

ریخت‌شناسی شپشک، *Porphyrophora cynodontis* (Archangelskaia)، با استفاده

از میکروسکوپ الکترونی روبشی و نوری

فرشته غلامی^۱، حسنعلی واحدی^{۲*}، محمد امین سمیع^۳ و عباسعلی زمانی^۴

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

۲- نویسنده مسوول: استادیار گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه (vnassah@yahoo.com)

۳- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر، رفسنجان

۴- استادیار گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۳

چکیده

شپشک‌های جنس *Porphyrophora* (Coccoidea: Margarodidae)، خاکزی و در مرحله دوم پورگی کروی شکل و به مرواریدهای زمینی معروفند. در این پژوهش، ویژگی‌های ریخت‌شناسی شپشک *Porphyrophora cynodontis* (Archangelskaia) که از استان کرمانشاه جمع‌آوری شده است، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی و نوری مجهز به دوربین عکسبرداری، مورد بازمی‌نگار قرار گرفت. توصیف بیشتر ویژگی‌های ریخت‌شناسی بر اساس، میکروسکوپ الکترونی و برخی صفات مانند تراکم صفحات غربالی و موهای بلند روی بدن؛ موقعیت و تعداد صفحات غربالی درون اطاقک (آتریوم) روزنه‌ی تنفسی قفس سینه و صفحات حسی موجود در پشت پنجه‌ی پاهای جلو، بر اساس پراپاراسیون میکروسکوپی می‌باشد. نتایج این بررسی نشان داد که هرچند برای توصیف این جنس از ویژگی‌های میکروسکوپی نیز استفاده شد، اما میکروسکوپ الکترونی روبشی یک ابزار ضروری برای مطالعه و شناسایی این شپشک‌ها می‌باشد.

کلید واژه‌ها: شپشک‌های گیاهی، میکروسکوپ الکترونی روبشی، *Porphyrophora cynodontis*.

مقدمه

موریسون^۱ (۱۹۲۸) شپشک‌های خانواده‌ی (Hem.: Coccoidea Margarodidae) را بر اساس خصوصیات مرفولوژیکی شپشک‌ای ماده، به پنج زیرخانواده از جمله Margarodinae تقسیم نمود. در این میان قبیله Margarodini شامل کلیه گونه‌های خاکزی^۲ (شپشک‌های ریشه) می‌باشد. سپس

خانواده‌ی Margarodidae توسط جاکوبسکی^۳ (۱۹۶۵) به چهار زیرخانواده‌ی Porphyrophorinae، Eumargarodinae، Neomargarodinae و Margarodinae تقسیم شد. شپشک‌های Margarodidae شامل ۸۳ جنس (۷۶ موجود و ۷ فسیل) و ۴۵۹ گونه‌ی (۴۳۹ موجود و ۲۰ فسیل) توصیف شده هستند، که از این تعداد، ۱۰ جنس و ۱۱۰ گونه، به شپشک‌های قبیله‌ی Margarodini یا شپشک‌های ریشه تعلق دارند. از ۱۱۰ گونه

1- Morrison
2- Hypogeic margarodes

3- Jakubski,

(۱۹۹۹)؛ برخی از گونه‌های این خانواده نیز ممکن است در کنترل بیولوژیک علف‌های هرز مؤثر باشند؛ تمام گونه‌های جنس *Porphyrophora* از خانواده‌ی مارگارودیده دارای رنگ‌دانه‌ی قرمز و گران‌بهایی هستند اما برخی از آنها مانند *P. cynodontis* در استخراج رنگدانه‌ی طبیعی دارای اهمیت بیشتری هستند (کاردون^{۱۰}، ۲۰۰۰ و ۲۰۰۳)؛ این شپشک‌ها روی قسمت‌های مختلف گیاه در زیر خاک (ریشه، طوقه و ریزوم) مستقر شده و از شیرهی گیاه تغذیه می‌کنند؛ به همین دلیل به نام شپشک‌های ریشه، نیز معروف هستند. با شروع تغذیه، بدن آن‌ها به تدریج متورم شده، ضمائم بدن، شاخک‌ها و پاهاى خود را از دست داده و بدن پوره‌ها در مرحله‌ی سن دوم، گرد و کروی شده که اصطلاحاً "سیست"^{۱۱} گفته میشود؛ بعضی از سیست‌ها تحت فشار ریشه و یا سایر قسمت‌های گیاه قرار گرفته و از حالت کاملاً کروی خارج میگردند؛ اغلب سیست‌ها کروی، قرمز رنگ و شفاف هستند و به همین دلیل تحت نام مروراید‌های زمینی^{۱۲}، نیز معروفند. بیشترین خسارت این حشرات روی گیاه مربوط به پوره‌های سن ۲ یا "سیست" می‌باشد (واحدی، ۱۳۷۰؛ واحدی و حجت، ۱۳۷۴). لازم به ذکر است که شپشک‌های قبیله‌ی *Margarodini* یا شپشک‌های ریشه همگی سیست فرم هستند و تا کنون در این گروه فسیلی مشاهده نشده است (فولدی، ۲۰۰۱)؛ به علت مخفی بودن زندگی این گروه از شپشک‌ها، به نظر میرسد که تعداد زیادی از این گروه هنوز ناشناخته مانده‌اند.

مواد و روش‌ها

جمع آوری: با توجه به تحقیقات و تجربیات قبلی میزبان‌ها و کانون‌های آلوده مشخص شد. اواخر مرداد و اوائل شهریور با بازدیدهای هفتگی از زمین‌های

مارگارودیده‌های سیست فرم^۱ در دنیا حدود ۵۰ گونه متعلق به جنس *Porphyrophora* است (واحدی و هاجسون^۲، ۲۰۰۷؛ فولدی^۳، ۲۰۰۱). اندازه شپشک‌های این خانواده از ۱/۵ تا ۴۰ میلی-متر متغیر است اما اغلب آنها مانند *Callipappus australis* (Maskall, 1890) بزرگ، نسبت به سایر شپشک‌های گیاهی می‌باشند (موریسون، ۱۹۲۸؛ ویلیام و واتسون^۴، ۱۹۹۰). به همین خاطر این حشرات به شپشک‌های غول‌آسا^۵ معروفند. بدن این حشرات، بیضی یا تخم مرغی است و دارای دو جفت روزنه تنفسی قفس سینه‌ای و معمولاً هفت جفت روزنه تنفسی شکمی می‌باشند. روی بدن معمولاً پوشیده از مو و صفحات دایره‌ای شکل غربال مانند است که موم ترشح می‌کنند. بندهای شاخک، به جز بند انتهایی، حلقه‌ای شکل هستند. بند انتهایی علاوه بر موهای بلند، حاوی موهای حسی ضخیم و گوشتی است. پاهاى جلو بسیار قوی بوده و برای حرکت در زیرخاک سازگار شده‌اند. منفذ تناسلی ساده و کیسه-ای شکل، مخرج لوله‌ای و اسکلیت خارجی آن دارای حلقه‌ی ساده و تحلیل رفته می‌باشد (جاکوبسکی، ۱۹۶۵؛ واحدی و هاجسون^۶، ۲۰۰۷). این حشرات، به علت داشتن زندگی مخفی، کم‌تر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند؛ برخی از آن‌ها دارای جنبه‌های اقتصادی مهمی هستند، مثلاً شپشک ریشه‌ی *P. tritici* (Bodenheimer) جزء آفات مهم زراعی (گندم و جو) در ایران (غرب کشور)، عراق، ترکیه و سوریه می‌باشد (واحدی و حجت، ۱۳۷۴؛ عبدل-الرسول و عزیز^۷، ۲۰۰۱؛ دوران^۸، ۱۹۷۱؛ واحدی^۹،

- 1- Cyst form margarodids
- 2- Vahedi & Hodgson
- 3- Foldi
- 4- Williams & Watson
- 5- Giant scales
- 6- Vahedi & Hodgson
- 7- Abdul-Rassoul & Aziz
- 8- Duran
- 9- Vahedi

- 10- Cardon
- 11- Cyst
- 12- Ground pearl

شفاف‌سازی: تعدادی شپشک به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در شرایط معمولی آزمایشگاه، در دمای حدود 25°C ، داخل محلول هیدروکسیدپتاسیم ۱۰٪ (KOH) قرار داده شد؛ به منظور سهولت نفوذ هیدروکسیدپتاسیم، در بدن حشره، با سوزن ظریفی منفذ بسیار نازکی ایجاد گردید. همچنین به منظور مشاهده‌ی دقیق‌تر خصوصیات مرفولوژیکی ناحیه‌ی پشتی و شکمی، با استفاده از قیچی ظریف، بدن بعضی از نمونه‌ها در نواحی جانبی، به دو نیم تقسیم گردید. پس از شفاف شدن، نمونه‌ها با آب مقطر شستشو داده شد و با استفاده از سوزن‌های ظریف، نا-خالصی‌ها و بافت‌های چربی باقیمانده جدا شدند و پوسته (جلد) در ظرف دیگری حاوی آب مقطر انتقال یافت و سپس چند قطره اسید استیک خالص (GAA) به آن اضافه شد تا چربی‌های آزاد حل شوند (حدود ۷۰٪ اشباع گردد) و سپس نمونه‌ها برای آبگیری بیشتر به داخل اسید استیک خالص انتقال یافت.

رنگ‌آمیزی نمونه‌ها با اسید فوشین: به مدت کمتر از یک دقیقه مقدار اندکی (کمتر از یک قطره) از محلول اسید فوشین به ظرف حاوی نمونه‌ها (۷۰٪ GAA) اضافه شد (گاهی به زمان کمتر یا بیشتری نیاز است). در صورت رنگ گرفتن بیش از حد نمونه‌ها، لازم است که آن‌ها را مجدداً به ظرف اسیداستیک خالص (۱۰۰٪ GAA) انتقال داده تا رنگ اضافی آن‌ها از بین برود. یک قطره گزین (Xylene) را به ظرف اسید استیک خالص حاوی نمونه‌ها، اضافه کرده تا چربی‌های باقیمانده را در خود حل نماید. نمونه‌های آماده را در یک قطره کانادابالزام، روی لام، قرار داده و پس از فرم دادن بدن، لام را بر روی آن قرار داده و با کمی فشار آن را تثبیت کردیم. اسلایدها جهت خشک شدن در داخل آون قرار گرفت. قبل از خشک شدن نمونه‌ها، با برچسب اسلایدها نصب گردید (هاجسون و هندرسون^۶، ۲۰۰۰؛ واحدی^۷، ۲۰۰۲؛ واحدی و هاجسون^۸، ۲۰۱۲).

زراعی و غیر زراعی در استان کرمانشاه علف‌های هرز *Cynodon* و *Phragmites communis* را با استفاده از بیل، ریشه کن و بوته‌های آلوده جمع‌آوری و درون کیسه‌های نایلونی به آزمایشگاه منتقل شد. هر چند بوته‌های آلوده ممکن است از نظر رشد تا حدودی ضعیف‌تر باشند، اما این حالت ممکن است مربوط به عوامل دیگر هم باشد. نمونه‌های آلوده درون کیسه‌های پلاستیکی تا خارج شدن حشرات کامل از داخل سیست، در شرایط معمولی آزمایشگاه، نگهداری شدند؛ حشرات کامل پس از خارج شدن، درون شیشه‌های حاوی الکل ۷۵٪ نگهداری شد و روی شیشه‌ها برچسب نصب گردید. برچسب شامل اطلاعات میزبان، تاریخ و مکان جمع‌آوری، نام جمع‌آوری کننده، کد نمونه و سایر آگاهی‌های محلی بود.

روش آماده سازی نمونه‌ها برای میکروسکوپ الکترونی روبشی^۱: آماده‌سازی نمونه برای قرار گرفتن در داخل میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل هیتاچی^۲ و تهیه‌ی عکس‌های مورد نظر، شامل: تثبیت کردن نمونه‌ها با تثبیت کننده‌ی شیمیایی گلو تارالدهید^۳ و آب‌گیری با اتانول و استون انجام شد. خشک کردن نمونه‌ها با استفاده از تکنیک نقطه‌ی بحرانی^۴ انجام شد. سپس نمونه‌ها با استفاده از چسب Araldite روی پایه‌های آلومینیومی چسبانده شده و پوشش نازکی از طلا با استفاده از دستگاه Sputter coater روی نمونه‌ها پاشیده شد. این مرحله در دانشگاه امپریال کالج، دانشگاه لندن انجام شد (کریمی، ۱۳۸۱؛ ایسنیس و ویچارد^۵، ۱۹۸۷؛ غلامی مه‌فر، ۱۳۸۹).

تهیه‌ی اسلایدهای میکروسکوپی:

- 1- Scanning Electron Microscope
- 2- Hitachi
- 3-Glutaraldehyde
- 4-Critical point drying^۴
- 5- Eisenbeis & Wichard

- 6- Hodgson & Henderson
- 7- Vahedi
- 8- Vahedi & Hodgson

نتایج

در این مطالعه، خصوصیات تاکسونومیک ماده‌های بالغ شپشک‌های جنس *Porphrophora* بر اساس تصاویری که با میکروسکوپ الکترونی روبشی و میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکس برداری شده، ارائه می‌گردد.

مرفولوژی شپشک گیاهی، *P. cynodontis* (Archangelskaia)

حشرات کامل دارای بدن قرمز رنگ و تخم مرغی شکل می‌باشند و میانگین طول ۶ و عرض ۴ میلی‌متر هستند. بدن آن‌ها ۹ بندی است، به طوری که قفس سینه از سه بند (شکل ۱) و شکم از ۶ بند تشکیل شده است. بندها، از طریق میان بندهای چین دار، به طور واضح و مشخص دیده می‌شوند. پوست بدن نمونه‌های زنده، بسیار نرم و قابل انعطاف با چین و چروک فراوان، می‌باشد.

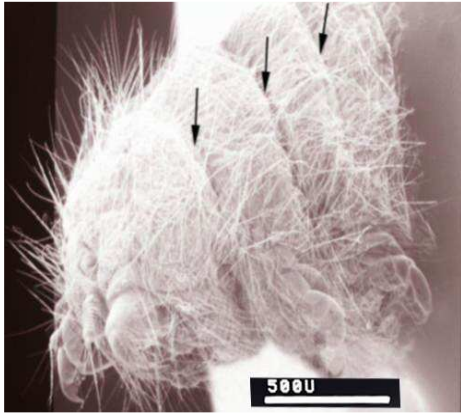
هر بند بدن مملو از موهای بلند^۱، تعداد معدودی موی کوتاه^۲ و صفحات دایره‌ای غربال‌مانند^۳ می‌باشد (شکل‌های ۲ و ۳). صفحات غربال‌مانند انتهای بدن، بزرگ‌تر و دارای منافذ بیشتری هستند (شکل ۴)؛ تراکم موها و صفحات غربال‌مانند در این گونه نسبت به *P. tritici* بیشتر است. (شکل‌های ۲A و ۳).

شاخک‌ها از نوع حلقه‌ای است، بند انتهایی حاوی تعدادی موی بلند، موی گوشتی^۴ و تعدادی منافذ حسی^۵ می‌باشد (شکل‌های ۵A و ۷)؛ بند چهارم شاخک دارای یک پلاک حسی^۶ (شکل B و ۵A) که حاوی مجموعه‌ای از حفره یا منفذ حسی و گاهی یک موی بلند و یا کوتاه می‌باشد؛ درون هر منفذ حسی یک موی خمره‌ای شکل وجود دارد (شکل ۵B). هر چند تعداد بندهای شاخک، موهای بلند و موهای گوشتی روی بند انتهایی و فرم بند انتهایی و پلاک موجود بر روی بند چهارم،

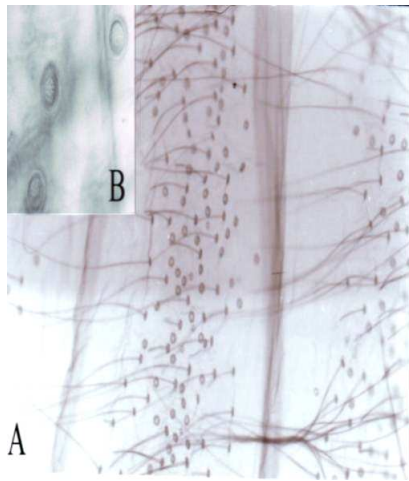
در این بررسی ترمینولوژی‌ها بر گرفته از (واحدی و هاجسون، ۲۰۱۲) می‌باشد و اصطلاحات کامل مربوط به اختصارات انگلیسی که به صورت برجسب در شکل‌ها استفاده شده است به ترتیب زیر است:

a= antennae; als= antennal long hair-like setae (flagellate setae); ao= anal opening; ap= antennal placodeum; apls= long seta in (or next to) antennal placodeum; es= eyespot; fs= fleshy setae on antennal apical segment; go= genital opening; lhs= long hair-like setae; mdp= multilocular disc pore; mescdi= mesothoracic claw digitule; mescfap= finger-like apex on triangular lateral plates on mesothoracic leg; mescls= long hair-like setae on membranous triangular plate; mesmtp= coxa (triangular lateral plates on mesothoracic leg); msfls= ventral long hair-like setae on metathoracic femur; mesfss= short setae on mesothoracic femur; mesctp= membranous triangular plate on mesothoracic leg; mestadi= mesothoracic tarsal digitule; mestass= mesothoracic tarsal small setae; mestidi= hair-like digitule on mesothoracic tibia; mestiss= small setae on mesothoracic tibia; mestss= short setae on triangular lateral plates (mesothoracic leg); pfls= long hair-like setae on prothoracic femur; pffs= short setae on prothoracic femur; pl= prothoracic leg; pssen= perispicular sensilla; ptadi= prothoracic tarsal and claw digitules; ptasen= prothoracic dorso-tarsal sensilla (campaniform pores); ptass= small setae on prothoracic tarsi; ptidi= hair-like digitule on prothoracic tibia (=digitule); ptiss= small setae on prothoracic tibia; pssen= U= μm ; tm= trace mouth parts; ts= thoracic spiracles; tsdp= thoracic spiracular disc-pores and ss= small setae.

- 1- Long hair-like setae (= flagellate setae)
- 2- Small setae
- 3- Multilocular disc-pores
- 4- fleshy setae
- 5- sensilla (=campaniform pores)
- 6- sensilla placodeum



شکل ۱- عکس میکروسکوپ الکترونی از نمای جانبی بدن ماده‌های بالغ، *P. cynodontis*: نمای ظاهری با میان-بندهای چین‌دار؛ فلش‌ها میان بندها را نشان می‌دهند.



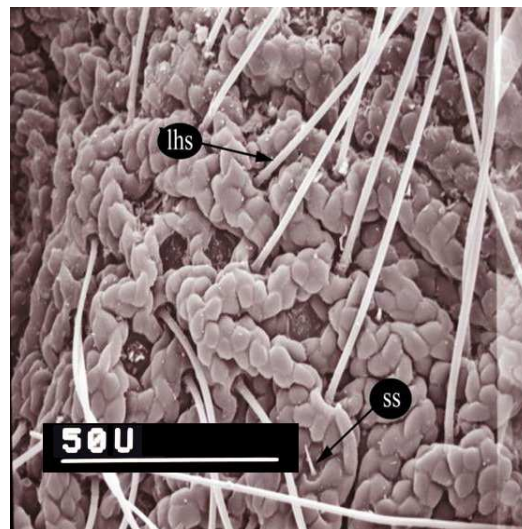
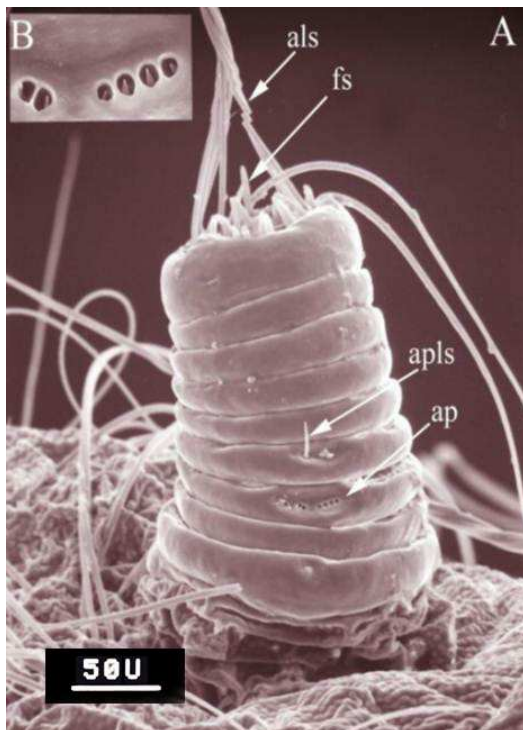
شکل ۲- عکس میکروسکوپ نوری، ماده‌های بالغ، *P. cynodontis*:
A. تراکم موهای بلند و صفحات غربالی دایره‌ای مانند، بر روی بندهای ۴ و ۵ شکم، 10X.
B. صفحات غربالی مانند، 40X.

کاراکترهای متغیری به‌نظر می‌رسند اما ترکیب آنها در تشخیص این گونه مهم می‌باشد.

افراد بالغ فاقد قطعات دهانی بوده اما حفره‌ی نسبتاً عمیق ناحیه‌ی شکم، بین پاهای جلو و میانی، نشان دهنده‌ی محل قطعات دهانی می‌باشد که کاملاً از بین رفته‌اند (شکل ۶). دارای چشم‌های ساده و دو جفت روزنه‌ی تنفسی قفس سینه‌ای^۱ می‌باشند (شکل ۶ و ۷). هر روزنه‌ی تنفسی در ناحیه‌ی قفس سینه (شکل‌های ۶ و ۸)، دارای حلقه‌ی دایره‌ای و پایون‌دار^۲ اسکروتینه شده از کوتیکول (شکل‌های ۹ و ۱۰) به نام پریتریم^۳ می‌باشد؛ همچنین هر روزنه‌ی تنفسی به یک اطاقک^۴ به نام آتریوم^۴ مرتبط است که در قسمت داخلی آن، ۸-۱۸ عدد صفحه‌ی دایره‌ای غربال‌مانند^۵ وجود دارد (شکل ۹)؛ در جوار هر پریتریم ۴-۶ منفذ حسی بنام پری‌اسپیراکیولار سینسیلیا^۶ قرار دارد (شکل ۱۰)؛ تعداد صفحات دایره‌ای غربال‌مانند و پری‌اسپیراکیولار سینسیلیا هر چند در داخل گونه‌ها ممکن است متغیر باشد اما دامنه تغییرات آن‌ها در تشخیص گونه‌ها حائز اهمیت است. فاقد روزنه‌های تنفسی شکمی، در صورت وجود بسیار تحلیل رفته و نامشخص هستند.

مخرج با دریچه‌ی ساده، همراه با یک اسکلیت نازک، هلالی‌شکل و دارای حلقه‌های موج اطراف آن است (شکل ۱۱)؛ به نظر می‌رسد که به دلیل عدم وجود استایلت‌ها و در نتیجه، عدم تغذیه‌ی حشره‌ی کامل، مخرج غیرفعال است؛ در نتیجه صفحات مخرجی این گونه شبیه به سایر گونه‌ها، بسیار ساده و تحلیل رفته است. منفذ تناسلی ساده و فعال، اطراف آن چین‌دار و فاقد مو و صفحات غربالی است (شکل ۱۱).

- 1- Thoracic spiracles
- 2- Bow-tie
- 3- Peritreme
- 4- Atrium
- 5- Spiracular disc-pores
- 6- Perispiracular sensilla

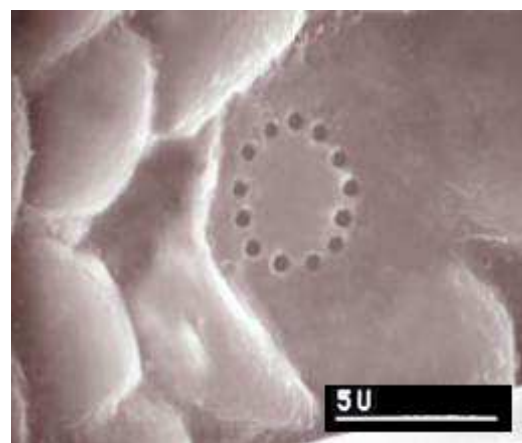


شکل ۳- عکس میکروسکوپ الکترونی، ماده‌های بالغ، *P. cynodontis*

A. تراکم موهای بلند (lhs)، موهای کوتاه (ss) و صفحات غربالی دایره‌ای مانند (mdp) روی بندهای ۴ و ۵ شکم.

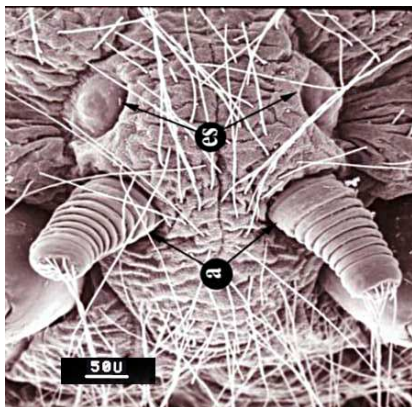
شکل ۵- عکس میکروسکوپ الکترونی از شاخک ماده‌های بالغ، *P. cynodontis*

A. موهای بلند روی بند انتهایی شاخک (als)؛ موهای گوشتی روی بند انتهایی شاخک (fs)؛ پلاک حسی روی بند چهارم شاخک (ap)؛ مو واقع در بند پنجم (اتفاقی وجود دارد) (apls).
B. مجموعه‌ی حفره حسی روی پلاک حسی بند چهارم و موهای خمیره‌ای درون آن‌ها (ap).

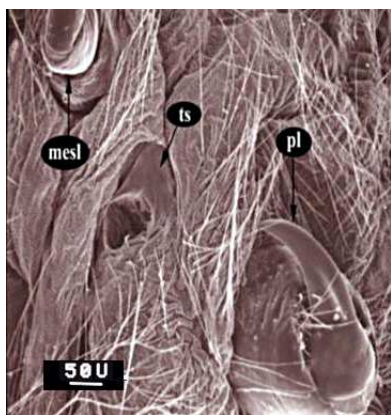


شکل ۴- عکس میکروسکوپ الکترونی، ماده‌های بالغ، *P. cynodontis*: صفحه‌ی غربالی (mdp) بند انتهایی شکم.

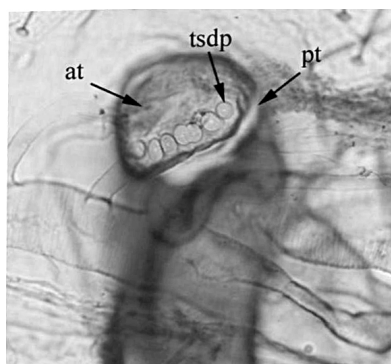
پاهای جلو کوتاه و قوی‌تر از پاهای دیگر هستند که برای حرکت در زیر خاک سازگار شده‌اند. هر یک از ران‌های پاهای جلو در نواحی پشتی- جانبی کیتینی و سخت شده‌اند و حاوی موهای پراکنده‌ی خیلی کوتاه می‌باشند. ناحیه‌ی شکمی ران، نرم و دارای یک دسته از موهای بلند است؛ ساق پای جلو خیلی کوتاه (برابر یا کمتر از طول پنجه) و هلالی شکل است، در ناحیه‌ی پشتی پهن، کیتینی و سخت و در جوانب به تدریج باریک شده، به طوری که در ناحیه‌ی شکمی با ران و حتی پنجه ادغام شده است؛ در جوانب شکمی ساق، یک یا دو موی تقریباً بلند، برابر با طول ساق و چند موی



شکل ۷- عکس میکروسکوپ الکترونی از ناحیه سر ماده های بالغ *P. cynodontis*: چشم ساده (es)، شاخک (a).

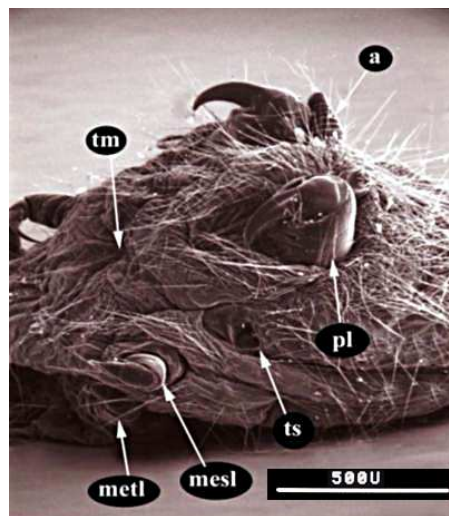


شکل ۸- عکس میکروسکوپ الکترونی از نمای جانبی بدن ماده های بالغ، *P. cynodontis*: پای جلو (pl)؛ روزنه ی تنفسی قفس سینه (ts) و پای میانی (mesl).



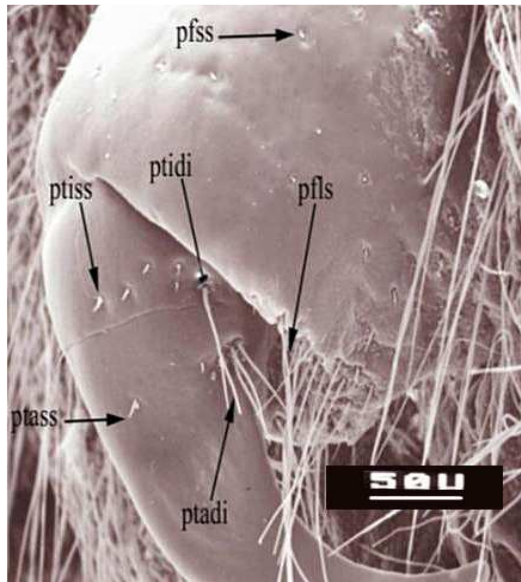
شکل ۹- عکس میکروسکوپ نوری از اسپیراکل قفس سینه- ی ماده های بالغ، *P. cynodontis*: 40X آتریوم (at)؛ پریتریم (pt)؛ صفحات دایره ای غربال مانند در قسمت داخلی آتریوم (tsdp).

پراکنده ی خیلی کوتاه در جوار آن ها وجود دارد. هر پنجه ی پای جلو درنواحی پشتی-جانبی کیتینی و سخت و با ناخن قوی ادغام شده است؛ هر طرف آن درجوانب شکمی دارای دو تا پنج موی حسی که حاصل ادغام موهای حسی پنجه و ناخن می باشد که اصطلاحاً تارسال-کلاو دیجیتال^۱ نامیده می شوند؛ طول آن ها با طول موهای حسی جوانب ساق برابر است (چند موی پراکنده ی خیلی کوتاه در جوار آن ها نیز وجود دارد) (شکل ۱۲)؛ ناحیه ی پشتی پنجه، دارای یک گروه ۱۲-۶ تایی از سنسیلباهای شفاف و گرد^۲ می باشد (شکل های ۱۳ و ۱۴)؛ پنجه درجوانب پشتی هم، به طور قرینه دارای یک موی کوتاه است. ناخن قوی، کیتینی و کم و بیش خمیده است (شکل ۱۲)؛ شکل ناخن در تشخیص گونه ها مهم است، هر چند دارای تغییرات داخل گونه ای هم می باشد (برای اطلاعات بیشتر به واحدی، ۲۰۰۲؛ واحدی و هاجسون، ۲۰۱۲ مراجعه شود).

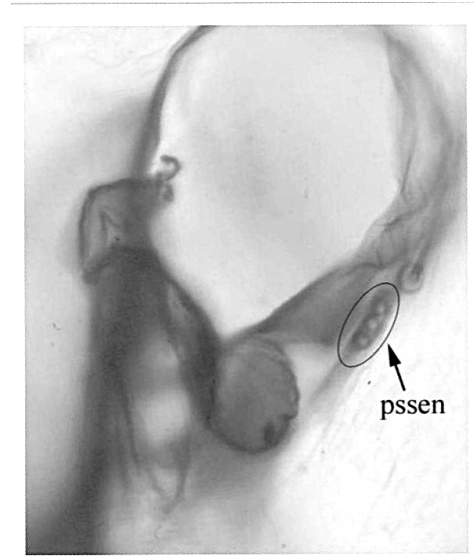


شکل ۶- عکس میکروسکوپ الکترونی از نمای جانبی- شکمی بدن ماده های بالغ، *P. cynodontis*: بدن با چین و چروک فراوان؛ شاخک (a)؛ پای جلو (pl)؛ روزنه ی تنفسی قفس سینه ای (ts)؛ پای میانی (mesl)؛ پای عقبی (metl) و اثر قطعات دهانی (tm).

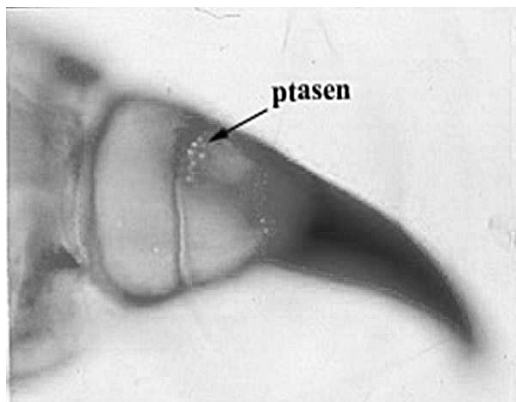
1- Tarsal-claw digitules
2- dorso-tarsal sensilla (=campaniform pores)



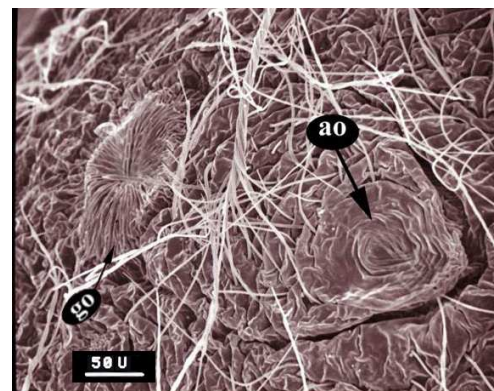
شکل ۱۲- عکس میکروسکوپ الکترونی پای جلو در ماده- های بالغ، *P. cynodontis*: موهای کوتاه روی ران پای جلو (pfss)؛ موهای بلند روی سطح شکمی ران پای جلو (pfls)؛ موهای کوتاه روی ساق پای جلو (ptiss)؛ موهای حسی روی ساق پای جلو (ptidi)؛ موهای کوتاه روی پنجه پای جلو (ptass)؛ digitule های روی پنجه پای جلو (ptadi).



شکل ۱۰- عکس میکروسکوپ نوری از اسپیراکل قفس سینه‌ی ماده‌های بالغ، *P. cynodontis*: 40X دایره محل قرار گرفتن Perispiracular sensilla در جوار پریتریم (pssen) و در جلو پایون‌ها قرار دارد.



شکل ۱۳- عکس میکروسکوپ نوری از سنسیلیاهای پشت پنجه پای جلو (Ptasen = campaniform pores) در ماده‌های بالغ، *P. cynodontis*، 10X (با شکل ۱۴ مقایسه شود)



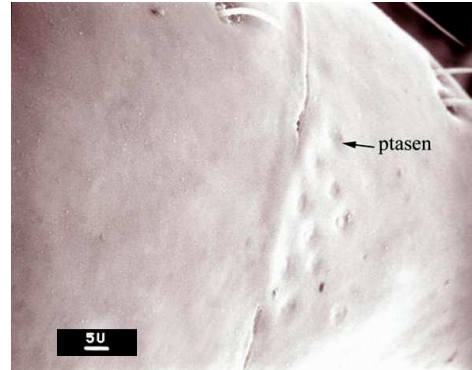
شکل ۱۱- عکس میکروسکوپ الکترونی از نمای عقبی بند جنسی ماده‌های بالغ *P. cynodontis*: منفذ مخرجی (ao) و منفذ جنسی که این قسمت دارای منطقه‌ای چین-خورده است (go).

دو برابر پنجه است؛ سطح آن از موهای کوتاه پوشیده شده است. ناحیه‌ی شکمی-جانبی در هر طرف دارای ۲-۱ موی حسی تقریباً بلند (شبيه به موی حسی ناخن) است. پنجه یک بندی است که در ناحیه‌ی پشتی دارای یک دسته‌ی ۱۰-۸ تایی از سنسیلیا و در ناحیه‌ی شکمی-جانبی (نزدیک پیش‌پنجه) هر طرف، دارای ۲-۱ موی حسی تقریباً بلند (شبيه به موی حسی ساق و ناخن) می‌باشد. پیش‌پنجه با ناخن ادغام شده و ناحیه‌ی شکمی-جانبی (نزدیک قاعده‌ی ناخن) هر طرف دارای ۲-۱ موی حسی تقریباً بلند است (موهای حسی ناخن، پنجه و ساق معمولاً شبيه هستند)؛ طول این موها همیشه به مراتب کوتاه‌تر از طول ناخن است؛ هر ناخن، بلند، سخت و نوک‌تیز می‌باشد. تعداد موهای حسی، شکمی-جانبی، در هر طرف ساق، پنجه و ناخن، ۲-۱ و بندرت ۳ عدد می‌باشد؛ گاهی ممکن است تعداد و اندازه‌ی این موها برابر نباشد. پنجه و پیش‌پنجه‌ی ناخن پاهای میانی و عقبی بر خلاف پای جلو با هم ادغام نشده‌اند (شکل ۱۵).

بحث

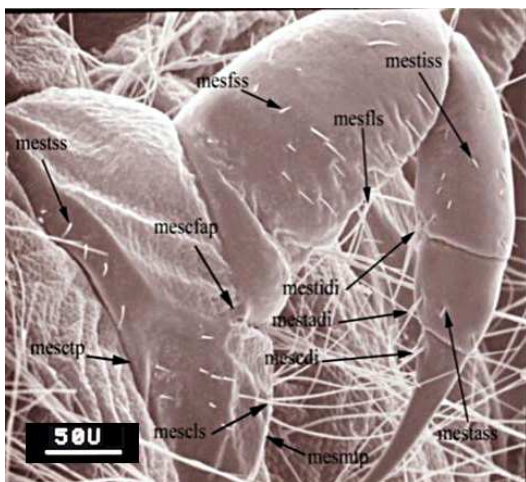
تشخیص صحیح و درست حشرات یکی از اقدامات اولیه و بنیادین هر برنامه‌ی مدیریتی است. کلیه‌ی صفات مرفولوژیک خارجی حشرات و سایر بندپایان ریز با استفاده از میکروسکوپ نوری و یا میکروسکوپ الکترونی روبشی قابل بررسی نیستند اما بررسی مرفولوژیکی حشرات از طریق میکروسکوپ الکترونی روبشی دارای اهمیت بیشتری است و امروزه در کشورهای پیشرفته، بسیار رایج است و در ایران کمتر انجام شده است.

در مطالعات مرفولوژیک شپشک‌های ریشه هر چند میکروسکوپ الکترونی روبشی نسبت به نوری برتری دارد اما نمی‌توان نقش میکروسکوپ نوری را نادیده انگاشت. چون برای مشاهده‌ی بعضی از کاراکترهای مهم، استفاده از این دستگاه ضروری است. برای مثال تراکم موها و صفحات غربالی روی بندهای بدن (مقایسه



شکل ۱۴- عکس میکروسکوپ الکترونی از سنسیلیاها (Ptasen = campaniform pores) در پشت پنجه‌ی پای جلو ماده‌های بالغ، *P. cynodontis*

پاهای وسطی و عقبی مشابهند ولی به اندازه‌ی پاهای جلو قوی نیستند؛ اما به‌طور مشخص باریک‌تر و بلندترند. هر یک از آنها دارای بندهای مشخص هستند؛ کوکسا دارای دو صفحه‌ی جانبی مثلثی شکل است، هر صفحه سخت و کیتینی، با قاعده بسیار بلند، ۴۰۰ میکرون، که سطح صفحه بطور پراکنده دارای موهای کوتاه است. رأس هر صفحه‌ی مثلثی (کوکسا)، منقار مانند و بسیار سخت است که محل اتصال به تروکانتر است (کوکسا به صورت دو نقطه‌ای به تروکانتر متصل می‌گردد)؛ غیر از دو نقطه‌ی اتصال، بین کوکسا و تروکانتر، ناحیه فراخ پرده‌مانند از پوست، که دارای طرح موزائیک‌های بیضی شکل و برجسته هستند، وجود دارد که در ناحیه‌ی پشتی، بدون مو و در ناحیه شکمی دارای ۱۲-۱۰ موی بلند و تعدادی موی کوتاه است. به نظر می‌رسد که این شیوه‌ی اتصال، خصوصیت منحصر به فردی برای مارگارودید-های خاکزی (سیست فرم) باشد. تروکانتر هلالی شکل بوده، در ناحیه‌ی شکمی پهن و برجسته و در ناحیه‌ی پشتی از دو طرف به تدریج باریک شده، به‌طوری‌که در ناحیه‌ی پشتی-مرکزی با ران ادغام شده است؛ هر طرف نواحی شکمی-جانبی، دارای حدود ۱۵ سنسیلیا است. ران نسبتاً بزرگ و قوی است، سطح پشتی-جانبی، مخصوصاً جوانب، به‌طور پراکنده از موهای کوتاه و سطح شکمی از موهای بلند پوشیده شده است. طول ساق



شکل ۱۵- عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی از نمای جانبی پای وسط در ماده‌های بالغ، *P. cynodontis*: موهای حسی یا digitules روی ناخن پای وسط (mesctdi)؛ پنجه‌ی پای وسط (mestadi)؛ ساق پای وسط (mesctp)؛ ران (mesfss)؛ موهای بلند روی ناحیه‌ی شکمی ران (mesfls)؛ صفحه‌ی مثلثی جانبی کوسای پای وسط (mesctp)؛ موهای کوتاه روی صفحه‌ی مثلثی جانبی کوسای پای وسط (mestss)؛ انتهای انگشت‌مانند صفحه‌ی مثلثی جانبی کوسای پای وسط (mesctp)؛ صفحه‌ی مثلثی غشایی کوسا پای وسط (mesmp) و موهای بلند روی صفحه‌ی مثلثی غشایی کوسا (mescls).

بند انتهایی شاخک *P. cynodontis*، اغلب تخت و دارای حدود ۱۲ موی ضخیم و گوشتی اما در *P. tritici* تخم مرغی و دارای حدود ۷ موی ضخیم و گوشتی؛ پلاک موجود بر روی بند چهارم شاخک *P. cynodontis*، بزرگ و معمولاً دارای بیش از ۵ منفذ حسی اما در *P. tritici* کوچک و اغلب دارای کمتر از ۵ منفذ حسی است.

بررسی‌های مورفولوژیکی با استفاده از میکروسکوپ نوری از روی پرپاراسیون‌های تهیه شده از شپشک‌ها توسط واحدی و هاجسون (۲۰۰۷) نیز حکایت از این دارد که پرپاراسیون‌های تهیه شده از این حشرات گاهی با اشکالاتی از قبیل مخفی ماندن و نامفهوم بودن بعضی

شکل‌های ۲ و ۳)، تعداد صفحات غربالی روزنه‌های تنفسی قفس سینه، چون در داخل اطاقک آتریوم قرار دارند، میکروسکوپ الکترونی روبشی قادر به نشان دادن آنها نیست (شکل ۸-۱۵) اما میکروسکوپ نوری قادر به نشان دادن آنها است (شکل‌های ۹ و ۱۰)؛ برای اطلاعات بیشتر به (واحدی و غلامی^۱، ۲۰۱۰) نیز مراجعه شود.

اما تصاویر واضح سه بعدی از خصوصیات مورفولوژیکی مهم این گروه از حشرات با بزرگنمایی زیاد درک ما را نسبت به اختلافات ساختار ظاهری مانند چین و چروک و برجستگی‌های سطح بدن (شکل ۳)، صفحات غربالی سطح بدن (شکل ۴)، ساختار شاخک و ضمائم آن (شکل B و ۵A) و غیره افزایش می‌دهد.

این گروه از حشرات طی میلیون‌ها سال تکامل با محیط زیست خود، یعنی زندگی در زیر خاک، سازگاری یافته‌اند. برای مثال پای جلو با ران و ناخن بسیار قوی (شکل‌های ۱۲ و ۱۳)، ساختار حلقه‌ای و فتر مانند شاخک (شکل ۵ و ۷) و موهای گوشتی در بند انتهایی شاخک که برای حرکت در زیر خاک شکل گرفته‌اند از جمله نشانه‌های سازگاری هستند. میزان اهمیت این قبیل خصوصیات در تشخیص مارگارودیده - های خاکزی در مقایسه با گونه‌های غیر خاکزی بسیار بارز است.

کارکرتهای تشخیص گونه‌های نزدیک در این گروه خیلی پایدار نیستند اما با ترکیب چند کاراکتر می‌توان گونه‌ها را شناسایی کرد. مثلاً مقایسه بعضی از خصوصیات *P. cynodontis* با گونه *P. tritici* به صورت زیر است:

چین و چروک و برجستگی‌های سطح بدن؛ تراکم موها و صفحات غربال‌مانند سطح بدن؛ تعداد صفحات غربالی در اطاقک آتریوم روزنه تنفسی؛ منافذ حسی یا پری‌اسپیراکولار سینسیلیا در *P. cynodontis*، نسبتاً زیاد اما در *P. tritici* کم است؛

1- Vahedi & Gholami

از کاراکنترهایی دارد که میکروسکوپ نوری قادر به نشان دادن آنها نیست. چون شپشک‌های ریشه از نظر خصوصیات ظاهری بسیار شبیه به همدیگر هستند برای کشف اطلاعات دقیق و شناسایی آنها ترکیب دو روش استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی و نوری ضرورت دارد.

قدرت تفکیک میکروسکوپ الکترونی روبشی زیاد و بسته به نوع نمونه، حدود ۳ تا ۱۰۰ نانومتر است (شکل های ۴ و B و ۵A) در حالی که قدرت تفکیک میکروسکوپ های نوری معمولی بسیار محدود و حدود ۲۰۰ نانومتر است (شکل ۲B).

منابع

۱. کریمی، ح. ۱۳۸۱. میکروسکوپ الکترونی: اصول کار میکروسکوپ‌های الکترونی و تکنیک‌های تهیهی مقاطع برای میکروسکوپ‌های الکترونی. جهاد دانشگاهی واحد آذربایجان شرقی. ۱۹۴ صفحه.
۲. غلامی مهفر، ف. ۱۳۸۹. مطالعه‌ی ریخت‌شناسی ماده‌های بالغ و سیست‌های دو گونه شپشک ریشه از جنس *Porphyrophora* Brandt, 1833 (Hem.: Margarodidae) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی و نوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، کرمانشاه، ایران، ۹۱ ص.
۳. واحدی، ح. ع. ۱۳۷۰. مرفولوژی و بیواکولوژی شپشک غول‌آسای ریشه‌ی گندم، *Porphyrophora tritici* (Hom.: Margarodidae) (Bod.) در استان کرمانشاه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، صص ۸۲.
۴. واحدی، ح. ع. و حجت، ح. ۱۳۷۴. نکاتی درباره‌ی مرفولوژی و بیواکولوژی شپشک ریشه‌ی گندم در کرمانشاه. مجله‌ی علمی کشاورزی، ۱۸ (۲۰۱): ۷۰-۵۷.
5. Abdul-Rassoul, M. S. and Aziz, F. I. 2001. New record of ground pearls, *Porphyrophora tritici* (Bod.) (Homoptera: Margarodidae) as a pest of wheat in Iraq. Bulletin Iraq Natural History Museum, 9(3):85-87.
6. Cardon, D. 2000. Du verme cremexe au veluto chremesino: une filier'e v'entienne du cramoisi au XVe si'ecle. In Mol'a, L., Mueller, R.C., Zanier, C., Eds., La Seta in Italia dal medioevo al Seicento, Fondazione Giorgio Cini, Venezia, pp. 63-73.
7. Cardon, D. 2003. Le Monde des Teintures Naturelles. Belin, Paris. 586 pp.
8. Duran, M. 1971. Investigations on ground pearls *Margarodes* (*Porphyrophora*) *tritici* (Bodenheimer), a grain pest in Central Anatolia. Plant Protection Bulletin, Ankara, Supplement (1), 80 pp.
9. Eisenbeis, G., and Wichard, W. 1987. Atlas on the biology of soil arthropods - Part III: Preparation techniques for scanning electron microscopy. Springer-Verlag. 410pp; (in German, translated to English).

10. Foldi, I. 2001. A world list of extant and fossil species of Margarodidae *sensu lato* (Hemiptera, Coccoidea). Nouvelle Revue d'Entomologie (N.S.), 3 (18):195-231.
11. Hodgson, C. J., and Henderson R.C. 2000. The Coccidae (Insecta: Hemiptera: Coccoidea). Fauna of New Zealand, 41: 1-264.
12. Jakubski, A. W. 1965. A critical revision of the families Margarodidae and Termitococcidae (Hemiptera, Coccoidea). British Museum (Natural History). 187 pp. Miller, R. H. 1992. Insect pests of wheat and barley of Mediterranean Africa and West Asia. Al Awamia, 77: 3-20.
13. Morrison, H. 1928. A classification of the higher groups and genera of the coccid family Margarodidae. United States Department of Agriculture Technical Bulletin, 52: 239pp.
14. Vahedi, H. A. 1999. The biology of *Porphyrophora tritici* (Hemiptera: Coccoidea: Margarodidae) and the effect of some farming practices on its populations in Kermanshah, Iran. Entomologica Annali di Entomologia Generale ed Applicata pubblicati dall'Istituto di Entomologia Agraria dall'Universita di Bari, 33: 357-363.
15. Vahedi, H. A. 2002. A revision of the genus *Porphyrophora* (Hemiptera: Coccoidea: Margarodidae) with particular reference to the Middle East and with a discussion of the relationships of the hypogaecic margarodids. Ph.D. thesis, Imperial College at Wye, University of London.
16. Vahedi, H. A., and Gholami, F. 2010. Scanning electron microscope observations on the multilocular disc-pores of adult female *Porphyrophora tritici* (Bodenheimer) & *P. Cynodontis* Archangelskaia, (Hemiptera: Sternorrhyncha: Margarodidae). Entomologica Hellenica Journal, 19: 76-81.
17. Vahedi, H. A., and Hodgson, C. J. 2007. Some species of the hypogeal scale insect *Porphyrophora* Brandt (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea: Margarodidae) from Europe, the Middle East and North Africa. Systematics and Biodiversity, 5: 23-122.
18. Vahedi, H. A., and Hodgson, C. J. 2012. Illustrated monograph of scale insects: Hypogaecic Margarodids and a discussion on their phylogenetic relationship. Lambert Academic publishing, 331pp.
19. Williams, D. J., and Watson G. W. 1990. The Scale insects of the tropical south pacific region- Part III: The Soft Scales (Coccidae) and other Families. Wallingford, England: CAB. International Institute of Entomology. 264pp.