وايضاً تتميز بوجود نوعين من الشعيرات .

4 -2 الدراسة الجزيئية

تمثل رتبة الخنافس اكبر الرتب الموجودة في المملكة الحيوانية (Campbell,1979) وعلى الرغم من ان هناك العديد من الدراسات التي ركزت على الخصائص المورفولوجية واعداد مفاتيح تصنيفية للخنافس ولمختلف مراحل الحياة للأنواع او الاجناس المختلفة بالدرجة الأساس (Rabijith *et al.*,2012) الا ان هناك صعوبات في تشـــــــخيص الأنواع (Ball &Armstrong .,2006) وان الدراسات التصنيفية التي كشفت عن وجود الاختلافات المظهرية الكبيرة داخل الأنواع ظهرت معضلة كبيرة في التشخيص وخاصة الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة (Ball *et al.*, 2005; Singh and Singh ,2014) وبسبب امتلاك الحشرات تنوعاً وراثياً هائلاً وبالأخص آفات المخازن يمكن استخدام التقنيات الجزيئية التي تركز على مؤشرات الحامض النووي DNA في تشخيص التنوع الوراثي الهائل و لا تقتصر الاختلافات في الحشرات بشكل عام على الخصائص المظهرية فقط ، بل ايضاً على السلوك والحجم داخل المجموعات الحشرية وحتى داخل افراد النوع نفسه (Peterson *et al.*,2012) ان التشخيص المعتمد على المؤشرات الجزيئية و على وجه الخصوص مؤشرات DNA سريع الأداء و ذا دقة عالية وبسيطة (Posada,2008) .

يمكن الكشف عن النشوء والتطور و تشخيص الأنواع عن طريق استخدام جينات المايتوكوندريا mtCOI وهو جين وراثي وبسبب صغر حجمه و سهولة عزله و وفرته وتفضيله في تشخيص او معرفة التسلسلات الجينومية الخاصة بكل نوع استخدم بشكل واسع في التصنيف ومعرفة التطور الذي يحدث في الأنواع وبسبب صغرة يجعل الاختلافات التي تظهر بين انواع الحشرات كبيرة (Lahay *et al.*,2008) .

ركزّت المفاتيح التصنيفية الخاصة بالآفات التي تصيب الحبوب المخزونة والذي اعتمدت في التصنيف والتشخيص على الصفات المظهرية و شملت الصفات الخاصة بالرأس وقرون الاستشعار و الصفيحة الظهرية والجانبية للصدر الامامي والبطن (Halsted, (1986 ; Adams, (1995) ; Pereira and Almeida ,(2001) ; Kingsolver, (2004) ; Pereira and Salvadori,(2006) ; Mandali, (2020) .) و على سبيل المثال النوعين التابعين لجنس *Tribolium* و هما *Tribolium castaneum* و *Tribolium confusum* متشابهين من ناحية الشكل والحجم والتواجد على نفس الوسط الغذائي و هو الدقيق المصاب ، إذ من الصعوبة التمييز بينهما وهناك حاجة إلى وسيلة يمكن من خلالها تسهيل عملية التشخيص وتأكيد التصنيف المظهري مثل استخدام تقنية تفاعلات البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (Ming *et al.*,2015) وعن طريق التشخيص الجزيئي المعتمد على تقنية PCR يمكن تزود الباحث المبتدئ أو عديم الخبرة بالمعلومات في مجال تحديد و تصنيف الأنواع غير المعروفة وحتى تشخيص الأنواع الجديدة وقد يرتبط التنوع الوراثي الموجود في آفات الحبوب المخزونة بالأصل الجغرافي للسلالات او قد تكون بسبب الترابط التجاري بين البلدين (Ajayi and Rahman ,2006) .

استخدم في الآونة الأخيرة مؤشرات الحامض النووي لتأكيد التشخيص المظهري والذي تعتمد على التنوع الوراثي الذي يحدث في تسلسلات mtCOXI والمعروفة باسم DNA barcode (Hebert *et al.*,2003) و هناك العديد من الدراسات التي استخدمت مؤشرات الحامض النووي لإيجاد الاختلافات بين نوعين او الافراد داخل النوع نفسه (Zufall *et al.*,2013;Gupta and Jindal ,2013) .

أكد تشخيص أنواع الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة في الدراسة الحالية باستخدام تقنية تفاعلات البلمرة المتسلسل التقليدي لتضخيم الجين mtCOI لتأكيد التشخيص المظهري ووضع قاعدة بيانات لتلك الآفات في بنك الجينات Gene bank .

معدل التطابق الوراثي بين الأنواع المحلية المدروسة والانواع المسجلة في بنك الجينات والموزعة في انحاء مختلفة من العالم بما في ذلك الهند وألمانيا و المكسيك و كوريا الجنوبية للنوع *Tribolium castaneum* و الولايات المتحدة الامريكية و الهند ونيجيريا للنوع *Oryzaephilus mercator* واليابان و الولايات المتحدة الامريكية للنوع *Trogoderma granarium* والهند وألمانيا و كوريا الجنوبية للنوع *Rhyzopertha dominica* والولايات المتحدة الامريكية بالنسبة للنوع *Callsobruchus maculatus* 100% وتشير نسبة التطابق هذه إلى ان النوع حافظ على تركيبة الوراثية و انتقل مع الحبوب بين القارات واصبح قادراً على الانتشار والتكيف مع التغيرات المناخية والبيئية المختلفة .

استعمل في الدراسة الحالية البادئ العام الخاص باللافقاريات للأنواع الخمسة من الآفات و المتطفل الواحد للحصول على تسلسلات لجين COI و الموجود في المايتوكوندريا وساعدت تلك التسلسلات في إيجاد التطابق بين التشخيص المظهري والوراثي ،بهذا تم تأكيد التشخيص المظهري للأنواع المحلية في دراستنا الحالية كما سجلت الأنواع في بنك الجينات تحت ارقام انضمام خاصة بكل نوع يمكن الاستفادة منهما مستقبلا وتكون بمثابة مصدر للآفات في محافظة ميسان والعراق .

استعلمت العديد من الدراسات البادئ المستخدم في الدراسة الحالية مع اختلاف درجات الارتباط لتمييز او تشخيص أنواع في انحاء مختلفة من العالم وحتى في محافظات مختلفة من العراق ، بما في ذلك دراسة Aslam *et al.*, (2019_a) في بنكلادش ميز بين نوعين متشابهين مظهرياً هما *Tribolium castaneum* و *Tribolium confusum* بدرجة ارتباط 72° م واظهرت النوعين بوزن جزيئي 658 زوج قاعدي . شخص الباحث نفسه Aslam *et al.*, (2019_b) ثلاثة أنواع من الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة وهذه الأنواع *Callsobruchus chinensis* و *Sitophilus oryzae* و *Oryzaephilus surinamensis* مع درجة ارتباط 49 ° م .

حدد في الصين (Varadinova *et al* ., 2015 خمسة أنواع تنتمي إلى جنس *Cryptolestes* في شمال الهند ومواقع جغرافية أخرى . واستخدم (Chandel *et al.*, 2019) تتابعات البادئ لإيجاد التباين الوراثي الحاصل في النوع *Rhyzopertha dominica* بدرجة حرارة ارتباط 48° م واظهرت الحزم بوزن جزيئي 700 زوج قاعدي .

اما في العراق و في محافظة ديالى استعمل (Hamad and Sultan 2021) درجة حرارة ارتباط 55° م لتشخيص النوعين *Tribolium castaneum* و *Tribolium confusum* .

و من الدراسات الأخرى في العراق دراسة مزهر (2022) التي قامت بالتشخيص الجزيئي للآفات التي تصيب محاصيل مختلفة منها الرز و الماش و البازلاء الصفراء و الذرة والشعير و الطحين و الحنطة و الحمص والعدس والفاصوليا والباقلاء والسميد واللوبيا الحمراء والشوفان في محافظات الموصل وبغداد وصلاح الدين وذي قار باستخدام نفس البادئ واظهرت الحزم بعد الترحيل الكهربائي بوزن جزيئي 700 زوج قاعدي وهذا تطابق مع ما توصلنا اليه في دراستنا الحـــــالية بالوزن الجزيئي نفســـــه للانواع *Tribolium castaneum* و *Trogoderma granarium* و *Rhyzopertha dominica* و *Callsobruchus maculatus* و *Oryzaephilus mercator* مع اختلاف في درجة الارتباط التي كانت 58 ° م في دراسة مزهر في حين كانت في دراستنا 49 ° م وللنوع *Rhyzopertha dominica* كانت 48 ° م .

ومن الصعوبات التي تمت مواجهتها خلال الدراسة الحالية هي خطوة استخلاص الحامض النووي DNA اذ ان غمديات الاجنحة تحتاج إلى فترات حضانة أطول عند استخدام الكاملات مقارنة باليرقات او استخدام ارجلها فقط وذلك بسبب الهيكل الخارجي الصلب الذي يغطي الجسم بالكامل والذي يتكون من الكايتين و البروتينات المعقدة و الببتيدات و طبيعة هذه المركبات تقلل من كفاءة المواد المستخدمة في الاستخلاص ومن ثم يقلل من تركيز الحامض النووي المستخلص ونقاوته ولهذه السبب أجريت العديد من التعديلات في طريقة العمل و من هذه التعديلات زيادة فترات الحضانة عند استخدام الكاملات من ثلاث إلى خمس ساعات أو اكثر مع الرج المستمر كل 15 دقيقة للعينات خلال فترة الحضانة للتأكد من دخول المركبات إلى الانسجة وتدمير الانسجة والخلايا والوصول إلى الحامض النووي DNA واستخراجه .

3.4 – دراسة الكشف المبكر عن الآفات التي تصيب الحبوب المخزونة

تعد الحبوب الغذاء الأول الثابت عالمياً وحصادها الموسمي يتطلب فترات تخزين مختلفة أما قصيرة او طويلة الامد (Rajashekar *et al.*,2010) تتعرض الحبوب في اثناء فترة التخزين و الشحن إلى العديد من الآفات منها الحشرية الذي تشكل اكثر من 60 نوعا منها الخنافس العائدة إلى رتبة غمدية الاجنحة و العث التابع لرتبة حرشفية الاجنحة ومنها غير الحشرية الذي تشمل الحلم الذي يعود إلى صف العنكبوتيات و القوارض والطيور (Dragisic Maksimovic *et al.*,2015; Rajashekar *et al.*,2010;Holst *et al.*,2000) كما ان درجة حرارة ورطوبته الخزن غير السليمة تؤدي إلى نمو الحشرات مما يؤدي إلى اضرار بايلوجية وكيميائية (Chattha *et al.*,2015) ولهذه الأسباب من الضروري اجراء فحص دوري للحبوب لغرض الكشف المبكر عن الحشرات من اجل تقليل فقدان الحبوب وتلفها (Ngom *et al.*,2020) .

ان وجود الحشرات في الحبوب المخزونة يقلل من وزن الحبوب وقيمتها الغذائية وتكون الخسائر النوعية عن طريق تلويث الحبوب بفضلات الحشرات من براز وجلود الانسلاخ و الشرانق والعذارى بالإضافة إلى الروائح (Collins ,2012) .

ينتج عن وجود الحشرات العديد من المشاكل الصحية مثل الاسهال والحساسية (Arbogast *et al.*, 2000; Athanassiou *et al.*, 2017) كما تساهم بعض هذه الآفات الحشرية في نقل الفطريات منتجة للسموم الفطرية (Hell *et al.*,2000) بالإضافة إلى ان بعض الأنواع تنقل البكتريا المسببة للأمراض مثل السالمونيلا و المكورات المعدية (Crumrine *et al.*,1971) كما يمكن ان تتأثر الحيوانات في حال تغذيتها على الاعلاف الملوثة بهذا الحشرات (Channaiah *et al.*,2010) .

يعتمد وبشكل روتين يومي الفحص البصري والغربلة بشكل واسع للكشف عن وجود الإصابات الحشرية في الحبوب (Aspaly *et al.*,2007) هنالك طرق أخرى مثل استخدم للكشف عن وجود الإصابات الداخلية والمختفية في الحبوب مثل تصبيغ الحبوب للكشف عن الاصابات (Shi *et al.*,2016) و التصوير المقطعي الدقيق بالأشعة السينية (Toews *et al.*,2006) و التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء (Perez-Mendoza *et al.*,2005) وتحليل حامض اليوريك (Wehling *et al.*,1984) و تستخدم هذه الطرائق اعتماداً على نوع الحشرة وطورها ونوع الحبوب (Abels and Ludescher,2003; Dasmahapatra *et al.*,2010) .

استخدمت في الآونة الأخيرة التقنيات الجزيئية على نطاق واسع في الكشف عن العديد من الكائنات الحية مثل الفايروسات و البكتريا والفطريات والآفات الحشرية بسبب سرعتها الكبيرة و دقتها العالية و سمحت ايضاً بإجراء تحليل لمدى واسع من العينات والنماذج (Nowaczyk *et al.*,2009) وتمتاز تقنية PCR باستخدامها في الكشف عن مكونات الكائنات المعدلة وراثيا في الغذاء (Ciabatti *et al.*,2006) و الكشف عن الآفات الأولية التي تقضي دورة حياتها حتى داخل الحبوب وأثناء مراحل تطورها اليرقي المبكر وذلك باستخدام شفرات الحامض النووي DNA و عن طريق تحليل قطعة صغيرة من DNA كتسلسل مرجعي لتشخيص الأنواع (Abels and Ludescher,2003; Dasmahapatra *et al.*,2010).

و تعد تقنية Multiplex –PCR على وجه الخصوص المعتمدة في دراستنا الحالية هي من الطرائق الذي تكون بسيطة في التنفيذ وعادة ما تكون الأخطاء فيها قليلة وتوفر الكثير من الوقت مقارنة مع باقي الطرائق Singleplex-PCR (Bai *et al.*,2009) كما تعد من الطرائق الجزيئية الموثوقة في الكشف عن الإصابات الداخلية للآفات .

ان احد الأسباب الرئيسية لاختيار طريقة Multiplex-PCR كطريقة مناسبة هو اجراء اختبار خصوصية لمجموعة واسعة من الأنواع و التي يتوقع وجودها في مخازن الحبوب كما يعمل على جميع مراحل نمو الآفات ابتداءا من البيضة وصولاً و إلى الكاملات وحتى عندما تكون هناك بقايا من أنواع الحشرية (Andrew King *et al.*,2011) .

لم تظهر مراجعاتنا للبحوث والمراجع السابقة دراسات كثيرة حول موضوع تشخيص وجود الآفات الحشرية المخزنية داخل الحبوب ماعدا دراسة Sola *et al.*, (2018) والتي استخدمت ايضاً طريقة Multiplex –PCR اما فيما يخص العراق فتعد الدراسة الحالية في الكشف المبكر عن الإصابات في الحبوب المخزونة هي الأولى والتي أجريت للكشف عن إصابة الحبوب في الآفات وقد تطابقت دراستنا مع دراسة Sola *et al.*, (2018) بأن الوزن الجزيئي للنوع *Rhyzopertha dominica* *كان*

286bp بينما الأنواع الأربعة الأخرى كانت بأوزان مختلفة وبحسب النتائج التي ظهرت في دراستنا الحالية .

ملاحظات حقلية حول طريقة خزن الحبوب

لوحظ خلال جمع عينات حبوب الحنطة من الفروع الثلاثة التابعة للشركة العامة لتجارة الحبوب – فرع ميسان وللموسمين إذ ان الموسم الاول في كانون الثاني 2021 والموسم الثاني في آيار 2021 . ان هناك طرائق مختلفة لخزن الحبوب ولكل موقع طريقة الخاصة بالخزن إذ كان الخزن الموقع الاول في الصوامع الحديدية في حين في الموقع الثاني كان الخزن بشكل مسقفات و في الموقع الثالث كان بشكل اكداس.

و بعد موسم الحصاد تنقل حبوب الحنطة بوساطة سيارات النقل إلى الافرع الثلاثة. و يتم في المختبر التابع للشركة يتم اخذ عينة قدرها خمسة كيلو غرام لكل سيارة نقل بوساطة قلم الفحص وتنقل للمختبر لغرض اجراء الفحوصات العينية عليها و في بداية الامر يتم اخذ 50 غرام من العينة و تنخل بوساطة منخل وتفرش باليد لغرض فحص للتأكد من وجود الحشرات او الحبوب الملونة او الروائح الكريهة ، بعد ذلك تنقل إلى منخل ذي ثلاث طبقات وتنخل بقوة لسقوط الكسرة في الطابق الثاني و غيرها من الشوائب في الطابق الثالث من المنخل ، اما الشوائب مثل الذرة والماش والعدس فيتم عدها يدوياً و تنقل كمية الشوائب و الكسرة كلا على حده في وعاء ، توزن بميزان حساس و يضرب الناتج في 2 ويجب ان يكون الناتج اقل من 3% وفي حال تجاوزت النسبة 3% ترفض العينة .

كذلك تؤخذ عينة مقدارها 250 غم من حبوب الحنطة وتنقل إلى اسطوانة جهاز الموتومكو المعد لغرض قياس المحتوى الرطوبي لحبوب الحنطة ،الذي يعمل على مرور الايونات السالبة بين القطبين الموجودين في الأسطوانة السفلية والذي يقوم بدوره بتحويلها إلى لوغاريتمية خاصة تشير إلى قراءة رطوبة الحبوب ويعبر عنها بالنسبة المئوية هذه هي الطريقة معتمدة من قبل وزارة التجارة والسيطرة النوعية .

وتحدد وزارة التجارة المستويات المسموحة من الرطوبة سنوياً وخلال فترة جمع العينات وفي الموسمين كانت 14% وفي حال تجاوزت نسبة الرطوبة ذلك ترفض العينة ويوضع بعد ذلك المحرار الزئبقي في داخل حبوب الحنطة المتبقية في الكيس ، غالبا ما يعتمد على الرطوبة وكمية الشوائب و الكسرة اكثر من العوامل الاخرى وكما يتم قياس الوزن النوعي المعتمد لعينة مقدارها 250 غم ويطابق الوزن مع الوزن المتفق عليها من قبل وزارة التجارة .

لوحظ ان الصوامع الحديدية كانت قريبة من الاماكن السكنية كما توجد الكثير من الفضلات قريبة من هذه الصوامع بالإضافة إلى وجود القوارض والطيور في المواقع الثلاثة .

وكان يستخدم في الفرع الثالث التابع للشركة و القريب من معمل بلاستيك العمارة مبيد فوسفينSANPHOS (Aluminium phosphide بتركيز 56%) أما بقية المكونات الاخرى فهي 44 % وهي من المبيدات التي تتبخر .

و في حال ظهور الاصابة بعد خزن الحبوب تؤخذ كمية من هذه المبيد الذي يكون على شكل اقراص و توزع ع الحبوب ثم يغطي بقماش (الجتري) وتترك لمدة 3 ايام ثم يزال القماش (الجتري) وتعرض الحبوب للهواء بشكل مباشر وتنصح وزارة التجارة بعدم استخدام هذه المبيد في الايام الذي تكون فيها الرطوبة النسبية للهواء عالية لإنّ ذلك يؤدي إلى حدوث اشتعال وحريق .

وعند فحص عينات حبوب الحنطة والتي كانت نسبة الرطوبة فيها تجاوزت 14 % وجد النوع *Tribolium castaneum* بإعداد هائلة مقارنة بفترة قصيرة والتي لا تتجاوز الاسبوعين كما ظهرت عند عمل مزارع لهذه العينة لمدة ثلاثة اشهر يرقات النوع *Trogoderma granarium* علما انها لم تظهر خلال الفحوصات الاولية والعينية من قبل العاملين لكونها من الآفات الداخلية كما وبعد فترة وجيزة من ظهور النوع الثاني ظهر النوع *Rhyzopertha dominica* وهو نوع ايضاً داخلي الاصابة .

كما شوهد في الفرع الاول للشركة وقرب الصوامع الحديدية كميات كبيرة من حبوب الحنطة والتي تم استيرادها منذ عام 2019 من استراليا وخزنت في مسقفات وكانت شديدة الاصابة بالأنواع *Tribolium castaneum* و *Trogoderma granarium* و *Rhyzopertha dominica* وبسبب قابلية بعض الانواع على الطيران حدثت اصابات في الحبوب خلال الخزن بهذه الانواع . و خلال جمع العينات من الافرع الثلاثة و عند ارتفاع الرطوبة لغاية 18 % لوحظ زيادة درجة الحرارة مع الكثافة والتي بلغت 58 حشرة / لكل كيلو غرام من حبوب الحنطة والعكس صحيح ، كما وظهرت الاصابات في الفرع الاول اكثر من الفرعين الاخرين و قد يكون الفترات الطويلة التي تبقى فيها الحبوب في سيارات النقل دون اجراء اي تدابير وقائية او استخدام اي من المبيدات .

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات Conclusions

1- هناك تشابه كبير في توزيع الآفات الحشرية العائدة لرتبة غمدية الاجنحة ، التي تصيب الحبوب المخزونة بين محافظات العراق إذ سجلت محافظة ميسان أعداداً مقاربة إلى ما تم تسجيله في محافظة البصرة ، وتعد كثيرة مقارنة مع ما تم تسجيله في محافظة بغداد ،كربلاء المقدسة ، النجف الاشرف ، الديوانية ، ديالى ، صلاح الدين و نينوى وعدم تسجيل بعض الانواع خلال فترة الدراسة بالرغم من تسجيلها في محافظات اخرى من العراق ، و قد يرجع السبب إلى الاختلافات في الظروف البيئية وفترة الدراسة وطريقة الجمع وعوامل أخرى.

2- يمكن الاعتماد على بعض الصفات مثل الشعيرات المتوزعة على الارجل الامامية ، طول الرأس ، شكل الاغماد ،التي قد تختلف من نوع إلى آخر في تميز الذكور عن الاناث.

3- تعد تقنية التشخيص الجزيئي من الوسائل الفعالة والسريعة في تشخيص وتأكيد تشخيص الانواع التي يصعب تشخيصها مظهرياً او قريبة الشبه مع الانواع الاخرى .

4- نجاح تقنية Multiplex-PCR في الكشف المبكر عن الإصابات الداخلية التي تصيب الحبوب وباقي المنتجات المخزونة وذلك عن طريق تصميم بادئات متخصصة لكل نوع .

5- يعد النوع *Tribolium castaneum* الاكثر انتشارا وسيادة خلال فترة الدراسة وعلى وجه الخصوص على حبوب الحنطة وفي محطات الدراسة الثلاثة الرئيسية .

التوصيات Recommendation

1- اجراء دراسات مسحية وتشخيصية على منتجات مخزونة أخرى كالمكسرات والجلود و السجاد و الأغذية والمواد الغذائية الأخرى ، العمل على رتب أخرى حشرية تعود لها آفات المخازن .

2- دراسة حياتية بعض الآفات الحشرية ودراسة مدى تأثير العوامل البيئية على تواجدها وانتشارها بهدف التعرف على افضل الطرائق للوقاية والحد من انتشار هذه الآفات .

3- عمل دراسات حول استخدام الأعداء الحيوية في المكافحة والسيطرة على هذه الآفات الحشرية.

4- تفعيل الدراسات التشخيصية للفطريات والبكتريا التي تنقلها الآفات الحشرية لمخازن الحبوب ومنتجاتها .

5- استخدام جينات أخرى في المايتوكوندريا مثل COXII لتشخيص وتمييز اجناسها وأنواع المختلفة التي لا يمكن تمييزها باستعمال جينات معينة .

6- التركيز حول كيفية استخدام تقنية Real-time PCR للكشف عن الآفات الحشرية الداخلية التي تصيب الحبوب ومنتجاتها .

7- ضرورة استخدام الطرائق الجزيئية الحديثة في تشخيص الاصابات الحشرية وخاصة الداخلية في مخازن الشركة العامة لتجارة الحبوب وعدم الاعتماد على الطرائق البدائية الحالية .

المصادر

المصادر العربية

- **إبراهيم ، محمد و الناصر ، زكريا .(2009) .** دراسة كفاية بعض المستخلصات والزيوت النباتية والسماحيق الخاملة في الوقاية من خنفساء اللوبيا الجنوبية *Callsobruchus maculatus* Fab.(Coleoptera:Bruchidae) على بذور الحمص .مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية .مجلد 25(1) :107-120.

- **أسماعيل، إياد يوسف . (2014)** .آفات المواد المخزونة، كلية التربية جامعة الموصل. 399 ص.

- **اسماعيل ،إياد يوسف الحاج و يوسف ، شيماء محمد هشام. (2018).** استخدام الهواء الساخن في مكافحة حشرتي خنفساء الخابرا *Trogoderma granarium* وخنفساء الطحين الحمراء *Tribolium castaneum* . مجلة زراعة الرافدين . 46 (3): 203 -212.

- **أحمد ، ايمان بدوي مرسي ; سلامة ، رمضان عبدالقادر ; عبدالفتاح ، محمد عبدالوهاب و ابراهيم ، عبدالعزيز محمود .(2014).** الحشرات الاقتصادية .جامعة القاهرة .مصر .340 ص.

- **جاسم ، لمى مجيد ،(2019) .** دراسة تشخيصية جزيئية لحشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية *Callsobruchus maculatus* (Coleoptera:Chrysomelidae) في محافظة ذي قار . رسالة ماجستير ، جامعة ذي قار ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، قسم علوم الحياة 138 ص .

- **حيدر ، عادل علي ; محمد ، برهان مصطفى و خليل ، حقي إسماعيل .(2013) .** التوزيع الوراثي لخنفساء اللوبيا الجنوبية *Callsobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) في ثلاث مناطق مختلفة في العراق .مجلة تكريت للعلوم الصرفة . (4) 18: 39-51 .

- **الرهبان ، بهاء و شهاب ، عدوان . (2011)** . آفات الحبوب المخزونة في سوريا ، طرائق الوقاية والتعقيم .الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية دمشق سورية . 163ص.

- **سلمان ، زينب حامد . (2013)** .دراسة تصنيفية مظهرية ووراثية خلوية لخنفساء الطحين الصدئية *Tribolium castenum* Herbst,1797 وخنفساء الطحين المحيرة *Tribolium confusum* (Duval,1868)(Coleoptera: Tenebrionidae). رسالة ماجستير ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، ابن الهيثم جامعة بغداد .109 ص.

- **سلمان ، زينب حامد و الاسدي ، حسن سعيد و الطويل، اياد احمد . (2018) .** دراسة المظهر الخارجي للنوع*Tribolium castaneum* Herbst,1797 من عائلة Tenebrionidae رتبة coleopteran في وسط العراق .مجلة كلية مدينة العلوم الجامعة . 10 (1): 107-119.

- **سليمان ، امل كمال .(2005) .** تأثير اليوكالبتوس *Ecudyptus camadlulensis* والسبحبح *Melia azedarach* والدفلة *Nerium oleander* على حياتية حشرة خنفساء الطحين الصدئية *Tribolium castaneum* . رسالة ماجستير ، كلية التربية / جامعة تكريت . 95 ص .

- **السويسي ، انيس .(1967) .** آفات الحبوب المخزونة .وزارة الزراعة . مديرية البحوث والمشاريع الزراعية العامة . نشرة رقم 157.

- **صالح ، محمد عبد الله وعبد الستار ، مصطفى . (2014)** . التوصيات المعتمدة لمكافحة الآفات الزراعية . وزارة الزراعة واستصلاح الأراضي . لجنة مبيدات الآفات الزراعية . جمهورية مصر العربية.

- **العراقي ، رياض احمد .(2010)** .آفات الحبوب والمواد المخزونة وطرائق مكافحتها .دار ابن الاثير للطباعة والنشر ، جامعة الموصل .616 ص .

- **العراقي، رياض احمد. (2002).**مساحيق بعض النباتات كمواد واقية للحبوب المخزونة ضد خنفساء الخابرا ، المؤتمر القطري الثاني لعلوم الحياة ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل ، ص 2.

- **العزاوي ، عبد الله فليح ومهدي ،محمد طاهر. (1983)** . حشرات المخازن، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل : 462 صفحة.

- **عمران ، ايمان موسى .(2021)** .دراسة بعض الجوانب التصنيفية والحياتية للحشرتين *Ryzopertha domonicia* و *Oryzaephilus surinamensis* مع الاشارة لمكافحتهما . اطروحة دكتوراه . كلية العلوم ، جامعة البصرة .249 ص.

- **الفلاح ، صون .(1988)** . خنفساء الخابرا و اضرارها على الحبوب المخزونة ، 695ص .

- **محميد ، احمد جاسم .(1975)** .الخسائر في الحبوب المخزونة نتيجة الاصابة الحشرية .المرشد الزراعي الحلقي 121، قسم وسائل الايضاح بمديرية الارشاد الزراعي العامة .

- **مزهر ، نسرين نوري .(2022)** .دراسة تصنيفية مظهرية وجزيئية لبعض أنواع خنافس الحبوب من رتبة غمدية الاجنحة Order: Coleopteran .اطروحة دكتوراه ، كلية التربية للعوم الصرفة ابن الهيثم - جامعة بغداد ، 170ص .

Abdul- Rassoul, M. A. (1976). Checklist of Iraq Natural History Museum Insects Collection. *The Iraq Natural History Museum Publication*, 30: 3- 41.

- **Abels, J. P., and Ludescher, R. D. (2003).** Native fluorescence from juvenile stages of common food storage insects. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3): 544- 549.

- **Adams, J. M. (1977).** A review of the literature concerning losses in stored cereals and pulses*. Tropical Science*, 19(1):1-28.

- **Adams, R. G. (1995).** Insects of stored grain—A pocket reference: By David Rees. *CSIRO, Canberra, 1994.*73pp.

- **Ahmady, A., Rahmatzai, N., Hazim, Z., and AA, M. (2016).** Effect of temperature on stored product pests *Tribolium confusum* jaquelin du Val (Coleoptera: tenebrionidae) and *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: chrysomelidae: bruchidae). *Journal of Entomology and Zoology Stud*ies , 4(6): 166-172.

- **Ahmed, K. S. (1996).** Studies on the ectoparasitoid, *Anisopteromalus calandrae* How.(Hymenoptera: Pteromalidae) as a biocontrol agent against the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Fab.) in Saudi Arabia. *Journal of Stored Products Research*, 32(2): 137-140.

- **Ajayi, F. A., and Rahman, S. A. (2006).** Susceptibility of some staple processed meals to red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera: Tenebrionidae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(9): 1744-1748.

- **Al- Ali , A. (1977).** Phytophagons and entomophagous insects and mites of Iraq .*The Iraq Natural History Museum Publication*, 33: 3-141.

- **Alfazairy, A. A., El-Abed, Y. M. G., Karam, H. H., and Ramadan, H. M. (2020).** Morphological characteristics of local entomopathogenic protozoan strains isolated from insect cadavers of certain stored-grain pests in Egypt. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1): 1-13.

- **AL-Obaidy, S. H., Shahrabani, S. M., and Hamodi, A. A. F. (2019).** New Record Of *Anisopetromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae) As Parasitoid Of The Cigarette Beetle, *Lasioderma Serricorne* (F.)(Coleoptera: Anobididae) In Iraq. *Plant Archives*, 19(1): 292-294.

- **Andre, A.(1927) .** Der rundkopfige Reismehlkafer *Latheticus oryzae* Waterh. in Wgypten. Mitt. Ges. Vorratsschutz 3: 23-24.

- **Andrew King, R., Moreno-RipollL, R. A. F. A. E. L., Agusti, N., Shayler, S. P., Bell, J. R., Bohan, D. A., and Symondson, W. O. (2011).** Multiplex reactions for the molecular detection of predation on pest and non pest invertebrates in agro ecosystems. *Molecular Ecology Resources*, 11(2): 370-373.

- **Appleby, J. H., and Credland, P. F. (2001).** Bionomics and polymorphism in *Callosobruchus subinnotatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Bulletin of entomological research*, 91(4): 235-244.

- **Arbogast, R. T. (1991).** Identification of *Cryptolestes ferrugineus* and *Cryptolestes pusillus* (Coleoptera: Cucujidae): a practical character for sorting large samples by species. *Entomological news*, 102(1): 33–36.

- **Arbogast, R. T., and Mullen, M. A. (1990).** Interaction of maize weevil (Coleoptera: Curculionidae) and parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) in a small bulk of stored corn. *Journal of Economic Entomology*, 83(6): 2462-2468.

- **Arbogast, R. T., Kendra, P. E., Mankin, R. W., and McGovern, J. E. (2000).** Monitoring insect pests in retail stores by trapping and spatial analysis. *Journal of economic entomology*, 93(5):1531-1542.

- **Arif, M., Ochoa-Corona, F. M., Opit, G. P., Li, Z. H., Kučerová, Z., Stejskal, V., and Yang, Q. Q. (2012).** PCR and isothermal-based molecular identification of the stored-product *psocid* pest *Lepinotus reticulatus* (Psocoptera: Trogiidae). *Journal of stored products research*, 49: 184-188.

- **Armitage, H.M.(1954) .** Current insect notes. In: *California Department of Agriculture of the Bulletin* , 43: 134-136.

- **Asl, M. H. A., Talebi, A. A., Kamali, H., and Kazemi, S. (2009).** Stored product pests and their parasitoid wasps in Mashhad, Iran. *Advances in Environmental Biology*, *3*(3): 239-243.

- **Aslam, A. F. M., Sultana, S., Das, S. R., and Howlader, A. J. (2019)$_a$.** DNA barcoding to resolve the confusion in identifying *Tribolium confusum* and *Tribolium castaneum. Bangladesh Journal of Zoo*logical , 47(2): 333-342.

- **Aslam, A. F. M., Sultana, S., Rain, F. F., Das, S. R., Siddika, A., and Howlader, A. J. (2019)$_b$.** Molecular characterization and identification of three stored grain pests based on mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I (COI) gene sequences. *Bangladesh Journal of Zoology*, 47(1): 1-11.

- **Aspaly, G., Stejskal, V., Pekár, S., and Hubert, J. (2007).** Temperature-dependent population growth of three species of stored product mites (Acari: Acaridida). *Experimental and Applied Acarology*, 42(1): 37-46.

- **Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G., and Campbell, J. F. (2017).** Effect of the presence of live or dead insects on subsequent captures of six stored-product beetle species: the relative species matters. *Journal of economic entomology*, 110(2): 770-775.

- **Athanassiou, C. G., Phillips, T. W., and Wakil, W. (2019).** Biology and control of the khapra beetle, *Trogoderma granarium*, a major quarantine threat to global food security. *Annual Review of Entomology*, 64: 131-148.

- **Badawi, A. (1972).** The External Morphology of the Adult *Latheticus oryzae* Waterhouse (Coleoptera-Tenebrionidae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 70(1-4) :225-236.

- **Bai, W., Xu, W., Huang, K., Yuan, Y., Cao, S., and Luo, Y. (2009).** A novel common primer multiplex PCR (CP-M-PCR) method for the simultaneous detection of meat species. *Food Control*, 20(4): 366-370.

- **Balasubramanian, A., Jayas, D. S., Fernando, W. G. D., Li, G., and White, N. D. G. (2007).** Sensitivity analysis of DNA fingerprinting technique for detecting insect fragments in wheat flour. *Canadian Biosystems Engineering*, 49: 4.1-4.5.

- **Ball, S. L., and Armstrong, K. F. (2006).** DNA barcodes for insect pest identification: a test case with tussock moths (Lepidoptera: Lymantriidae). *Canadian Journal of Forest Research*, 36(2): 337-350.

- **Ball, S. L., Hebert, P. D., Burian, S. K., and Webb, J. M. (2005).** Biological identifications of mayflies (Ephemeroptera) using DNA barcodes. *Journal of the North American Benthological Society*, 24(3): 508-524.

- **Ballare, E. F., and Ware, J. L. (2011).** Dragons fly, biologists classify: an overview of molecular odonate studies, and our evolutionary understanding of dragonfly and damselfly (Insecta: Odonata) behavior. *International Journal of Odonatology*, 14(2): 137-147.

- **Banga, K. S., Kumar, S., Kotwaliwale, N., and Mohapatra, D. (2020).** Major insects of stored food grains. *International Journal of Chemical Studies*, 8(1): 2380-2384.

- **Barde, A. A., Misari, S. M., and Dike, M. C. (2014).** Observations on the biology of *Callosobruchus maculatus* (Fab.)(Coleoptera: Bruchidae) under ambient laboratory conditions. *AFRREV STECH: An International Journal of Science and Technology*, 3(3): 27-33.

- **Barnes, J. H., and Grove, A. J. (1916).** The Insects Attacking Stored Wheat in the Punjab, and the Methods of Combating Them Including a Chapter on the Chemistry of Respiration. *Imperial Department of Agriculture in India* , 4(6) :165–280.

- **Barrer, P. M. (1983).** A field demonstration of odour-based, host-food finding behaviour in several species of stored grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 19(3): 105-110.

- **Barrett, R. D., and Hebert, P. D. (2005).** Identifying spiders through DNA barcodes. *Canadian Journal of Zoology*, 83(3): 481-491.

- **Beal, Jr, R. S. (1956).** Synopsis of the economic species of *Trogoderma* occurring in the United States with description of a new species (Coleoptera: Dermestidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 49(6): 559-566.

- **Beal, R. S. (1960).** Descriptions, biology, and notes on the identification of some *Trogoderma* larvae (Coleoptera, Dermestidae) (No. 1228*). US Department of Agriculture. Journal of Technical Bulletin.*

- **Beal, R. S., and Stehr, F. W. (1991).** Dermestidae (Bostrichoidea) (including Thorictidae, Thylodriidae). *Immature insects*, *2*, 434-439.

- **Beloshapka, A. N., Buff, P. R., Fahey Jr, G. C., and Swanson, K. S. (2016).** Compositional analysis of whole grains, processed grains, grain co-products, and other carbohydrate sources with applicability to pet animal nutrition. *Foods*, 5(2): 23.

- **Bernstein, J. A., Morgan, M. S., Ghosh, D., and Arlian, L. (2009).** Respiratory sensitization of a worker to the warehouse beetle *Trogoderma variabile:* an index case report. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 123(6): 1413- 1416.

- **Biege, C. R., and Partida, G. J. (1976).** Taxonomic characters to identify three species of *Cryptolestes* (Coleoptera: Cucujidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 49(2): 161-164.

- **Bodlah, I., Bodlah, M. A., Naeem, M., Khaliq, S., and Aihetasham, A. (2016).** First record of *Anisopteromalus calandrae* (howard, 1881)(hymenoptera: chalcidoidea: pteromalidae) as a potential bio-control agent of stored grain beans from rawalpindi and Islamabad. *Asian Journal of Agricultural of Biological* , 4(3) : 73-76.

- **Borowiec, L. (1987).** The genera of seed-beetles (Coleoptera, Bruchidae). *Polskie Pismo Entomological* , 57(1) : 3-207.

- **Bouchard, P., Bousquet, Y., Davies, A. E., Alonso-Zarazaga, M. A., Lawrence, J. F., Lyal, C. H., and Smith, A. B. (2011).** Family-group names in Coleoptera (Insecta). *ZooKeys*, 88: 1-972.

- **Brabec, D., Pearson, T., Flinn, P., and Katzke, D. (2010).** Detection of internal insects in wheat using a conductive roller mill and estimation of insect fragments in the resulting flour. *Journal of Stored Products Research*, 46(3): 180-185.

- **Brader, B., Lee, R. C., Plarre, R., Burkholder, W., Kitto, G. B., Kao, C., and Denning, R. (2002).** A comparison of screening methods for insect contamination in wheat. *Journal of Stored Products Research*, 38(1): 75-86.

- **Brito, F. F., Mur, P., Barber, D., Lombardero, M., Galindo, P. A., Gómez, E., and Borja, J. (2002).** Occupational rhinoconjunctivitis and asthma in a wool worker caused by Dermestidae spp. *Allergy*, 57(12): 1191-1194.

- **Brown, J. M., McPeek, M. A., and May, M. L. (2000).** A phylogenetic perspective on habitat shifts and diversity in the North American Enallagma damselflies. *Systematic Biology*, 49(4): 697-712.

- **Buckland, P. C. (1981).** The early dispersal of insect pests of stored products as indicated by archaeological records. *Journal of Stored Products Research*, *17*(1): 1-12.

- **Buxton, p. and Mellan, K. (1918).** The measurement and control humidity. *Journal ,Bulletin of scientific Research* , 25(2) : 171-175.

- **CABI Compendium .(2022)** https://www. cabi.org/isc/ datasheet/ 54668.

- **CABI Compendium.(2021)** . https:// www.cabi. org/isc/ datasheet /29923.

- **CABI. (2017).** Invasive Species Compendium Alectra vogelii and Striga asiatica (Witch Weed). CAB International, Wallingford. http://www.cabi.org/isc.

- **Campbell, J. F., and Arbogast, R. T. (2004).** Stored-product insects in a flour mill: population dynamics and response to fumigation treatments. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 112(3): 217-225.

- **Campbell, J. F., and Mullen, M. A. (2004).** Distribution and dispersal behavior of *Trogoderma variabile* and *Plodia interpunctella* outside a food processing plant. *Journal of Economic Entomology*, 97(4): 1455-1464.

- **Campbell, J. M. (1979).** A revision of the genus *Tachyporus Gravenhorst* (Coleoptera: Staphylinidae) of North and Central America. *The Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 111(S109): 1-95.

- **Casteels, H., Moermans, R., Miduturi, J. S., and Clercq, R. D. (1996).** Occurrence of insect pests in imported stored products in Belgium during the period 1991-1995. *Mededelingen -Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent (Belgium)*,61(3a): 697-701.

- **Chandel, R. K., Sharma, M., Subramanian, S., Srivastava, C., and Khurana, S. M. (2019).** Genetic diversity of lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) from North India and other geographical locations as revealed by cytochrome c oxidase I gene. *Biochemical & Cellular Archives*, 19(1):519-528.

- **Channaiah, L. H., Subramanyam, B., McKinney, L. J., & Zurek, L. (2010).** Stored-product insects carry antibiotic-resistant and potentially virulent enterococci. *FEMS microbiology ecology*, 74(2): 464-471.

- **Chattha, S. H., Hasfalina, C. M., Mahadi, M. R., Mirani, B. N., and Lee, T. S. (2015).** Quality change of wheat grain during storage in a ferrocement bin. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 10(8)313-323.

- **Chittenden, F. H. (1911).** The lesser grain-borer; The larger grain-borer. *Bulletin of United State Bureau of Entomology*, 96:29-47.

- **Ciabatti, I., Froiio, A., Gatto, F., Amaddeo, D., and Marchesi, U. (2006).** In-house validation and quality control of real-time PCR methods for GMO detection: a practical approach. *Developments in biologicals*, 126:79-86.

- **Collins, D. A. (2012).** A review on the factors affecting mite growth in stored grain commodities. *Experimental and applied acarology*, 56(3): 191-208.

- **Cotton, R. T. (2007).** Insect Pests of stored Grain and Grain Products. *Biotech Book*,241pp.

- **Crumrine, M. H., Foltz, V. D., and Harris, J. O. (1971).** Transmission of Salmonella Montevideo in wheat by stored-product insects. *Applied Microbiology*, 22(4): 578- 580.

- **Daglish, G. J., Nayak, M. K., Arthur, F. H., and Athanassiou, C. G. (2018).** Insect pest management in stored grain. *Recent advances in stored product protection*, 45-63pp.

- **Dalziel, A. C., Moyes, C. D., Fredriksson, E., and Lougheed, S. C. (2006).** Molecular evolution of cytochrome c oxidase in high-performance fish (Teleostei: Scombroidei). *Journal of Molecular Evolution*, 62(3): 319-331.

- **Dasmahapatra, K. K., Elias, M., Hill, R. I., Hoffman, J. I., and Mallet, J. (2010).** Mitochondrial DNA barcoding detects some species that are real, and some that are not. *Molecular Ecology Resources*, 10(2): 264-273.

- **Derwesh, A. I. (1965).** preliminary list of identified insects and some arachnids of Iraq. *Direct General Agricultural Research and project Baghdad Bulletin* ,112:121-123.

- **Deshwal, R., Vaibhav, V., Kumar, N., Kumar, A., and Singh, R. (2020).** Stored grain insect pests and their management: An overview. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(5): 969-974.

- **Devi, S. R., Thomas, A., Rebijith, K. B., and Ramamurthy, V. V. (2017).** Biology, morphology and molecular characterization of

Sitophilus oryzae and *S. ázeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, 73(3): 135-141.

- **Dowell, F. E., Throne, J. E., Wang, D., and Baker, J. E. (1999).** Identifying stored-grain insects using near-infrared spectroscopy. *Journal of Economic Entomology*, 92(1): 165-169.

- **Dragišić Maksimović, J., Poledica, M., Mutavdžić, D., Mojović, M., Radivojević, D., and Milivojević, J. (2015).** Variation in nutritional quality and chemical composition of fresh strawberry fruit: Combined effect of cultivar and storage. *Plant foods for human nutrition*, 70(1): 77-84.

- **Ebrahimi, N. (2020).** Checklist of Iranian stored product beetles (Insecta: Coleoptera). *Journal of Insect Biodiversity and Systematics*, 6(3): 261-305.

- **Edde, P. A. (2012).** A review of the biology and control of *Rhyzopertha dominica* (F.) the lesser grain borer. *Journal of Stored Products Research*, *48*, 1-18.

- **El-Haidari, H., Fattah, Y. M., and Sultan, J. A. (1971).** Contribution to the insect fauna of Iraq (part 3). *Ministry Agricultural Iraq Bulletin*, (3).

- **Farrell, J. (2010).** Diagnostic Methods for Rust-red Flour Beetle and Confused Flour Beetle *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum.* . http://www.padil.gov.au/pbt

- **Fatima, S. M., Usman, A., Sohail, K., Afzaal, M., Shah, B., Adnan, M., and Rehman, I. (2016).** Rearing and identification of *Callosobruchus maculatus* (Bruchidae: Coleoptera) in Chickpea. *Journal of entomology and zoology studies*, 4(2): 264-266.

- **Fauvel, A. (1889).** Liste des coléoptères communs à l'Europe et à l'Amérique du Nord. D'après le catalogue de MJ Hamilton. Avec remarques et additions. *Revue d'Entomologie*, 8(3), 92-174.

- **Flanders, K. L. (2014).** Stored grains insect control recommendations for 2014. IPM-0330. *Alabama Cooperative Extension System.*52pp.

- **Folmer, O; Black ,M; Hoeh, W; Lule ,R. and Vrijenhockt ,R. (1994).** DNA Primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunite I from diverse metazoan invertebrates .*Molecular marine Biology and Bio technology* .3(5):294-299.

- **Gill, T. K., Kumri, S., Sharma, V. L., Badran, A. A., Kumari, M., and Sobit, R. C. (2006).** Genetic Variation in polymorphic males of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) by RAPD-PCR. *Cytologia*, 71(1): 57-62.

- **Grimaldi, D., and Engel, M. S. (2005).** Evolution of the Insects. *Cambridge University Press.*89pp.

- **Gupta, V. K., and Jindal, V. (2013).** DNA barcoding: Universal platform for molecular taxonomy and identification. *Integrated Pest Management*, 75- 95pp.

- **Hagstrum, D. W. (2001).** Immigration of insects into bins storing newly harvested wheat on 12 Kansas farms. *Journal of Stored Products Research*, 37(3): 221-229.

- **Hagstrum, D. W., and Phillips, T. W. (2017).** Evolution of stored-product entomology: protecting the world food supply. *Annual review of entomology*, 62: 379-397.

- **Hagstrum, D., and Subramanyam, B. (2017).** Stored-product insect resource. *Elsevier*.108pp.

- **Hagstrum, D.W., Klejdysz, T., Subramanyam, B. and Nawrot, J., (2013).** Atlas of stored product insect and mites. AACC International Press, USA. 588 pp.

- **Halstead, D. G. (1993).** Keys for the identification of beetles associated with stored products—II. Laemophloeidae, Passandridae and Silvanidae. *Journal of Stored Products Research*, 29(2): 99-197.

- **Halstead, D. G. (1980).** A revision of the genus *Oryzaephilus Ganglbauer*, including descriptions of related genera (Coleoptera: Silvanidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 69(4): 271-374.

- **Halstead, D. G. H. (1986).** Keys for the identification of beetles associated with stored products. I—Introduction and key to families. *Journal of Stored Products Research*, 22(4): 163- 203.

- **Hamad, S. S. and Sultan ,A.A. (2021).**Molecular genetic diagnosis of *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Coleoptera :Tenebrionidae) by sequencing of COI gene analysis . *Biochemical and cellular Archives* 21(2):3619-3624.

- **Hamdy, N. M. (2023).** Description of A Parasitoid, *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) on *Callosobruchus chinensis* L. for the First Time in Egypt and Using SEM for Morphometric Analysis. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 16(1): 27-43.

- **Hansen, L. S., and Steenberg, T. (2007).** Combining larval parasitoids and an entomo pathogenic fungus for biological control of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) in stored grain. *Biological Control*, 40(2): 237-242.

- **Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., and DeWaard, J. R. (2003).** Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the*

Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 270(1512): 313-321.

- **Hell, K., Cardwell, K., Sétamou, M., and Poehling, H. (2000).** Maize storage practices and their influence on aflatoxin contamination in stored grains in four agroecological zones in Benin, West Africa. *Journal of Stored Products Research,* 36 (4) :365-382.

- **Hill, D. S. (2002).** Pests of stored foodstuffs and their control. *Springer Science and Business Media.*475pp.

- **Holst, N., Meikle, W. G., and Markham, R. H. (2000).** Grain injury models for *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in rural maize stores in West Africa. *Journal of economic entomology*, 93(4): 1338- 1346.

- **Howe, R. W. (1956).** The biology of the two common storage species of *Oryzaephilus* (Coleoptera: Cucujidae) .*Annals of Applied Biology.* 44 (2): 341-355.

- **Hubert, J., Nesvorna, M., and Stejskal, V. (2009).** The efficacy of sieving, filth flotation and Tullgren heat extraction for detecting various developmental stages of *Tribolium castaneum* and *Ephestia kuehniella* in samples of wheat grain, flour and semolina. *Journal of Stored Products Research*, 45(4): 279-288.

- **Idowu, G. A., Oyewale, R. O., Iborigi, E. F., Bolajoko, M. H., Ibrahim, R. O., Ibrahim, H. M., and Olaniyi, R. M. (2022).** Identification of Cowpea Weevil (*Callosobruchus maculatus* L. Walp) in Some Selected Local Government Areas of Kwara State.*Tropical Agrobiodiversity* ,3(2):25-28.

- **International Plant Protection Convention (IPPC). (2016) .** DP 3: *Trogoderma granarium* Everts. Rome, FAO.

- **Jacobs, S., and Calvin, D. (2001).** Weevils on stored grain. *Penn State Entomological Notes*.52pp.

- **Jayas, D. S. (2012).** Storing grains for food security and sustainability. *Agricultural Research*, 1: 21-24.

- **Johnston, P. R., and Rolff, J. (2013).** Immune-and wound-dependent differential gene expression in an ancient insect. *Developmental & Comparative Immunology*, 40(3-4): 320-324.

- **Kaur, S. (2015).** DNA barcoding and its applications. *International Journal of Engineering Research and General Science*, 3(2): 602-604.

- **Kingsolver, J. M. (2004).** Handbook of the Bruchidae of the United States and Canada (Insecta, Coleoptera). *Technical Bulletin Number 1912*.324pp.

- **Kislev, M., and Simchoni, O. (2007).** Hygiene and insect damage of crops and food at Masada. *Masada VIII. The Yigael Yadin Excavations* 1963-1965. *Final reports*, 133-170.

- **Kousar, T., Zaib-un-Nisa Memon, H. A., Sahito, W. M. M., Jatoi, F. A., and Shah, Z. H. (2021).** Biology, morphology, and varietal distribution of Saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (L) on date palm dry and semi-dry dates at district: Khairpur, Sindh-Pakistan. *Pure and Applied Biology* , 10(3): 539-548.

- **Kulkarni, N. V., Gupta, S., Kataria, R., and Sathyanarayana, N. (2015).** Morphometric analysis and reproductive system studies of *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). *International Journals of Scientific Research Publications*, *5*(8): 1- 8.

- **Kumar, D., and Kalita, P. (2017).** Reducing postharvest losses during storage of grain crops to strengthen food security in developing countries. *Foods*, 6(1):2-22.

- **Kuschel, G. (1961).** On problems of synonymy in the *Sitophilus oryzae* complex (30th contribution, Col. Curculionoidea). *Journal of Natural History*, 4(40): 241-244.

- **Lahaye, R., Van der Bank, M., Bogarin, D., Warner, J., Pupulin, F., Gigot, G., and Savolainen, V. (2008).** DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(8): 2923-2928.

- **Lantican, M. A., Dubin, H. J., and Morris, M. L. (2005).** Impacts of international wheat breeding research in the developing world, 1988-2002. *Cimmyt*.54pp.

- **Ling, H. Q., Zhu, Y., and Keller, B. (2003).** High-resolution mapping of the leaf rust disease resistance gene Lr1 in wheat and characterization of BAC clones from the Lr1 locus. *Theoretical and applied genetics*, 106 (5) : 875-882.

- **Liu, C., Liu, L., Li, L., Hao, C., Zheng, X., Bian, K., ... and Wang, X. (2015).** Effects of different milling processes on whole wheat flour quality and performance in steamed bread making. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1): 310-318.

- **Liu, L. J., Pang, A. H., Feng, S. Q., Cui, B. Y., Zhao, Z. H., Kučerová, Z.,and Li, Z. H. (2017).** Molecular identification of ten species of stored-product *psocids* through microarray method based on ITS2 rDNA. *Scientific reports*, *7*(1): 1-9.

- **Löbl, I., Merkl, O., Ando, K., Bouchard, P., Egorov, L. V., Iwan, D., and Soldati, F. (2008).** Family Tenebrionidae Latreille, 1802. *Catalogue of palaearctic coleoptera*, 5: 105-352.

- **Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S., and De Poorter, M. (2000).** 100 of the world's worst invasive alien species*:* a selection from the global invasive species database (Vol. 12). *Auckland: Invasive Species Specialist Group*.11pp

- **Lucas, E., and Riudavets, J. (2002).** Biological and mechanical control of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) in rice. *Journal of Stored Products Research*, 38(3): 293-304.

- **Mahroof, R. M., Edde, P. A., Robertson, B., Puckette, J. A., and Phillips, T. W. (2010).** Dispersal of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in different habitats. *Environmental Entomology*, 39(3): 930-938.

- **Mandali R. (2020) .** Stored grain pests and their identification, *National Institute of Plant Health Management.*

- **Maniatis, T. (1982).** Molecular cloning. *A laboratory manual*.82pp.

- **Manu, N., Osekre, E. A., Opit, G. P., Campbell, J. F., Arthur, F. H., Mbata, G., and Danso, J. K. (2018).** Population dynamics of stored maize insect pests in warehouses in two districts of Ghana. *Journal of Stored Products Research*, 76: 102-110.

- **Mason, L. (2002).** Insects and mites. *Food plant sanitation* .26pp.

- **Mason, L. J., and McDonough, M. (2012).** Biology, Behavior, and Ecology of Stored Grain and Legume Insects. *Stored Product Protection*, 1(7) 7-20.

- **Mason, L. J., and Strait, C. A. (2019).** Stored product integrated pest management with extreme temperatures. In *Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management* (pp. 141-177). CRC Press.

- **Mason,L.(2010).** Lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* (Fab.). *Stored product Pests Purdue Extension E-238*.82pp.

- **McKay, T., White, A. L., Starkus, L. A., Arthur, F. H., and Campbell, J. F. (2017).** Seasonal patterns of stored-product insects at a rice mill. *Journal of economic entomology*, *110*(3): 1366-1376.

- **Menon, A., Flinn, P. W., and Dover, B. A. (2002).** Influence of temperature on the functional response of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *Journal of Stored Products Research*, 38(5): 463-469.

- **Meštrović, N., Mravinac, B., Plohl, M., Ugarković, Đ., and Bruvo Mađarić, B. (2006).** Preliminary phylogeny of *Tribolium* beetles (Coleoptera: Tenebrionidae) resolved by combined analysis of mitochondrial genes.*European journal of Entomology* ,103(3) :709-715.

- **Ming, Q., Wang, A., and Cheng, C. (2015).** Molecular identification of *Tribolium castaneum* and *T. confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) using PCR-RFLP analysis. *Journal of genetics*, 93(1): 17-21.

- **Morrison III, W. R., Wilkins, R. V., Gerken, A. R., Scheff, D. S., Zhu, K. Y., Arthur, F. H., and Campbell, J. F. (2018).** Mobility of adult *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) after exposure to long-lasting insecticide-incorporated netting. *Journal of economic entomology*, 111(5): 2443-2453.

- **Moses J. A. and Jayas .D. S. and Alagusundaram , K.(2015).**Climate change and its implification on stored food grain .*Agricultural Research* ,4(1): 21-30.

- **Motschulsky, V. D. (1855).** Voyages. Lettre de M. de Motschulsky à M. Ménétriés. No. 2. A bord du bateau à vapeur United-States, 20 Mars 1854. *Etudes entomologiques*, 4, 8-25.

- **Narayanasamy, P., Mohan, S., and Awaknavar, J. S. (2009).** Pest management in store grains. *Satish Serial Publication House.*272pp.

- **Nayak, M. K., and Daglish, G. J. (2018).** Importance of stored product insects. *Recent advances in stored product protection* . 17pp.

- **Ndiaye, A., Gauthier, P., and Sembène, M. (2011).** Genetic discrimination of two cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp) Bruchid (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae): *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Bruchidius atrolineatus* (Pic.). *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 1(2), 196-201.

- **Ngom, D., Fauconnier, M. L., Malumba, P., Dia, C. A. K. M., Thiaw, C., and Sembène, M. (2020).** Varietal susceptibility of maize to larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn)(Coleoptera; Bostrichidae), based on grain physicochemical parameters. *PloS one*, 15(4): e0232164.

- **Nowaczyk, K., Obrępalska-Stęplowska, A., Gawlak, M., Olejarski, P., and Nawrot, J. (2008).** The RAPD analysis of genetic variability in the granary weevil (Sitophilus granarius L.) populations. *Journal of Plant Protection Research*, 48(4): 429-435.

- **Nowaczyk, K., Obrepalska-Steplowska, A., Gawlak, M., Throne, J. E., Olejarski, P., and Nawrot, J. (2009).** Molecular techniques for detection of *Tribolium confusum* infestations in stored products. *Journal of economic entomology*, 102(4): 1691-1695.

- **Noyes, J. S. (2003).** universal Chalcidoidea Database. *World Wide Web Electronic Publication.*150pp

- **Obermeyer, J. L., Gibb, T. J., and Edwards, C. R. (1991).** Stored grain insect pest management. *E-Purdue University, Cooperative Extension Service (USA)*.135pp.

- **Paini, D. R., and Yemshanov, D. (2012).** Modelling the arrival of invasive organisms via the international marine shipping network: a Khapra beetle study. *Plos One* 7(11):10-1371.

- **Park, S., Lee, S., and Hong, K. J. (2015).** Review of the family Bostrichidae (Coleoptera) of Korea. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 8(4): 298- 304.

- **Peairs, F. B. (2010).** Insect damage to farm-stored grain. *Management* ,8:5-545.

- **Pereira, P. D. S., and Salvadori, J. R. (2006).** Identificação dos principais Coleoptera (Insecta) associados a produtos armazenados. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*,75.

- **Pereira, P. R.., and Almeida, L. M. D. (2001).** Chaves para a identificação dos principais Coleoptera (Insecta) associados com produtos armazenados. Keys for the identification of Coleoptera (Insecta) associated with stored products , *Revista Brasileira de Zoologia*, 18(1): 271-283.

- **Perez-Mendoza, J., Throne, J. E., Maghirang, E. B., Dowell, F. E., and Baker, J. E. (2005).** Insect fragments in flour: relationship to lesser grain borer (Coleoptera: Bostrichidae) infestation level in wheat and rapid detection using near-infrared spectroscopy. *Journal of economic entomology*, 98(6): 2282-2291.

- **Peterson, B. K., Weber, J. N., Kay, E. H., Fisher, H. S., and Hoekstra, H. E. (2012).** Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PloS one*, *7*(5): e37135.

- **Pic, M. (1902).** Coleopteres presumes nouveaux de la Rhodesia. *Review Entomology* , 21: 4-7.

- **Pilot, L. R., and Waldmann, D. R. (1998).** Food and Drug Administration Modernization Act of 1997: medical device provisions. *Food and Drug Law Journal*, 53(2): 267-295.

- **Pimentel, M. A. G., Faroni, L. R. D. A., Tótola, M. R., and Guedes, R. N. C. (2007).** Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 63(9): 876-881.

- **Plarre, R. (2013).** An attempt to reconstruct the natural and cultural history of the granary weevil, *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae). *European Journal of Entomology*, 107(1): 1-11.

- **Posada, D. (2008).** Model Test: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution*, 25(7): 1253-1256.

- **Potter, C. (1935).** The biology and distribution of *Rhyzopertha dominica* (Fab.). *Transactions of the Royal entomological Society of London*, 83(4) : 449-482.

- **Press, J. W. (2016).** Comparative penetration efficacy in wheat between the weevil parasitoids *Anisopteromalus calandrae* and *Choetospila elegans* (Hymenoptera: Pteromalidae).*Journal of Entomological Science* 27(2) : 154-157.

- **Rahman, K. A., Sohi, G. S., and Sapra, A. N. (1945).** Studies on stored grain pests in the Punjab VI. Biology of *Trogoderma granarium* Everts. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 15(2): 85-92.

- **Rajashekar, Y., Gunasekaran, N., and Shivanandappa, T. (2010).** Insecticidal activity of the root extract of Decalepis hamiltonii against stored-product insect pests and its application in grain protection. *Journal of food science and technology*, 47(3): 310-314.

- **Rajendran, S. (2001).** Alternatives to methyl bromide as fumigants for stored food commodities. *Pesticide outlook*, 12(6): 249-253.

- **Rajendran, S., and Sriranjini, V. (2008).** Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of stored products Research*, 44(2): 126-135.

- **Raoul, T. B., and Léonard, N. T. S. (2013).** Diversity of stored grain insect pests in the Logone valley, from northern Cameroon to western Chad Republic in Central Africa. *Journal of Agricultural Science and Technolog*, A: 3(9A), 724.

- **Rebijith, K. B., Asokan, R., Kumar, N. K., Srikumar, K. K., Ramamurthy, V. V., and Bhat, P. S. (2012).** DNA barcoding and development of species-specific markers for the identification of tea *mosquito* bugs (Miridae: Heteroptera) in India . *Environmental Entomology* , 41(5): 1239-1245.

- **Rees, D. A. V. I. D. (2007).** Insects of stored grain. *Australia, Collingwood VIC, 3066*.95pp.

- **Rees, D. P. (2004).** Insects of stored products. *CSIRO publishing*.80pp.

- **Rilett, R. O. (1949).** The biology of *Laemophloeus ferrugineus* (Steph.). *Canadian Journal of Research*, 27(3): 112-148.

- **Riudavets, J., and Lucas, É. (2000).** Biological control of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) in rice and combined effect with a polishing process. *IOBC WPRS BULLETIN*, 23(10): 143-148.

- **Riudavets, J., Agustí, N., del Estal, P., and Castañé, C. (2018).** Survey of dermestids of the genus *Trogoderma* in grain storages in Spain. *Annals of the Entomological Society of America*, 70(1): 107-111.

- **Robinson, W. H. (2005).** Urban insects and arachnids*: a handbook of urban entomology*. Cambridge University Press.97pp.

- **Rutschky, C. W., and Calvin, D. (1990).** Indian meal moth in stored grain. *Penn State Entomological Notes*. 52pp.

- **Ruzzier, E., Kadej, M., and Battisti, A. (2020).** Occurrence, ecological function and medical importance of dermestid beetle hastisetae. *PeerJ*, 8: e8340.

- **Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T. (1989).** Molecular cloning: a laboratory manual (No. Ed. 2). *Cold spring harbor laboratory press.*

- **Sarvananda, L. (2018).** Short introduction of DNA barcoding. *International Journal of Reseach*, *5*(4): 673-685.

- **Sauer, D. B. (1992).** Storage of cereal grains and their products. In *Storage of cereal grains and their products* .(615pp).

- **Schönherr, C. J. (1836).** Genera et species curculionidum cum synonymia hujus familiae (Vol. 1). *Roret*.183pp.

- **Semeao, A. A., Campbell, J. F., Hutchinson, J. S., Whitworth, R. J., and Sloderbeck, P. E. (2013).** Spatio-temporal distribution of stored-product insects around food processing and storage facilities. *Agriculture, ecosystems & environment*, 165: 151-162.

- **Seram, D., Natesan, S., Muthaiyan, P., Karthikeyan, A., and Samuel, K. J. (2022).** Differentiating *Callosobruchus* of South India with Special Reference to *Callosobruchus maculatus*-A Useful Guide for Entomologists and Non-Entomologists. *Research Square* ,1-21.

- **Shah, M. A., and Khan, A. A. (2014).** Imaging techniques for the detection of stored product pests. *Applied entomology and zoology*, 49: 201-212.

- **Shi, W., Jiao, K., Liang, Y., and Wang, F. (2016).** Efficient detection of internal infestation in wheat based on biophotonics. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 155: 137-143.

- **Singh, A., Chand, P., Vishwakarma, R., and Singh, C. K. (2017).** Khapra beetle (*Trogoderma granarium* Everts): A food security threat. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 6(11): 1-6.

- **Singh, B. B., and Singh, R. (2014).** Major rice insect pests in Northeastern UP. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, 1(3): 124-143.

- **Sinha, R. N., and Watters, F. L. (1985).** Insect pests of flour mills, grain elevators, and feed mills and their control . : *Publication, Agriculture Canada* .290pp.

- **Sivilov , O., and Cvetkovska-Gorgievska, A. L. E. K. S. A. N. D. R. A. (2014).** Faunistical records of Tenebrionidae (Coleoptera) from Bulgaria and Republic of Macedonia. *ZooNotes*, 8 (53): 1-7.

- **Solà, M., Agustí, N., and Riudavets, J. (2015).** Molecular approaches based on PCR to identify and quantify arthropod internal feeders in grain. *IOBC-WPRS Bulletin*, 111: 387-393.

- **Solà, M., Riudavets, J., and Agustí, N. (2018).** Detection and identification of five common internal grain insect pests by multiplex PCR. *Food Control*, 84(21) : 246-254.

- **Soomro, F., and Ahmed, W. (2023).** Study on the life cycle of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebroinidae) on different cereals. *Reasearch Squre*,1-12pp.

- **Sorvari, J., Härkönen, S. K., and Vesterinen, E. J. (2012).** First record of an indoor pest sawtoothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) from wild outdoor wood ant nest. *Entomologica Fennica*, 23(2): 69-71.

- **Sousa, G. D., Scudeler, E. L., Abrahão, J., and Conte, H. (2013).** Functional morphology of the crop and proventriculus of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 106(6): 846-852.

- **Sreeramoju, P., Prasad, M. S. K., and Lakshmipathi, V. (2016).** Complete study of life cycle of *Tribolium castaneum* and its weight variations in the developing stages. *International Journal of Plant and Animal Environmental Sciences*, 6(1): 95-100.

- **Srivastava, C., and Subramanian, S. (2016).** Storage insect pests and their damage symptoms: an overview. *Indian Journal of Entomology*, 78(special): 53-58.

- **Stejskal, V., Aulicky, R., and Kucerova, Z. (2014).** Pest control strategies and damage potential of seed-infesting pests in the Czech stores-a review. *Plant Protection Science*, 50(4): 165-173.

- **Stejskal, V., Hubert, J., Aulicky, R., and Kucerova, Z. (2015).** Overview of present and past and pest-associated risks in stored food and feed products: European perspective. *Journal of Stored Products Research*, 64 (1): 122-132.

- **Suiter, D. R., Toews, M. D., and Ames, L. M. (2014).** Stored Product Pests in the Home. *Cooperative Extension, Georgia*.16pp.

- **Sultan, A. A. (2020).** Comparative molecular study between two species of flour beetle *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* by using RAPD-PCR. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(12) : 1604-1609.

- **Sureshan, P. M. (2003).** Pteromalinae (Pteromalidae: Chalcidoidea: Hymenoptera) of Indian subcontinent. *Recorded by Zoological Survey of India*.205: 1-170pp.

- **Sureshan, P. M. (2010).** Taxonomic studies on a collection of Pteromalidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) from Patna and nearby districts of Bihar with the description of two new species. *Records of the Zoological Survey of India*, 110(4): 51-66.

- **Syarifah Zulaikha, S. A., Halim, M., Nor Atikah, A. R., and Yaakop, S. (2018).** Diversity and abundance of storage pest in rice warehouses in Klang, Selangor, Malaysia. *Serangga*, 23(1): 89-98.

- **Szito, A. (2006).** *Trogoderma granarium* (insect). *Global Invasive Species Database*.5-15.

- **Tamura, K., Stecher, G., and Kumar, S. (2021).** MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7): 3022-3027.

- **Thomas, M. C., and Woodruff, R. E. A .(2011).** Stored Products Pest, *Oryzaephilus acuminatus* (Insecta: Coleoptera: Silvanidae). university of florida, *IFAS Extension* .1-4pp.

- **Throne, J. E., Doehlert, D. C., and McMullen, M. S. (2003).** Susceptibility of commercial oat cultivars to *Cryptolestes pusillus* and *Oryzaephilus surinamensis*. *Journal of Stored Products Research*, 39(2): 213-223.

- **Tilley, D. R., Casada, M. E., Subramanyam, B., and Arthur, F. H. (2017).** Temporal changes in stored-product insect populations associated with boot, pit, and load-out areas of grain elevators and feed mills. *Journal of Stored Products Research*, 73: 62-73.

- **Timm, A. E., Warnich, L., and Geertsema, H. (2007).** Morphological and molecular identification of economically important Tortricidae (Lepidoptera) on tropical and subtropical fruit in South Africa. *African Entomology*, 15(2): 269-286.

- **Timm, A. E., Warnich, L., and Geertsema, H. (2008).** Morphological and molecular identification of economically important Tortricidae (Lepidoptera) on deciduous fruit tree crops in South Africa. *African Entomology*, 16(2): 209-219.

- **Toews, M. D., Campbell, J. F., Arthur, F. H., and Ramaswamy, S. B. (2006).** Outdoor flight activity and immigration of *Rhyzopertha dominica* into seed wheat warehouses. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *121*(1): 73-85.

- **Toews, M. D., Pearson, T. C., and Campbell, J. F. (2006).** Imaging and automated detection of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) pupae in hard red winter wheat. *Journal of economic entomology*, 99(2): 583-592.

- **Trematerra, P., and Throne, J. (2012).** Insect and mite pests of durum wheat. *Durum wheat, chemistry and technology, Second Edition. AACC International Insect , Saint Paul, Minnesota, USA,* 73-83.

- **Tripathi, A. K., Prajapati, V., Aggarwal, K. K., and Kumar, S. (2001).** Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1, 8-cineole from Artemisia annua on progeny production of *Tribolium castanaeum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of economic entomology*, 94(4): 979-983.

- **Tyler, P. S., and Boxall, R. A. (1984).** Post harvest loss reduction programmes: A decade of activities-what consequences?. *Tropical Stored Products Information*, 50: 4-13.

- **Varadínová, Z., Wang, Y. J., Kučerová, Z., Stejskal, V., Opit, G., Cao, Y., and Li, Z. H. (2015).** COI barcode based species-specific primers for identification of five species of stored-product pests from genus *Cryptolestes* (Coleoptera: Laemophloeidae). *Bulletin of Entomological Research*, 105(2): 202-209.

- **Wacker, F. (2018).** Food waste and food losses–importance of international partnerships and research. In *Proceedings of the 12th International Working Conference on Stored Product Protection, Berlin, Germany* (7-11 pp).

- **Wehling, R. L., Wetzel, D. L., and Pedersen, J. R. (1984).** Stored wheat insect infestation related to uric acid as determined by liquid chromatography. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 67(3): 644-647.

- **Weinzierl, R., and Higgins, R. (2008).** Insect pest management for stored grain. Illinois Agricultural Pest Management Handbook: Serving Agriculture and the Environment; Cooperative Extension Service

College of Agriculture, University of Illinois at Urbana-Champaign: Champaign, IL, USA, 147-156.

- **Williams, R. N., and Floyd, E. H. (1971).** Effect of two parasites, *Anisopteromalus calandrae* and *Choetospila elegans* upon populations of the maize weevil under laboratory and natural conditions. *Journal of Economic Entomology*, 64(6): 1407-1408.

- **Yao, M. C., Chang, S. C., Lee, C. Y., and Lu, K. H. (2012).** A SCAR-based method for rapid identification of four major lepidopterous stored-product pests. *Journal of economic entomology*, 105(3): 1100-1106.

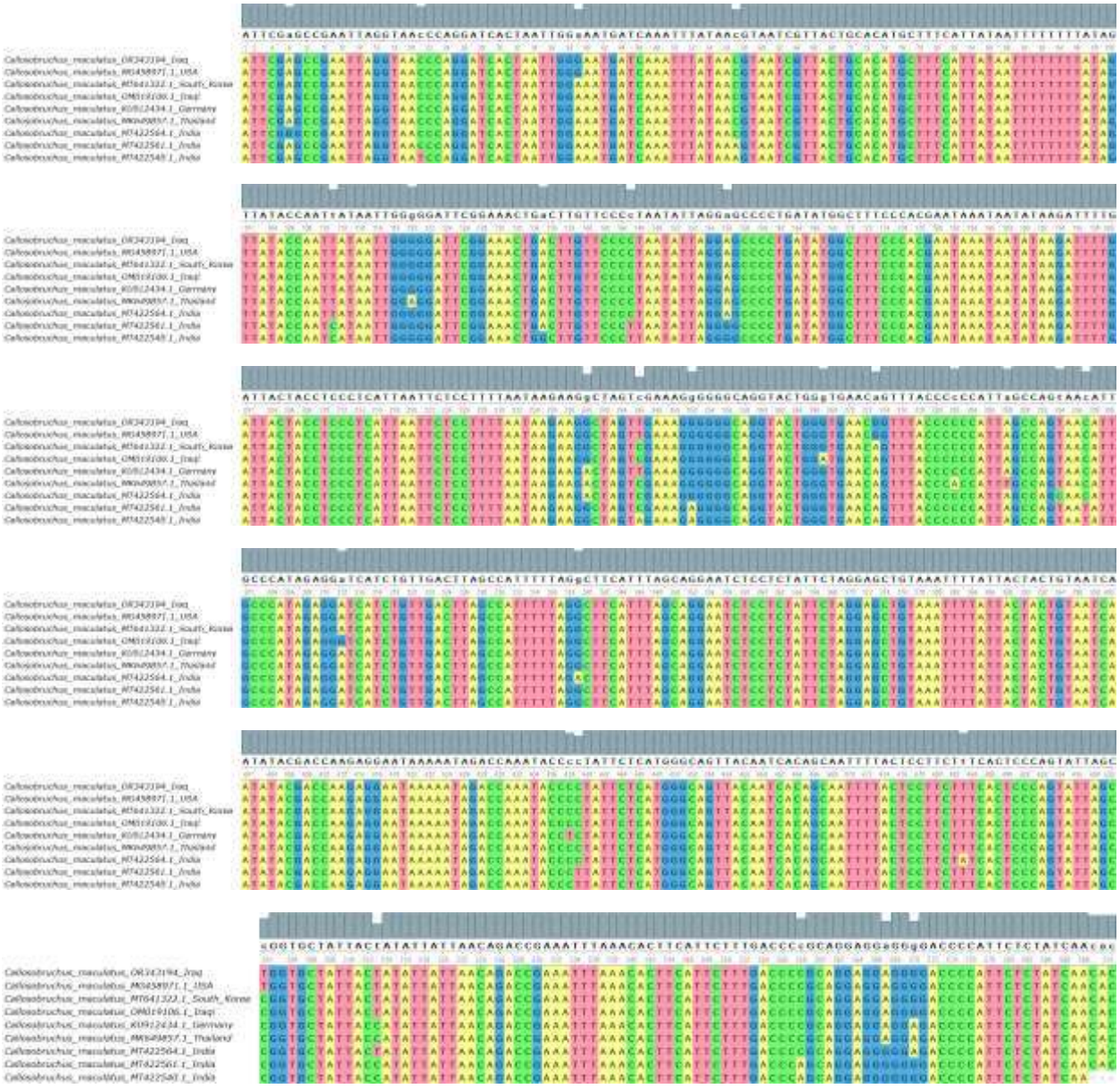
- **Zufall, R. A., Dimond, K. L., and Doerder, F. P. (2013).** Restricted distribution and limited gene flow in the model ciliate *Tetrahymena thermophila*. *Molecular Ecology*, 22(4): 1081-1091.

الملاحق

5 الملحق- 1- :

أ . محاذاة متعددة التسلسل مظللة بأربعة ألوان (الأخضر ، الأصفر ، الأزرق ،الوردي) للدالة إلى الاختلافات و التشابه الموجود في تسلسلات المحددة لجين mtCOI للأنواع مختلفة من الآفات التي تصيب الحبوب المخزوننة والذي تم تحليلها بوساطة Mega X .

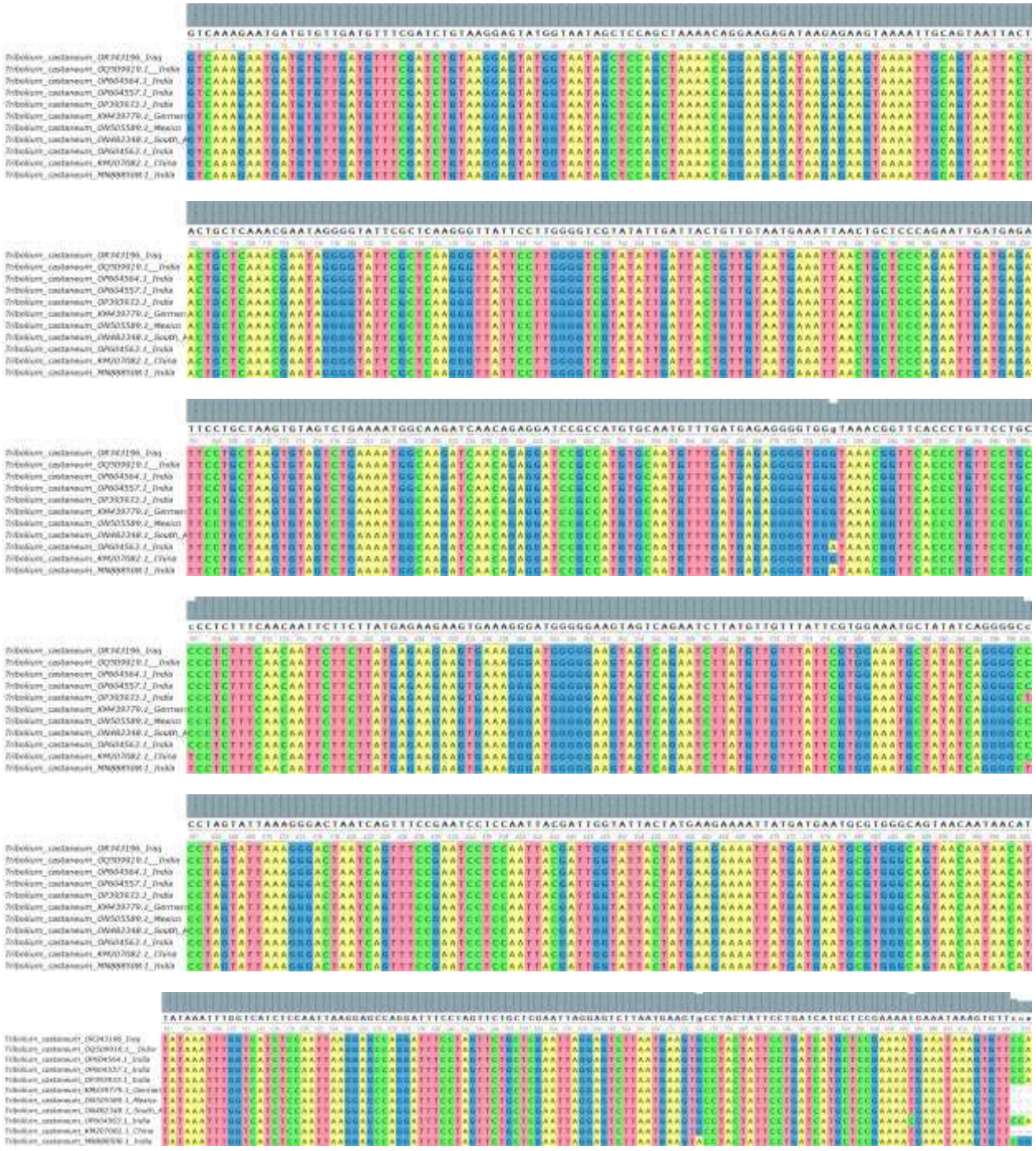
A. multiple sequence alignment of the identified *Anisopteromalus calandrae* targeting partial region within COXI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences.



B. multiple sequence alignment of the identified *Callosobruchus maculatus* targeting partial region within COXI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences.

C. multiple sequence alignment of the identified *Oryzaephilus mercator* targeting partial region within COXI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences.

D. multiple sequence alignment of the identified *Rhyzopertha dominica* targeting partial region within COXI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences.



E. multiple sequence alignment of the identified *Tribolium castaneum* targeting partial region within COXI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences.

F. multiple sequence alignment of the identified *Trogoderma granarium* targeting partial region within COXI gene compared with other global sequences shows the difference and similarity between these sequences.

Summary

The current study included the identification of insect pests from the Coleoptera order that infect stored grains and dried dates in Missan Governorate during the period from January 2021 to December 2022. Samples of infected grains were collected from the General Company for Grain Trade in its three branches, local and main markets and homes in Missan Governorate while dried dates were collected from local and main markets only. The results of the current Morphological identification study showed the registration of eight species infecting stored grains all of which belong to the Coleoptera order and one parasitoid belonging to the Hymenoptera order. The identification study included a Morphological description of the adults and larvae for two species with a identification key for the diagnosed local species which are as follows:

Kingdom: Animalia
Phylum: Arthropoda
Class: Insecta
Subclass :Petrygota
Division: Endopetrygota
Order: Coleoptera Linnaeus,1758
Sub order :Polyphaga Emery,1886
1-Family: Tenebrionidae Latreille,1802
Subfamily :Tenebrioninae Latreille,1802
Genus:*Tribolium* Macleay,1825
Species*: T. castaneum* (Herbst,1797)
Genus:*Latheticus* Waterhouse,1880
Species: *L. oryzae* Waterhouse,1880
2- Family: Silvanidae Kirby ,1837
Subfamily: silvaninae Kirby,1837
Genus: *Oryzaephilus* Ganglbauer,1899
Species: *O. mercator*(Fauvel,1889)
3- Family: Dermestidae Latreille,1804
Subfamily: Megatominae Leach,1815
Genus: *Trogoderma* Dejean,1821
Species *:T. granarium* Everts,1898
4- Family: Bostrichidae Latereille,1802

Sub family: Dinoderinae C.G. Thomson,1863
Genus: *Rhyzopertha* Stephens,1830
Species: *R. dominica* (Fabricus,1792)
5- Family: Chrysomelidae
Subfamily:Bruchinae Latreille,1802
Genus:*Callsobruchus* Pic,1902
Species: *C. maculatus* Fabricius,1775
6- Family:Laemophloeidae
Genus: *Cryptolestes* Ganglbauer, 1899
Species *:C. ferrugineus* Stephanus ,1831
7-Family:curculionidae
Subfamily:Dryophthorinae Schonher,1825
Genus:*Sitophilus* Schoenherr,1838
Species: *S. oryzae* (Linnaeus,1763)
Order:Hymenoptera
Family:Petromalidae
Sub family:Pteromalinae
Genus :*Anisopetromalus*
8- Species: *A. calandrae* (Howard,1881)

The results of the molecular identification also matched the morphological identification of the five species of pests collected from different areas of Misan Governorate which infect stored grains and dried dates. These insect pests are *Tribolium castaneum Oryzaephilus mercator Callsobruchus maculatus Rhyzopertha dominica* and *Trogoderma granarium* and the one parasite is *Anisopetromalus calandrae*. While finding evolutionary genetic relationships between each local species and species recorded in different parts of the world . mtDNA was extracted and polymerase chain reaction (PCR) technology was used to amplify a piece of the COI gene. Species bands appeared with a molecular weight of 700 base pairs and all species correlated at a temperature of 49°C except for *Rhyzopertha dominica* the attachment temperature was 48°C and the percentage of identity of local species with species recorded in different parts of the world reached 100%.

The results of early detection using Multiplex-PCR technology also revealed the detection of six species of pests. In the first reaction three species of *Rhyzopertha dominica* , *Tribolium castaneum* and *Oryzaephilus mercator* were identified at a annealing temperature of 51 °C. The first species appeared with a molecular weight of 286 bp and the second species appeared with a molecular weight of 535 bp and the third species has a molecular weight of 200bp and because of the sharing of the primer ZBJ-ArtF1c/ZBJR2c between two species *Latheticus oryzae* and *Callsobruchus maculatus* and the appearance of the gene with the same molecular weight and the same degree of annealing at 54 °C the two species were separated in two reactions with the species *Trogoderma granarium* as in the second and third reaction the species *Trogoderma granarium* appeared by weight. The molecular weight is 210 bp, and the two species, *Callsobruchus maculatus* and *Latheticus oryzae* appeared with a molecular weight of 190 bp.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
And Scientific Research
Basrah University
College of Education for Pure Science
Department of Biology

Morphological and Molecular Identification Study of some Stored grain insect in Misan Governorate

A thesis

Submitted to The Council of college of Education For Pure Sciences
University of Basrah in Partial Fulfillment of Requirements for the
Degree of Philosophy of Doctorate in Biology

By

Fatimeh Qassem Hamdan

M.Sc. Biology 2016

Supervised by

Prof. Dr. Dhia. Khlaif Kareem

2024 A.D. 1445 A.H.