بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم کشاورزی

گروه گیاه‌پزشکی

(گرایش حشره شناسی)

عنوان

شناسایی مولکولی سوسک‌های پوست‌خوار (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) در استان گیلان

از:

سودابه امینی

استاد راهنما:

دکتر رضا حسینی

استاد مشاور:

دکتر محمد مهدی سوهانی

مهر ۹۱

تقدیم به آنان که وجودم برایشان همه رنج بود و وجودشان برایم همه مهر. توانشان رفت تا به توانایی برسم. آنان که فروغ نگاهشان، گرمی کلامشان سرمایه جاویدان زندگی من است.

اسطوره های زندگیم، پناه خستگی ام و امید بودنم

پدر و مادر عزیزم

سپاس بی کران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیمان ساخت.

گذراندن مراحل اجرایی و تدوین این پایان نامه پس از الطاف الهی مدیون راهنمایی و همفکری بزرگوارانی است که بی تردید بدون همراهی آنان طی این طریق با مشکلات فراوانی همراه بود، لذا بر خود لازم می دانم مراتب سپاس خود را به کلیه کسانی که در مراحل مختلف این پژوهش مرا یاری نمودند، اعلام دارم.

بدین وسیله از خانواده عزیزم که همواره مشوق راه دانشم بوده اند و در تمام دوران زندگیم یار و همراه من بوده اند، سپاسگزارم.

از استاد فرزانه، جناب آقای دکتر رضا حسینی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند، نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

از جناب آقای دکتر محمد مهدی سوهانی که مسولیت مشاوره این پایان نامه را بر عهده داشتند بسیار سپاسگزارم.

از جناب آقایان دکتر اکبر خداپرست و دکتر جلیل حاجی زاده که با کمال لطف، زحمت باز خوانی و داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند.

از نماینده تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر مهرداد محمدی سپاسگزارم.

از تمامی دوستان عزیزم به ویژه خانم هانگرس معماری زاده، محبوبه شریفی، ریحانه درسویی و آقای هادی شیخ نژاد که مرا در این راه یاری کردند، بسیار سپاسگزارم و همواره روزهایی سرشار از موفقیت و سربلندی را برایشان آرزومندم.

سودابه امینی

مهرماه ۱۳۹۱

عنوان.....صفحه

چکیده فارسی.....خ

چکیده انگلیسی.....د

مقدمه.....۲

فصل اول: کلیات و مرور منابع.....۵

۱-۱- سوسک‌های زیرخانواده Scolytinae و اهمیت اقتصادی آنها.....۵

۱-۲- بیولوژی سوسک‌های پوست‌خوار.....۵

۱-۲-۱- سیکل زندگی سوسک‌های پوست‌خوار.....۶

۱-۳- رده بندی.....۷

۱-۳-۱- شکل شناسی.....۸

۱-۳-۲ سر.....۸

۱-۳-۳- چشم ها.....۸

۱-۳-۴- شاخک.....۸

۱-۳-۵- قفس سینه.....۹

۱-۳-۶- بال ها.....۹

۱-۳-۷- شکم.....۱۰

۱-۳-۸- پاها.....۱۰

۱-۳-۹- دو شکلی جنسی.....۱۰

۱-۴- پراکنش جغرافیایی.....۱۲

۱-۵- معایب شناسایی گونه‌ها بر اساس خصوصیات مرفولوژیک.....۱۲

۱-۶-۱- نواحی ژنی مورد استفاده در مطالعات مولکولی ۱۴
۱-۷- DNA بارکدینگ ۱۴
۱-۷-۱- DNA میتوکندریایی و کاربرد آن ۱۶
۱-۷-۲- اهمیت DNA بارکدینگ و کاربرد آن ۱۸
۱-۷-۳- پرایمرهای عمومی مورد استفاده در DNA بارکدینگ ۲۰
۱-۷-۴- صحت شناسایی گونه‌ها بر اساس DNA بارکد ۲۱
۱-۸- شناسایی سوسک‌های پوست‌خوار با استفاده از روش‌های مولکولی ۲۲
فصل دوم: مواد و روش‌ها ۲۴
۲-۱- جمع آوری و شناسایی نمونه‌ها ۲۵
۲-۲- استخراج DNA ۲۶
۲-۲-۱- استخراج DNA به روش Chelex ۲۶
۲-۲-۲- استخراج DNA به روش فنل–کلروفرم ۲۷
۲-۲-۳- استخراج DNA با روش CTAB ۲۸
۲-۳- تعیین کمیت و کیفیت DNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و مقایسه روش های استخراجی ۲۹
۲-۴- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۲۹
۲-۵- الکتروفورز محصولات PCR ۳۱
۲-۶- تعیین توالی قطعات حاصل از تکثیر ۳۲
۲-۷- آنالیز داده‌های مولکولی ۳۲
۲-۷-۱- ویرایش داده‌های اولیه ۳۲
۲-۸- بافرها و محلول‌های مورد استفاده ۳۳

۲-۸-۱- ایدی‌تی‌ای ((EDTA (0.5M, PH 8.0)) ۳۳
۲-۸-۲- اتیدیوم بروماید ((Ethidium Bromide (10 mg/ml)) ۳۳
۲-۸-۳- بافر TAE 50 برابر ۳۳
۲-۸-۴- بافر TE ۱۰ برابر ۳۴
۲-۸-۵- بافر استخراج در روش CTAB ۳۴
۲-۸-۶- بافر استخراج فنل _کلروفرم ۳۴
۲-۸-۷- بافر فسفات ((Phosphate-buffered Saline (PBS)) ۳۵
فصل سوم: نتایج و بحث ۳۹
۳-۱- شناسایی مرفولوژیک گونه‌های سوسک‌های پوست‌خوار جمع‌آوری شده از استان گیلان ۴۰
۳-۱-۱- کلید شناسایی قبیله‌ها ۴۰
۳-۱-۱- قبیله Scolytini ۴۱
۳-۱-۱-۱- جنس *Scolytus* Geoffroy ۴۲
۳-۱-۱-۲- گونه *Scolytus rugulosus* [Muller, 1818] ۴۲
۳-۱-۱-۳- گونه *Scolytus pygmaeus* [Fabricius 1787] ۴۴
۳-۱-۱-۴- گونه *Scolytus ecksteini* [Butovitsch,1929] ۴۸
۳-۱-۲- قبیله Dryocoetini ۵۱
۳-۱-۲-۱- جنس *Taphrorychus* Eichhoff, 1878 ۵۱
۳-۱-۲-۲- گونه *Taphrorychus lenkoranus* [Reiter 1913] ۵۱
۳-۱-۳- قبیله Phloeotribini ۵۴
۳-۱-۳- ۱- جنس *Phloeotribus* Latreille,1796 ۵۴
۳-۱-۳-۲- گونه *Phloeotribus caucasicus* [Reitter 1891] ۵۴

۳-۱-۴- قبیله Cryphalini ۵۶
۳-۱-۴-۱- جنس *Hypothenemus* Westwood, 1834 ..... ۵۶
۳-۱-۴-۲- گونه *Hypothenemus eruditus* [Westwood 1836] ۵۶
۳-۱-۵- قبیله Hypoborini ۵۸
۳-۱-۵-۱- جنس *Hypoborus* Erichson, 1836 ..... ۵۸
۳-۱-۵-۲- گونه *Hypoborus ficus* [Erichson 1836] ۵۸
۳-۱-۶- قبیله Phloeosinini ۶۰
۳-۱-۶-۱- جنس *Phloeosinus* Chapuis, 1869 ..... ۶۰
۳-۱-۶-۲- گونه *Phloeosinus aubei* [Perris 1855] ۶۰
۳-۲- داده‌های مولکولی ۶۲
۳-۲-۱- تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر ۶۲
۳-۲-۲- بهینه سازی واکنش PCR ۶۲
۳-۲-۳- واکنش زنجیرهای پلیمراز (PCR) ناحیه ژنی سیتوکروم اکسیداز زیر واحد یک (COI) ۶۲
۳-۲-۴- توالی یابی ۶۳
۳-۲-۵- شناسایی مولکولی گونه های زیرخانواده Scolytinae با استفاده از توالی های به دست آمده در بانک ژن و سیستم بارکدینگ ۶۵
۳-۲-۶- تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی ۶۵
۳-۲-۶-۱- تعیین تعداد و نسبت نوکلئوتیدها و درصد بازهای A, C, T, G توالی‌های بدست آمده ۶۵
۳-۲-۶-۲- محاسبه دوتایی فواصل نوکلئوتیدی ۶۶
شکل ۳-۳۰- نمایش هیستوگرام توزیع فواصل نوکلئوتیدی بین و درون گونهای بر اساس مدل K_2 P در زیرخانواده Scolytinae ستونهای سمت چپ فواصل درون گونهای و ستونهای سمت راست فواصل بین گونهای را نشان میدهد. ۶۹

۳-۲-۶-۳- محاسبه فواصل نوکلئوتیدی بین جنسها ۶۸

۳-۲-۷- آنالیز تبارشناسی ۶۸

۳-۲-۷-۱-بازسازی درخت فیلوژنی با استفاده از توالیهای بدست آمده ۶۸

۳-۲-۷-۳- بازسازی درخت فیلوژنی با استفاده از توالیهای موجود در سیستم BOLD ۷۱

منابع ۸۰

ضمائم ۸۶

جدول ۳-۱- شماره های دسترسی توالیهای ثبت شده در NCBI..... ۶۴

جدول۳-۲- تعداد و نسبت نوکلئوتیدها و درصد AT و GC توالیهای بدست آمده..... ۶۶

جدول ۳-۳- مقایسه دوتایی نوکلئوتیدها در سوسکهای پوستخوارجمعآوری شده، خطای معیار در بالا و میزان تفاوتها در پایین ۸

جدول۳- ۴- فاصله نوکلئوتیدی با استفاده از روش K_2P بین جنسهای زیرخانواده Scolytinae ۶۸

جدول ۳-۵- گونه‌های استفاده شده در تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک و شماره دسترسی آنها در سیستم Bold..... ۷۴

شکل ۱- ۱- مشخصات مرفولوژیک سوسکهای پوستخوار (اقتباس از پففر،۱۹۹۵) ۱۱
شکل ۱-۲- ژن میتوکندری حیوانات (اقتباس از Cai et al., 2011) ۱۷
شکل ۲-۲- ورتکس ۳۶
شکل ۲-۱- بلوک حرارتی ۳۶
شکل ۲-۴- ترموسایکلر ۳۶
شکل ۲-۳- سانتریفیوژ ۳۶
شکل ۲-۶- ژل داک ۳۷
شکل ۲-۵- اسپکتروفتومتر ۳۷
شکل ۲-۷- الکتروفورز افقی و منبع الکتریسیته الکتروفورز ۳۷
شکل ۳-۱- شاخک در جنس *Scolytus* (اقتباس از پففر،۱۹۹۵) ۴۱
شکل ۳-۲- پا در جنس *Scolytus* (اقتباس از پففر،۱۹۹۵) ۴۱
شکل ۳-۳- سطح جانبی *Scolytus rugulosus* (شکل اصلی) ۴۳
شکل ۳-۴- سطح پشتی *Scolytus rugulosus* (شکل اصلی) ۴۳
شکل ۳-۵- سطح جانبی *Scolytus pygmaeus* جنس نر (شکل اصلی) ۴۵
شکل ۳-۶- سطح جانبی *Scolytus pygmaeus* جنس ماده (شکل اصلی) ۴۵
شکل ۳-۸-سطح پشتی *Scolytus pygmaeus* جنس ماده ۴۶
شکل ۳-۷-سطح پشتی *Scolytus pygmaeus* جنس نر ۴۶
شکل ۳-۱۰- بندهای شکمی *Scolytus pygmaeus* در جنس ماده ۴۶
شکل ۳-۹- بندهای شکمی *Scolytus pygmaeus* در جنس نر ۴۶
شکل ۳-۱۲- سطح شکمی *Scolytus pygmaeus* جنس ماده ۴۷
شکل۳-۱۱- سطح شکمی *Scolytus pygmaeus* جنس نر ۴۷

شکل ۳-۱۳- سطح جانبی *Scolytus ecksteini* (شکل اصلی) ۴۹
شکل ۳-۱۴- سطح پشتی *Scolytus ecksteini* (شکل اصلی) ۴۹
شکل ۳-۱۶- سطح پشتی *Scolytus ecksteini* ۵۰
شکل۳-۱۵- نمای سطح زیری بندهای شکمی*Scolytus ecksteini* ۵۰
شکل۳-۱۷- سطح جانبی شکم *Scolytus ecksteini* ۵۰
شکل ۳-۱۸- سطح جانبی شکم *Scolytus ecksteini* ۵۰
شکل ۳-۱۹- سطح جانبی *Taphrorychus lenkoranus* جنس ماده (شکل اصلی) ۵۳
شکل۳-۲۰- سطح جانبی *Taphrorychus lenkoranus* ۵۳
شکل ۳-۲۱-سطح جانبی *Phloeotribus caucasicus* (شکل اصلی) ۵۵
شکل ۳-۲۲- سطح پشتی *Phloeotribus caucasicus* (شکل اصلی) ۵۵
شکل ۳-۲۳-سطح جانبی *Hypothenemus eruditus*(شکل اصلی) ۵۷
شکل ۳-۲۴- سطح پشتی Hypothenemus eruditus (شکل اصلی) ۵۷
شکل ۳-۲۵-سطح جانبی *Hypoborus ficus* (شکل اصلی) ۵۹
شکل ۳-۲۶- سطح پشتی *Hypoborus ficus* (شکل اصلی) ۵۹
شکل ۳-۲۷- سطح جانبی *Pholeosinus aubei* (شکل اصلی) ۶۱
شکل ۳-۲۸ - سطح پشتی *Phloeosinus aubei* (شکل اصلی) ۶۱
شکل ۳-۲۹- الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمراز تکثیر شده از قطعه ای از ناحیه ژن mt DNA ۶۲
شکل ۳-۳۰- نمایش هیستوگرام توزیع فواصل نوکلئوتیدی بین و درون گونهای بر اساس مدل K2 P ۶۹
شکل ۳-۳۱- درخت فیلوژنتیک بر اساس روش Neighbour Joining و مدل K2 P با ۱۰۰۰ تکرار بوت استرپ ۶۹
شکل ۳-۳۲- درخت فیلوژنی بر اساس روش Maximum parsimony با ۱۰۰۰ تکرار بوت استرپ ۷۱
شکل ۳-۳۳- تبارنمای گونه‌های زیرخانواده Scolytinae با روش Neighbour Joining و مدل K2 P با ۱۰۰۰ تکرار بوت استرپ ۷۳

۵-۱- نتایج بلاست توالی‌های گونه ها با نمونه های موجود در بانک ژن ۸۷
۵-۱-۱- *Scolytus rugulosus* ۸۷
۵-۱-۲- *Scolytus ecksteini* ۸۷
۵-۱-۳- *Scolytus pygmaeus* ۸۸
۵-۱-۴- *Taphrorychus lenkoranus* ۸۸
۵-۱-۵- *Phloeosinus aubei* ۸۹
۵-۱-۶- *Phoeotribus caucasicus* ۸۹
۵-۱-۷- *Hypotheemus eriditus* ۹۰
۵-۱-۸- *Hypoborus ficus* ۹۱
۵-۲- اطلاعات مربوط به توالیهای ثبت شده در بانک ژن ۹۲
۵-۲-۱- *Taphrorychus lenkoranus* (UG-Rasht T1) ۹۲
۵-۲-۲- *Taphrorychus lenkoranus* (UG-Rasht Z5) ۹۴
۵-۲-۳- *Taphrorychus lenkoranus*(UG-Rasht N2) ۹۶
۵-۲-۴- *Taphrorychus lenkoranus*(UG-Rasht z4) ۹۸
۵-۲-۵- *Hypothenemus eruditus*(UG-Rasht F5) ۱۰۰
۵-۲-۶- *Phloeotribus caucasicus* (UG-Rasht F7) ۱۰۲
۵-۲-۷- *Taphrorychus lenkoranus*(UG-Rasht X5) ۱۰۴
۵-۲-۸- *Scolytus rugulosus* (UG-Rasht S1) ۱۰۶
۵-۲-۹- *Scolytus rugulosus* (UG-Rasht F10) ۱۰۸
۵-۲-۱۰- *Scolytus rugulosus*(UG-Rasht F11) ۱۱۰
۵-۲-۱۱- *Scolytus rugulosus* (UG-Rasht Z3) ۱۱۲

۵-۲-۱۲-*Scolytus pygmaeus* (UG-Rasht F6) ۱۱۴
۵-۲-۱۳- *Scolytus pygmaeus* (UG-Rasht F8) ۱۱۶
۵-۲-۱۴- *Scolytus pygmaeus* (UG-Rasht Y5) ۱۱۸
۵-۲-۱۵-*Hypothenemus eruditus* (UG-Rasht N4) ۱۲۰
۵-۲-۱۶-*Scolytus ecksteini* (UG-Rasht F12) ۱۲۲
۵-۲-۱۷- *Scolytus rugulosus* (UG-Rasht F9) ۱۲۴
۵-۲-۱۸-*Hypothenemus eruditus*(UG-Rasht N3) ۱۲۶
۵-۲-۱۹- *Phloeosinus aubei* (UG-Rasht C2) ۱۲۸
۵-۲-۲۰- *Scolytus ecksteini* (UG-Rasht D9) ۱۳۰
۵-۲-۲۱- *Scolytus ecksteini* (UG-Rasht Q3) ۱۳۲
۵-۲-۲۲- *Hypoborus ficus* (UG-Rasht H1) ۱۳۴
۵-۲-۲۳-*Scolytus ecksteini* (UG-Rasht Z1) ۱۳۶
۵-۲-۲۴- *Scolytus ecksteini* (UG-Rasht F4) ۱۳۸

چکیده

شناسایی مولکولی سوسک‌های پوست‌خوار (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) در استان گیلان

سودابه امینی

سوسک‌های پوست‌خوار در زیرخانواده Scolytinae (Coleoptera: Curculionidae) قرار دارند و شامل ۶۰۰۰ گونه در سراسر جهان هستند. این سوسک‌ها باعث خسارت اقتصادی به درختان میوه و جنگلی می‌شوند و از مهم‌ترین آفات در مناطق جنگلی به حساب می‌آیند. سوسک‌های پوست‌خوار به‌طور عمده به درختان ضعیف و در حال زوال حمله می کنند. از آنجا که شناسایی سوسک های پوست‌خوار بر اساس خصوصیات مرفولوژیک آن‌ها امری دشوار است در این مطالعه ازروش DNA بارکدینگ برای شناسایی گونه‌های سوسک‌های پوست‌خوار استان گیلان استفاده شد. بدین منظور نمونه-برداری‌های مکرر در بهار و تابستان سال ۱۳۹۰ از مناطق مختلف جنگلی استان گیلان به عمل آمد و پس از جمع‌آوری نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. بر این اساس ۸ گونه سوسک پوست‌خوار *Scolytus rugulosus*[Muller, 1818], *Scolytus pygmaeus*[Fabricius 1787], *Scolytus ecksteini* [Butovitsch,1929], *Phloeosinus aubei* [Perris 1855], *Phloeotribus caucasicus* [Reitter 1891], *Hypothenemus eruditus* [Westwood 1836], *Hypoborus ficus* [Erichson 1836], *Taphrorychus lenkoranus*[Reiter 1913] به عنوان گونه‌های این منطقه شناسایی شدند. سپس به منظور شناسایی مولکولی شپشک‌ها و اختصاص بارکد منحصر به فرد به هر گونه، یک توالی ۶۹۰ جفت بازی از ژن سیتوکروم اکسیداز زیرواحد یک (COI) با استفاده از جفت پرایمر C-1-J-1718 و A2411 تکثیر و توالی‌یابی شد و توالی‌های بدست‌آمده در بانک ژن ثبت گردید. مقایسه قسمت‌های تکثیر شده این ژن ما را قادر به شناسایی گونه‌های مذکور نمود. نتایج مطالعه حاضر ثابت کرد که DNA بارکدینگ ابزاری قابل اعتماد برای شناسایی سوسک‌های پوست‌خوار است.

واژه‌های کلیدی: سیتوکروم اکسیداز زیرواحد یک، DNA بارکدینگ، سوسک‌های پوست‌خوار

Abstract

Molecular identification of bark beetle species (Coleoptera:Curculionidae:Scolytinae) in Guilan province

Sudabe Amini

Bark beetles in the subfamily of Scolytinae (Coleoptera: Curculionidae) comprise 6000 species worldwide. These beetles are the most important pests in the forest, cause economic damage to fruit trees and other hosts in the forest .Bark beetles mainly attack to weaken hosts. Since the bark beetles identification based on morphological characters is difficult, in this study a DNA-based method barcoding were used to identify bark beetles in Guilan Province. Sampling was done several times during spring and summer in 2011-2012 in different regions of province . All collected samples were examined and identified. The list of Eight identified species is included: *Scolytus rugulosus* [Muller, 1818], *Scolytus pygmaeus*[Fabricius 1787], *Scolytus ecksteini* [Butovitsch,1929], *Phloeosinus aubei* [Perris 1855], *Phloeotribus caucasicus* [Reitter 1891], *Hypothenemus eruditus* [Westwood 1836], *Hypoborus ficus* [Erichson 1836],*Taphrorychus lenkoranus* [Reiter 1913]. A 690-bp fragment of mitochondrial COI was amplified and sequenced using the primer set S1718 and A2411 for molecular identification and giving a unique barcode to each species. The sequences were submitted to Gene bank (NCBI). We were able to identify species by comparison of the amplified fragment sequences. The result proved DNA barcoding is a reliable tool to identify bark beetles.

Key words: Bark beetle, Cytochrome oxidase I, DNA barcoding

مقدمه

مقدمه

سوسک‌های پوست‌خوار از جمله مهم‌ترین آفات درختان میوه و جنگلی هستند و از مهمترین مشکلات مناطق جنگلی به شمار می‌روند [Wood, 1993]. سوسک‌های پوست‌خوار معمولاً به درختان ضعیف و در حال زوال حمله می-کنند و با تغذیه از آوند آبکش به دلیل ایجاد اختلال در جریان شیره نباتی سبب از بین رفتن درختان می‌شوند [Furniss and Carolin, 1997].

سوسک‌های پوست‌خوار در گذشته به عنوان خانواده Scolytidae شناخته می‌شدند اما در حال حاضر بر اساس طبقه‌بندی جدید درخانواده Curculionidae و زیرخانواده Scolytinae قرار دارند [Lawrence, 1982; Kuschel, 1992] این خانواده بزرگترین خانواده در راسته سخت بالپوشان شناخته شده است، که شامل بیش از ۸۰٪ سوسک‌های سرخرطومی، سوسک‌های پوست‌خوار و سوسک‌های چوبخوار است. تمامی آن‌ها گیاه خوارند و از تنوع زیستی بالایی برخوردار می‌باشند[Oberprieler *et al*., 2007] . سوسک‌های پوست‌خوار معمولاً دارای جثه کوچک، بدون خرطوم یا خرطوم تحلیل رفته هستند. این حشرات شامل تعداد زیادی از آفات مهم جنگلی بوده و اغلب آنها از آوند آبکش درخت تغذیه کرده و در زیر پوست درختان تخم‌گذاری می‌کنند و به نام سوسک های پوست‌خوار نامیده می‌شوند. گروه دیگری از سوسک‌های پوست‌خوار که به سوسک‌های آمبروزیا[1] معروفند ازقارچ‌های همزیست (*Ophiostoma-novo-ulmi*) که درون دالان ها پرورش داده‌اند تغذیه می‌کنند [Sauvard *et al*., 2010] این زیرخانواده دارای بیش از ۶۰۰۰ گونه متعلق به ۲۲۵ جنس درسراسر جهان است [Wood and Bright, 1992].

سوسک‌های پوست‌خوار حشراتی با جثه کوچک بوده و به رنگ‌های زرد، قهوه‌ای تا سیاه مات و ندرتاً براق دیده می‌شوند و بدن آنها غالبا از کرک‌های متراکم و یا موهای فلس مانند پوشیده شده است. فعالیت افراد این زیرخانواده معمولاً در قسمت‌های زیرپوست و آوندهای چوبی و آبکش درختان میزبان است. آنها با ایجاد تونل اصلی و دالان‌های منشعب شده از آن که به منظور تخم‌گذاری و فعالیت لاروها صورت می‌گیرد سبب اختلال در جریان شیره گیاهی شده و صدمات شدیدی به درختان میزبان وارد می‌آورند که در نهایت موجب ضعیف شدن و مرگ این درختان می‌گردند. دالان‌های حفر شده از شکل و وضعیت خاصی برخوردارند که فرم آنها در گونه‌های مختلف متفاوت بوده و در شناسایی آنها مورد استفاده قرار می‌گیرند [Pfeffer, 1995].

1- Ambrosia

تاکسونومیست‌ها با مشکلات زیادی در رابطه با طبقه‌بندی، کشف گونه‌های هم جنس، گونه‌های مخفی و گونه‌ها با روابط نزدیک مواجه هستند. شناسایی این گونه‌ها تنها بر اساس خصوصیات ظاهری و قابل مشاهده از جمله شکل، اندازه، رنگ، و مقایسه آن‌ها باگونه‌های شناخته شده قبلی صورت می‌گیرد. ویژگی‌های مرفولوژیک در دو گونه مختلف یک جنس ممکن است بسیار شبیه به یکدیگر بوده و دو گونه به عنوان یک گونه طبقه بندی شوند و یا افراد یک گونه که از لحاظ مرفولوژیک با هم متفاوتند در دو گونه جدا قرار گیرند. هبرت و همکاران در سال ۲۰۰۳ بیان داشتند هر تاکسونومیست قادر به شناسایی ۱۵۰۰-۱۰۰۰ گونه متفاوت بوده و با توجه به اینکه حدود ۱۵-۱۰ میلیون گونه (به استثنا باکتری‌ها و مرجان‌ها) روی زمین وجود دارند، تاکسونومیست‌ها تنها قادر به شناسایی و طبقه بندی ۱/۷ میلیون گونه خواهند بود. همچنین گاهی لازم است شناسایی بر اساس بخشی از یک موجود زنده صورت گیرد که فاقد ویژگی های مرفولوژیک کافی برای شناسایی است و از طرف دیگر شناسایی مرفولوژیک تنها بر اساس خصوصیات حشره بالغ صورت می‌گیرد. چنین مشکلاتی در طبقه‌بندی و کشف گونه‌های جدید، نیازمند توسعه یک روش سریع و قابل اطمینان جهت شناسایی دقیق این گونه‌ها است. شناسایی مولکولی گونه‌ها به طور گسترده‌تری در مطالعات اکولوژیکی و تشخیصی، به ویژه در رابطه با حشراتی که شناسایی مرفولوژیکی آنها سخت و وقت‌گیر است در حال توسعه است [Saccaggi *et al*., 2008] . از جمله تکنیک‌های مورد استفاده در شناسایی مولکولی حشرات، DNA بارکدینگ است. DNA بارکد یک قطعه کوتاه استاندارد متشکل از ۶۴۸ bp از انتهایَ ۵ ژن سیتوکروم اکسیداز زیرواحد یک، DNA میتوکندری است و برای مدت طولانی بدون تغییر مانده و در طول نسل انتقال می‌یابد. این تکنیک اولین بار توسط هبرت در سال ۲۰۰۳ معرفی شد و پس از آن به عنوان یک نشانگر جهانی در تحقیقات مختلف مورد استفاده قرار گرفت [Hebert *et al*., 2003] .

به دلیل اهمیت اقتصادی سوسک‌های پوست‌خوار ، شناسایی دقیق آن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است از این رو، در دنیا مطالعات زیادی بر روی این زیر خانواده انجام شده است. اما از آنجایی که شناسایی این آفات بر اساس اطلاعات مرفولوژیک و بیولوژیک امری وقت‌گیر و دشوار است،این مطالعه برای اولین‌بار در ایران جهت جمع‌آوری و شناسایی این حشرات با روش DNA بارکد انجام شد.

کلیات و مرور منابع