بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم کشاورزی

گروه گیاهپزشکی

(گرایش حشره شناسی)

عنوان:

شناسایی مولکولی گونه‌های غالب شپشک‌های سپردار (Hemiptera: Diaspididae) مرکبات در شرق استان گیلان

از:

محبوبه عبداللهی بروجنی

استاد راهنما:

دکتر رضا حسینی

استادان مشاور:

دکتر جلیل حاجی‌زاده

مهندس معصومه مقدم

بهمن ۱۳۹۰

تقدیم به

روح پاک پدر عزیزم

و

مهربان ترین فرشته هستی، مادرم

به نام داناترین

سپاس بی کرانه یگانه خالقم راکه مرا به رفیع ترین روشنایی ها هدایت کرد و راهم را به نور همیشه فروزان دانش روشن ساخت. بر خود واجب می دانم تا از زحمات همه عزیزانی که بدون تردید حمایت ها و مساعدت هایشان در انجام این پایان نامه، سهمی بس مهم و ارزشمند داشته است تشکر و قدردانی نمایم.

تحست از خانواده عزیزم که در همه مراحل زندگی از حمایت های بی دریغشان بهره مند شدم قدردانی می کنم.

از استاد راهنمای بزرگوار و گرانقدرم جناب آقای دکتر رضا حسینی که همواره از راهنمایی های ارزنده و حمایتهای بی دریغشان بهره مند بوده ام، صمیمانه سپاسگزارم.

از اساتید مشاور گرامی، جناب آقای دکتر جلیل حاجی زاده و سرکار خانم مهندس معصومه مقدم به خاطر راهنمایی های علمی شان کمال تشکر را دارم.

از داوران ارجمند، جناب آقای دکتر سید اکبر خدا پرست و جناب آقای دکتر محمد مهدی سوهانی، که زحمت داوری و باز خوانی این پایان نامه را بر عهده داشتند و نظرات ارزنده ای در هر چه بهتر شدن آن ارائه نموده اند، کمال سپاسگزاری را دارم. همچنین از نماینده محترم تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر زکی زاده سپاس گزارم.

از سایر اساتید گرانقدر گروه گیاهپزشکی، جناب آقای دکتر احد صحرا گرد، دکتر جلال جلالی سندی و دکتر محمد قدمیاری، که افتخار شاگردی شان را داشتم قدردانی می نمایم.

از زحمات ارزنده دوست بسیار عزیزم سرکار خانم آمنه جمال امیدی که در تمامی مراحل انجام آزمایش همراه اینجانب بودند، صمیمانه تشکر و قدر دانی می نمایم.

از دوستان و هم کلاسی های خوبم به ویژه خانم ها سیده معصومه فتوک کیایی، نسرین بلوچ شهریاری، سوده داوودی و روح انگیز قنبری نژاد صمیمانه سپاسگزارم و آرزومند بهترین ها در زندگی برایشان هستم.

محبوبه عبداللهی بروجنی

زمستان ۱۳۹۰

چکیده فارسی ..... خ
چکیده انگلیسی ..... د
مقدمه ۱
فصل اول: کلیات و مرور منابع ۴
۱-۱- موقعیت جغرافیایی استان گیلان ۵
۱-۲- اهمیت شپشکها در خسارت به مرکبات ۵
۱-۳- رده بندی ۶
۱-۴- ویژگی‌های شکل شناسی ۶
۱-۴-۱- چشم ها ۸
۱-۴-۲- شاخک ۸
۱-۴-۳- روزنه های تنفسی ۸
۱-۴-۴- پیژیدیوم ۸
۱-۴-۵- مخر ج ۱۰
۱-۴-۶- ژنیتالیا ۱۱
۱-۵- معایب شناسایی گونه ها بر اساس خصوصیات مورفولوژیک ۱۳
۱- ۶- روشهای مختلف مولکولی مورد استفاده در شناسایی حشرات ۱۳
۱-۷- نواحی ژنی مورد استفاده در مطالعات مولکولی ۱۵
۱-۸- DNA میتوکندریایی و کاربرد آن ۱۵
۱-۸-۱- ناحیه ی ژنی COI از DNA میتوکندریایی ۱۶
۱-۸-۲- DNA بارکدینگ ۱۷
۱-۸-۳- اهمیت DNA بارکدینگ ۱۹
۱-۹- پرایمرهای عمومی مورد استفاده در DNA بارکدینگ ۲۱
۱-۱۰- شناسایی شپشک ها با استفاده از روشهای مولکولی ۲۲
۱-۱۱- توالی یابی ۲۴
۱-۱۱-۱- واکنش توالی یابی ۲۴
۱-۱۱-۲- جداسازی مولکولها در توالی یابی ۲۵

۱-۱۱-۳- رد یابی روی یک توالی یاب اتوماتیک ۲۵
فصل دوم: مواد و روش‌ها ۲۷
۲-۱- جمع آوری و نگهداری نمونه ها ۲۸
۲-۲- تهیه ی اسلاید ۲۸
۲-۳- شناسایی نمونه ها ۲۹
۲-۴- استخراج DNA ۳۰
۲-۴-۱- استخراج DNA به روش فنل- کلروفرم ۳۱
۲-۴-۲- استخراج DNA با روش CTAB ۳۲
۲-۴-۳- استخراج DNA به روش سیلیکا ۳۳
۲-۴-۴- استخراج DNA به روش Chelex ۳۴
۲-۵- تعیین کمیت و کیفیت DNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و مقایسه روشهای استخراجی ۳۴
۲-۶- تکثیر بخشی از ژن COI با استفاده از PCR ۳۵
۲-۷- الکتروفورز محصولات PCR ۳۶
۲-۸- تعیین توالی قطعات حاصل از تکثیرPCR ۳۸
۲-۹- بافرها و محلولهای مورد استفاده ۳۹
۲-۹-۱- حمام اسید- الکل ۳۹
۲-۹-۲- محلول رنگی اسید فوشین ۳۹
۲-۹-۳- ای دی تی ای(EDTA (0.5 M, pH 8.0)) ۳۹
۲-۹-۴- اتیدیوم بروماید (Ethidium Bromide (10 mg/ml)) ۳۹
۲-۹-۵- بافر 50 TAE برابر ۴۰
۲-۹-۶- بافر 10 TE برابر ۴۰
۲-۹-۷- بافر SDS 10% ۴۰
۲-۹-۸- بافر استخراج در روش CTAB ۴۰
۲-۹-۹- بافر استخراج فنل- کلروفرم ۴۱
۲-۹-۱۰- بافر استخراج سیلیکا ۴۱
۲-۹-۱۱- بافر شستشوی سیلیکا ۴۱
۲-۹-۱۲- اتانول شستشو ۴۲
فصل سوم: نتایج و بحث ۴۳
۳-۱- شناسایی مورفولوژیک شپشکهای جمع آوری شده ۴۴

۳-۱-۱- شپشک سپردار زرد مرکبات ۴۴
۳-۱-۲- شپشک سپردار قهوه‌ای مرکبات ۴۸
۳-۱-۳- سپردار الفی مرکبات ۵۶
۳-۱-۴- سپردار بنفش مرکبات ۶۰
۳-۲- نتایج مطالعات مولکولی ۶۴
۳-۲-۱- تعیین کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ۶۴
۳-۲-۲- واکنش زنجیره ای پلیمرازPCR قطعه ای از ناحیه ژنی COI mtDNA ۶۴
۳-۲-۳- تعیین توالی ناحیه ژنی COI mtDNA ۶۶
۳-۲-۴- آنالیز تبارشناسی ۶۷
۳-۲-۵- رسم درخت فیلوژنی ۶۸
۳-۲-۶- محاسبه دوتایی فواصل نوکلئوتیدی ۶۹
۳-۲-۷- رسم درخت فیلوژنی با استفاده از توالی های بانک ژن ۷۰
۳-۲-۸- محاسبه فواصل نوکلئوتیدی بین گونه ها، جنس‌ها و قبیله‌ها در خانواده Diaspididae ۷۴
پیشنهادات ۸۰
منابع ۸۱
ضمائم ۸۸

جدول ۲-۱- تاریخ و محل جمع آوری نمونه‌های شپشک‌های سپردار درختان مرکبات..... ۳۰
جدول۳- ۱- نام شپشک های سپردار، تعداد جفت باز و شماره دسترسی توالی‌های شپشک‌های ثبت شده در بانک ژنNCBI..... ۶۷
جدول ۳-۲- محاسبه میزان نوکلئوتیدها در شپشک‌های جمع آوری شده..... ۶۸
جدول۳- ۳- مقایسه دوتایی نوکلئوتیدها در شپشک‌های جمع آوری شده..... ۷۰
جدول۳- ۴- شماره دسترسی توالی‌های گونه‌های گرفته شده از بانک ژن..... ۷۳
جدول۳-۵- میانگین فواصل نوکلئوتیدی بین گونه‌ای (درون جنس‌ها)..... ۷۴
جدول ۳-۶- میانگین فواصل نوکلئوتیدی بین جنس ها..... ۷۵
جدول ۳-۷- میانگین فواصل نوکئوتیدی بین قبیله‌ای..... ۷۵

شکل ۱–۱ویژگی‌های کلی شپشک ماده بالغ..... ۱۲
شکل ۱ –۲ ویژگی‌های حاشیه پیژیدیوم. ۱۳
شکل ۱-۳ آغازگرهای مورد استفاده در تکثیر ژن سیتوکروم اکسیدازI. ۲۲
شکل ۲- ۱- بلوک حرارتی (تصویر اصلی)..... ۳۷
شکل۲- ۲- اسپکتروفتومتر (تصویر اصلی). ۳۷
شکل۲- ۳ - ترموسایکلر (تصویر اصلی)... ..... ۳۷
شکل۲- ۴- ژل داک (تصویر اصلی). ۳۷
شکل۲- ۵ - دستگاه الکتروفورزافقی و منبع الکتریسیته (تصویر اصلی) ۳۸
شکل۳-۱ - ویژگی‌های حاشیه پیژیدیوم*Aonidiella citrina* ۴۶
شکل۳-۲- *Aonidiella citrina*. ۴۷
شکل۳-۳ – ویژگی‌های شکل شناسی*Chryomphalus dictyospermi*. ۵۰
شکل ۳-۴- *Chrysomphalus dictyospermi*..... ۵۱
شکل ۳-۵- ویژگی‌های شکل‌شناسی*Lepidosaphes gloverii*. ۵۴
شکل۳-۶- *Lepidosaphes gloverii* ۵۵
شکل ۳-۷- ویژگی‌های شکل‌شناسی *Lepidosaphes beckii*.. ..... ۵۸
شکل۳-۸- *Lepidosaphes beckii*. ۵۹
شکل۳- ۹- ویژگی‌های شکل‌شناسی *Parlatoria pergandii* ۶۲
شکل۳-۱۰- *Parlatoria pergandii*.... ..... ۶۳
شکل ۳-۱۱- الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر شده از قطعه‌ای از ناحیه ژنی mtDNA COI..... ۶۵
شکل۳-۱۲- درخت فیلوژنی براساس روش Neighbour joining و مدل K_2P.. ..... ۶۹
شکل۳-۱۳- درخت فیلوژنی بر اساس روش Maximum parsimony.. ..... ۶۹
شکل ۳-۱۴- درخت فیلوژنی بر اساس روش Neighbour joining و مدل k_2P. ۷۲

چکیده

شناسایی مولکولی گونه‌های غالب شپشک‌های سپردار(Hemiptera: Diaspididae) مرکبات درشرق استان گیلان

محبوبه عبداللهی بروجنی

شناسایی شپشک‌های سپردار به صورت سنتی بوسیله اختلافات مورفولوژیکی حشرات ماده بالغ صورت می‌گیرد. از این رو شناسایی نمونه‌های نابالغ، صدمه‌دیده و جنس نر امری بسیار مشکل بوده و کنترل این آفات دچار مشکل خواهد شد. در این مطالعه از روش DNA بارکدینگ برای شناسایی گونه های غالب شپشک‌های سپردار یافت شده در شرق استان گیلان استفاده شد. بدین منظور، نمونه برداری-های مکرر در بهار و تابستان سال ۱۳۸۹ از باغات آلوده مرکبات در شرق استان گیلان به عمل آمد. و پس از جمع‌آوری برگ های آلوده به شپشک و انتقال به آزمایشگاه؛ از آن‌ها اسلایدهای میکروسکوپی تهیه گردید و با استفاده از کلیدهای شناسایی مربوطه، شناسایی مورفولوژیکی انجام شد. بر این اساس، پنج گونه شپشک سپردار شامل *Aonidiella citrina*، *Lepidosaphes beckii*، *Lepidosaphes gloverii*، *Parlatoria pergandii* و *Chrysomphalus dictyospermi* گونه‌های غالب در این منطقه هستند. سپس به منظور شناسایی مولکولی شپشک‌ها و اختصاص یک بارکد منحصر به فرد به هر گونه، یک توالی ۶۴۹ جفت بازی از ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز زیرواحد یک (COI) با استفاده از جفت پرایمر Pcof1 و LepR1 تکثیرو توالی‌یابی شد و توالی‌ها 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 شپشک‌های سپردار است.

واژه‌های کلیدی: سیتوکروم اکسیداز **ا**، DNA بارکدینگ، شپشک‌های سپردار ، مرکبات

bstract

Molecular identification of dominant armored cales(Hemiptera:Diaspididae) on citrus in the east of Guilan province

Mahboobeh Abdollahi Borujeni

Armored scale insects are traditionally identified based on adult females morphological characters. Hence identification of immature stages, damaged specimens and males are difficult. This hampers controlling of these pests. Here we present DNA Barcoding approach to identify dominant armored scale species found in east of Guilan province. During spring and summer of 2010, dominant species of armored scale insects were collected from infected leaves of citrus plants in eastern part of Guilan Province, the microscopic slides were prepared and the samples were identify using appropriate identification keys. The list of identified species is as follow: *Aonidiella citrina, Parlatoria pergandii, Lepidosaphes beckii, Lepidosaphes gloverii* and *Chrysomphalus dictyospermi.*So, a 649-bp segment of mitochondrial COI was amplified and sequensed using the primer set Pcof1 and LepR1 to molecular identification and giving a unique barcode to each species. The sequences was submitted in genebank. We were able to identify species by comparison of the amplified fragment sequences. Our results proved DNA Barcoding is a reliable tool to identify armored scale insects.

Key words: Armored scale insects, Citrus, Cytochrome oxidase I, DNA barcodining

مقدمه

مقدمه

میوه مرکبات محصول پر ارزشی است که توسعه کشت و تهیه انواع مرغوب آن اهمیت زیادی دارد. در حال حاضر مناطق وسیعی از زمین های کشاورزی در شمال و جنوب کشور زیر کشت درختان مرکبات قرار دارد که بالا بودن میزان بارندگی و رطوبت نسبی در شمال کشور، محیط مساعدی برای آفات به وجود آورده است؛ تا جایی که به عقیده برخی از محققین شرایط شمال کشور برای آفات مرکبات، مناسب تر از درخت مرکبات است. به خصوص شپشک‌های گیاهی که شرایط معتدل و مرطوب را می پسندند [اسماعیلی، ۱۳۷۶].

شپشک‌های گیاهی توسط بسیاری از متخصصان در راسته‌ی Hemiptera، زیر راسته‌ی Sternorhyncha و بالا خانواده‌ی Coccoidea قرار می‌گیرند. شپشک‌های گیاهی از طریق قطعات دهانی زننده-مکنده از شیره‌ی نباتی تغذیه می-کنند و گونه‌های مختلف شپشک‌ها به تمام قسمت‌های گیاه از جمله برگ، میوه، شاخه، ساقه، تنه‌ی درخت و حتی ریشه‌ها صدمه می‌زنند؛ این حشرات دارای گستردگی جهانی به جز قطب شمال و جنوب می‌باشند. در حال حاضر شپشک‌های گیاهی دارای ۴۶ خانواده می‌باشند و بیش از ۷۳۰۰ گونه از بالا خانواده‌ی Coccoidea گزارش شده است [Miller and Ben- Dov, 2011]. به طور کلی شپشک‌های گیاهی علی رغم جثه‌ی کوچک، خسارات مهمی به اکوسیستم‌های کشاورزی وارد می‌کنند [مقدم، ۱۳۸۸].

افراد خانواده‌ی Diaspididae معروف به شپشک‌های سپردار هستند. این خانواده، بزرگترین خانواده‌ی شپشک‌ها محسوب می‌شوند و شامل تعدادی از گونه‌های بسیار مهم از آفات است. شپشک‌های سپردار بعلت اندازه‌ی بسیار کوچک شان از اجزای پنهان اکوسیستم گیاهی می‌باشند و اغلب تا رویت علائم خسارت، حضور آن‌ها قابل مشاهده نیست [مقدم، ۱۳۸۲]. این خانواده دارای ۲۷۳۷ گونه متعلق به ۴۰۰ جنس در دنیا است [Miller and Ben- Dov, 2011]. اگر چه طبقه‌بندی‌های متعددی در مورد شپشک‌های سپردار موجود است، ولی همگی متفق القول در تقسیم آن‌ها به دو زیر خانواده‌ی Diaspidinae و Aspidiotinae هستند [Ferris, 1942].

شپشک‌های سپردار ماده، بسیار کوچک و با بدنی نرم هستند و در زیر یک سپر پوششی پنهان شده‌اند. سپر متشکل از مواد مومی ترشح شده توسط حشره است که در گونه‌های مختلف متفاوت بوده و معمولاً از بدن حشره در زیر آن جداست [Miller and Ben- Dov, 2011]. شپشک‌های سپردار، روی اندام‌های مختلف گیاهی دیده می‌شوند و تغذیه آنها از شیره نباتی همراه با عوارضی همچون زردی، نکروز، تغییر شکل اندام‌ها، ریزش میوه وبرگ‌ها و نیز خشکیدگی سرشاخه‌ها است و

در صورتی‌که تعداد آن‌ها زیاد باشد منجر به مرگ گیاه خواهد شد. این عوارض ناشی از تزریق بزاق حشره درون نسج گیاه و واکنش فیزیولوژیک گیاه میزبان است [اسماعیلی، ۱۳۷۶].

خسارت زیاد به محصولات کشاورزی توسط این حشره، لزوم شناسایی دقیق و کنترل آنها را توجیه می‌کند، اما روش-های شناسایی مورفولوژیکی سنتی، نیازمند دانش تخصصی و تهیه اسلاید است که فرایندی وقت‌گیر می باشد و از طرف دیگر اغلب کلیدهای شناسایی موجود بر خصوصیات حشرات ماده بالغ متکی هستند؛ بنابراین شناسایی حشرات نر و نابالغ با مشکل مواجه می‌شود. روش‌های تشخیص بر پایه توالی‌یابی DNA می‌تواند جایگزینی با کاربردی وسیع‌تر و سرعتی بالاتر بوده و همچنین ما را قادر به شناسایی نمونه‌های آسیب دیده، نابالغ و جنس نر می‌نماید [Rugman-Jones, 2009]. شناسایی دقیق و سریع این حشرات، به ویژه در اقدام‌های قرنطینه‌ای از اهمیت بالایی برخوردار است.

از جمله تکنیک‌های مورد استفاده در شناسایی حشرات، DNA بارکدینگ است. DNA بارکد متشکل از یک محدوده‌ی ۶۴۸ bp (۷۰۵-۵۸) از انتهای ′۵ ژن سیتوکروم اکسیدازI (COI) است. 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]. با توجه به اهمیت کنترل شپشک‌های سپردار در باغات مرکبات و بویژه در اقدامات قرنطینه‌ای، لزوم شناسایی این حشرات احساس می‌شود. بدین منظور بخش‌های مشخصی از ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز زیر واحد یک توالی‌یابی شده و برای شناسایی گونه‌های غالب شپشک‌های سپردارمرکبات در شرق استان گیلان مورد مقایسه قرار گرفت.

فصل اول

کلیات و مرور منابع

۱-۱- موقعیت جغرافیایی استان گیلان

استان گیلان با وسعتی حدود ۱۳۸۱۰/۵ کیلومتر مربع ، حدود ۰/۹ درصد مساحت کشور را داراست و دومین استان کوچک کشور محسوب می‌گردد. این استان در ۳۶ درجه و ۳۴ دقیقه تا ۳۸ درجه و ۲۷ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه تا ۵۰ درجه و ۳۴ دقیقه طول شرقی از نصف النهار قرار گرفته است. درازای آن از شمال باختری به جنوب خاوری ۲۳۵ کیلومتر و پهنای آن ، از ۲۵ تا ۱۰۵ کیلومتر تغییر می‌کند. این استان از شرق به استان مازندران، از غرب به استان اردبیل، از جنوب به استان‌های قزوین و زنجان محدود است و حد شمالی آن را دریای خزر در بر می‌گیرد [سایت جهاد کشاورزی استان گیلان، سال ۱۳۹۰].

۱-۲- اهمیت شپشک‌ها در خسارت به مرکبات

استان گیلان به دلیل شرایط ویژه اقلیمی از مناطق مستعد کشور درزمینه تولید محصولات کشاورزی است و تنوع گیاهان زراعی و باغی گواه بر این مطلب است. برنج، چای، فندق، مرکبات و زیتون از مهم‌ترین محصولات استان است [سایت جهاد کشاورزی استان گیلان، سال ۱۳۹۰].

در حال حاضر مناطق وسیعی از زمین‌های کشاورزی در شمال کشور زیر کشت درختان مرکبات قرار دارد که بالا بودن میزان بارندگی و رطوبت نسبی، محیط مساعدی برای آفات به وجود آورده است؛ تا جایی که به عقیده برخی از محققین شرایط شمال کشور برای آفات مرکبات، مناسب‌تر از درخت مرکبات است. به خصوص شپشک‌های نباتی که شرایط معتدل و مرطوب را می‌پسندند. شپشک‌های نباتی، فراوان‌ترین آفات در باغ مرکبات هستند که در این میان شپشک‌های سپردار از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. این حشرات روی اندام‌های مختلف گیاهی دیده می‌شوند و تغذیه‌ی آنها از شیره نباتی همراه با عوارضی همچون زردی، نکروز، تغییر شکل اندام‌ها، ریزش میوه وبرگ‌ها و نیز خشکیدگی سرشاخه‌ها می‌باشد. این عوارض ناشی از تزریق بزاق حشره درون نسج گیاه و عکس‌العمل فیزیولوژیک گیاه میزبان است [اسماعیلی، ۱۳۷۶].

۱-۳- رده بندی

شپشک‌های گیاهی در راسته‌ی Hemiptera، زیر راسته‌ی Sterrnorrhyncha و بالا خانواده‌ی Coccoidea قرار می‌گیرند. در حال حاضر شپشک‌های گیاهی دارای ۴۶ خانواده می‌باشند و بیش از ۷۳۰۰ گونه از بالا خانواده‌ی Coccoidea گزارش شده است[Miller and Ben-Dov , 2011] .

از میان شپشک‌های گیاهی، خانواده‌ی Diaspididae معروف به شپشک‌های سپردار هستند که اکثراً از آفات مهم کشاورزی محسوب می‌شوند. شپشک‌های سپردار بعلت اندازه‌ی بسیار کوچک‌شان از اجزای پنهان اکوسیستم گیاهی می-باشند و اغلب تا رویت علائم خسارت، حضور آن‌ها قابل مشاهده نیست [مقدم، ۱۳۸۲].

این خانواده دارای ۲۴۳۷ گونه متعلق به ۴۰۰ جنس در دنیا می‌باشد [Miller and Ben-Dov , 2011]. اگر چه طبقه-بندی‌های متعددی در مورد شپشک‌های سپردار موجود است، ولی همگی در تقسیم آن‌ها به دو زیرخانواده‌ی Diaspidinae و Aspidiotinae متفق القول هستند [Ferris, 1941].

۱-۴- ویژگی‌های شکل‌شناسی

ماده‌های بالغ شپشک‌های سپردار Diaspididae سپر مومی تولید می‌کنند که با پوسته‌ی پشتی پوره‌ی سن قبلی ترکیب می‌شود. همیشه دو سن پورگی در حشره‌ی ماده وجود دارد، اولین سن پورگی یا crawler ، تنها سن متحرک است. بعد از اولین پوست‌اندازی، سن دوم پورگی، پوسته‌ی پشتی سن اول را در پوشش خود جای می‌دهد. در طی پوست-اندازی پوسته شکمی در اطراف حاشیه‌ی جلویی بدن گسسته شده و سپس به سمت انتهای پشتی رانده می‌شود. حشره در سن دوم پورگی، بدون پا و شاخک بوده، در زیر پوسته‌ی مرحله‌ی اول باقی می‌ماند، خرطوم خود را وارد بافت گیاه میزبان کرده و با تغذیه از شیره‌ی گیاهی به رشد خود ادامه می‌دهد. در طول دوره‌ی رشد، معمولاً موم از روزنه‌ها و کانال‌های سطحی در اطراف و روی بدن ترشح می‌شود. این سپر قبل از اینکه حشره‌ی ماده برای مطالعات میکروسکوپی آماده گردد، باید برداشته شود [Ferris, 1941].

معمولا سه شکل کلی برای سپر وجود دارد. اگر چه موارد استثنا هم وجود دارد، اما معمولاً گونه‌های گرد (گلوله مانند)، یک سپر دایره‌ای با پوسته‌ی پورگی مرکزی یا کناری تولید می‌کنند. درگونه‌های کشیده‌تر یا بیضوی، سپرها کشیده یا بیضوی شده و پوسته‌ی پورگی در کنار یا در انتها قرار می‌گیرد. در بعضی از جنس‌ها، ماده‌ی بالغ به جای ترشح سپر پوششی، در میان پوسته‌ی پوره‌ی سن دوم باقی می‌ماند که این فرم‌ها به عنوان فرم‌های pupilarial شناخته می‌شوند. در این فرم به سختی می‌توان ماده‌های بالغ را برای مطالعه به طور سالم جداسازی کرد. سن دوم در این حشرات به شدت

اسکلروتیزه خواهد شد و ماده‌ی بالغ در میان پرده‌ی غشایی باقی می‌ماند. ماده‌های بالغ از پوسته‌ی سن دوم برای حفاظت از تخم‌ها استفاده می‌کنند؛ همان گونه که فرم های non-pupillarial از سپر حشره‌ی ماده کامل استفاده می‌کنند [Williams and Watson, 1988]. نرها در صورت وجود، دارای پنج سن رشدی هستند. سپر حشره‌ی نر همیشه کوچکتر از ماده‌هاست. بعد از اولین پوست اندازی، پوره‌ی سن دوم یک سپر مومی ترشح می‌کند که با پوسته‌ی سن اول ترکیب می‌شود. سن دوم پورگی، آخرین مرحله‌ی تغذیه است؛ پس از آن، حشره‌ی نر دو سن شفیرگی (پیش شفیرگی و شفیرگی) را پشت سر گذاشته و به عنوان حشره‌ی بالغ ظاهر می‌شود. حشره‌ی بالغ نر فاقد قطعات دهانی کارآمد است و معمولاً دارای یک جفت بال می‌باشد اما فرم‌های بدون بال هم شناخته شده است [Williams and Watson, 1988].

در حال حاضر، رده‌بندی شپشک‌های سپردار به طور عمده بر پایه‌ی خصوصیات ماده‌ی بالغ انجام می‌شود. تشخیص صحیح شپشک‌های سپردار نیز فقط از طریق تهیه‌ی اسلایدهای میکروسکوپی حشره‌ی ماده انجام می‌گیرد. به طور معمول، در یک نمونه‌ی شپشک آماده شده روی اسلاید ویژگی‌های اشاره شده در زیر قابل مشاهده است:

شکم حشرات به طور کلی متشکل از ۱۱ بند است، بند یازدهم شامل مخرج[1] ودر حشرات ماده، ژنیتالیا[2] بین بند ۸ و ۹ قرار دارد. اما در شکم شپشک‌های سپردار بندهای شکم تمایل زیادی برای ترکیب شدن با هم دارند. بیش از ۸ بند شکمی در این حشرات وجود ندارد. سر و قفسه سینه در هم ادغام شده و در بیشتر گونه‌ها نشانه‌ی کمی از بند بند شدن وجود دارد. اما در هر حال علائمی از بند بند شدن بین میان قفسه و پس قفسه‌سینه وجود دارد. سر و دو بند بعدی قفسه‌سینه به عنوان پروزوما[3] و پس قفسه‌سینه و بندهای عقبی؛ پست زوما[4] محسوب می‌شوند. ۴ بند انتهایی شکم در هم ادغام شده و پیژیدیوم را تشکیل می‌دهد. تعیین بندها به وسیله‌ی شمارش موهای حاشیه‌ای قابل انجام است. شمارش از موهایی که در زاویه‌ی جانبی لوب‌های میانی قرار دارند؛ آغاز شده و به سمت خارج ادامه می‌یابد. بندهای شکمی اول تا چهارم به عنوان بندهای آزاد شکمی و بندهای پنجم تا هشتم شکم در هم ادغام و پیژیدیوم تشکیل می‌دهند. [Williams and Watson, 1988](شکل۱-۱).

1- anus
2- genitalia
3- prosoma
4- postsoma

۱-۴-۱- چشم‌ها

چشم‌ها احتمالاً در ماده‌ی بالغ همه‌ی گونه‌ها وجود دارند. اگر چه اندازه آن‌ها بسیار کاهش یافته است و به ندرت در اسلایدهای میکروسکوپی قابل تشخیص هستند. ظاهر عادی چشم‌ها اغلب به صورت نقاط اسکلریته‌ی ساده‌ای دیده می‌شود اما گاهی به صورت خارهایی[1] تغییر شکل می‌یابند که به سمت جلو یا عقب متمایلند. چشم‌ها معمولاً در حاشیه‌ی جلویی یا دقیقاً در کنار قطعات دهانی قرار می‌گیرند [Ferris, 1941](شکل ۱-۱).

۱-۴-۲- شاخک

شاخک‌ها معمولا زائده‌هایی ساده با یک یا تعداد بیشتری مو هستند (شکل ۱-۱). گاهی نرم بوده و شاید خاصیت حسی داشته باشند. در حالت کلی، شاخک در قبیله‌ی Diaspidini از زیرخانواده‌ی Diaspidinae دارای ۲ یا تعداد بیشتری مو است. در حالیکه در قبیله‌ی Aspidiotini به ندرت بیش از یک مو دارند [Williams and Watson, 1988].

۱-۴-۳- روزنه‌های تنفسی

روزنه‌های تنفسی (اسپیراکل‌ها) به تعداد دو جفت روی بندهای میان قفسه‌ی سینه و پس قفسه‌ی سینه قرار دارند (شکل۱-۱). گاهی اوقات روزنه‌های دیسکی همراه با روزنه‌های تنفسی مشاهده می‌شود [Williams and Watson, 1988].

۱-۴-۴- پیژیدیوم

سپر پوششی اساساً از مواد مترشحه کانال‌های مختلف موجود روی پیژیدیوم و از مواد دفعی مخرج تشکیل می‌شود. چنانکه دیکسون [Dixon, 1951] مشخص کرده است، حاشیه‌ی پیژیدیوم سهم مهمی در شکل‌گیری سپر دارد؛ به طوری که در هنگام تشکیل سپر و در چرخیدن حشره به وسیله‌ی قطعات دهانی، به چرخش آن کمک می‌کند. آگاهی از خصوصیات پیژیدیوم برای مطالعه‌ی شپشک‌های سپردار حیاتی است. در نمونه‌هایی که درست رنگ آمیزی شده، ساختارهایی که با شدت بیشتری اسکلریته شده‌اند، بیشتر رنگ آمیزی می‌شوند [Ferris, 1941].

1- seta