دانشکده کشاورزی
بخش بیوتکنولوژی

پایان‌نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی
گرایش بیوتکنولوژی کشاورزی

بررسی تنوع ژنتیکی شته خالدار یونجه *Therioaphis trifolii* در مناطق مختلفی از ایران

اساتید راهنما:

دکتر حاجی‌محمد تکلّوزاده
دکتر اکبر حسینی پور

استاد مشاور:

دکتر علیمراد سرافرازی

مؤلف:

مریم تکلّوزاده

شهریور ۱۳۸۸

بسم الله الرَّحمن الرَّحيم

دانشکده کشاورزی
بخش بیوتکنولوژی

پایان‌نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی
گرایش بیوتکنولوژی کشاورزی

بررسی تنوع ژنتیکی شته خالدار یونجه *Therioaphis trifolii* در مناطق مختلفی از ایران

اساتید راهنما:

دکتر حاجی محمد تکلّوزاده
دکتر اکبر حسینی پور

استاد مشاور:

دکتر علیمراد سرافرازی

مؤلف:

مریم تکلّوزاده

شهریور ۱۳۸۸

این پایان‌نامه به عنوان یکی از شرایط احراز درجه کارشناسی ارشد به

بخش بیوتکنولوژی
دانشکده کشاورزی
دانشگاه شهید باهنر کرمان

تسلیم شده است و هیچ‌گونه مدرکی به عنوان فراغت از تحصیل دوره مزبور شناخته نمی‌شود.

دانشجو: مریم تکلّوزاده

استاد راهنما: دکتر حاجی محمّد تکلّوزاده

استاد راهنما: دکتر اکبر حسینی پور

استاد مشاور: دکتر علیمراد سرافرازی

داور: دکتر مهدیه اسدی

معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده: دکتر محمد حسن فولادی

حق چاپ محفوظ و مخصوص به دانشگاه شهید باهنر کرمان است.

تقدیم به:

بهترین‌های زندگیم،

پدر و مادر عزیزم:

که وجودم برایشان همه رنج بود و وجودشان برایم همه مهر، توانشان رفت تا به توانایی برسم و مویشان سپیدی گرفت تا رویم سپید بماند، آنانکه فروغ نگاهشان، گرمی کلامشان و روشنی رویشان سرمایه‌های جاودانی زندگی من است.

در برابر وجود گرامیشان زانوی ادب بر زمین می‌نهم و با دلی مالامال از عشق و محبت بر دست و پایشان بوسه می‌زنم.

همسر، یگانه خواهر و برادران عزیزم:

که خورشید وجودشان همواره روشنی بخش زندگیم بوده و می‌باشد.

و همه عزیزانی که دوستشان دارم و سربلندیشان آرزوی من است.

تشکر و قدردانی:

اساتید بزرگوارم،

نه فقط برای آنچه به نام دانش از شما آموختم و همه مهربانیهایتان که کریمانه بر من ایثار شد و تمام فضائلی که به نام انسانیت سرمشق امروز و فردای من خواهد بود،

بلکه به پاسداشت **نام مقدس استاد** و به پاس منزلت رفیع و بلندی که همواره در دلم داشته‌اید، سپاسگزارتان هستم.

چکیده:

شته خالدار یونجه با نام علمی *Therioaphis trifolii* Buckten از جمله آفات مهم یونجه می‌باشد. به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی این شته، نمونه‌برداری از مزارع یونجه ۱۰ استان کشور صورت گرفت. نمونه‌ها تا رسیدن به آزمایشگاه درون ازت مایع قرار گرفتند و سپس به فریزر $-80^{\circ}C$ منتقل شدند. استخراج DNA از نمونه‌های جمع‌آوری‌شده به روش دلاپورتا با اندکی تغییرات توسط کوماتسودا انجام و غلظت DNAهای به‌دست آمده به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و غلظت همه نمونه‌ها به‌میزان ۵۰ نانوگرم بر میکرولیتر یکسان شد. آزمون PCR بر روی این DNAها صورت گرفت. سپس الکترفورز بر روی ژل آگارز ۱٪ انجام گرفت. در آزمون RAPD-PCR از ۷ آغازگر تصادفی استفاده شد. در مجموع این آغازگرها در محدوده bp ۴۰۰۰-۲۰۰، ۸۸ باند دیده شد. سپس با استفاده از باندهای به‌دست آمده از تمامی آغازگرها، به‌وسیله روش UPGMA درخت فیلوژنی نمونه‌ها رسم گردید که شامل سه کلاستر بوده که کلاستر دوم خود شامل دو ساب کلاستر است. در آزمون rep-PCR از آغازگرهای BOX، ERIC و REP استفاده شد. درمجموع در محدوده bp ۳۵۰۰-۱۰۰، ۵۳ باند دیده شد. سپس درخت فیلوژنی مرکب از داده‌های سه آغازگر با روش ذکر شده رسم گردید که شامل یک کلاستر کلی بود و نمونه‌های منطقه خبر به‌صورت یک فرد مشاهده شد. در این پژوهش بین نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف از نظر ژنتیکی تفاوت وجود داشت اما ارتباطی بین این تفاوت و اختلاف ارتفاع از سطح دریا و طول و عرض جغرافیایی و موقعیت قرار گرفتن اراضی مشاهده نگردید.

کلمات کلیدی: تنوع ژنتیکی، شته خالدار یونجه، rep- PCR، RAPD- PCR

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول : مقدمه	۱
۱- یونجه	۲
۱- ۱- تاریخچه یونجه	۲
۱- ۲- گیاهشناسی یونجه	۲
۱- ۳- آفات مهم مزارع یونجه	۴
۱-۳-۱- سرخرطومی برگ یونجه *Hypera postica*	۴
۱-۳-۲- سرخرطومی های ریشه یونجه *Sitona sp.*	۴
۱-۳-۳- سوسک شاخک‌بلند ریشه یونجه *Plagionotus floralis*	۵
۱-۳-۴- سن گلخوار یونجه *Lygus rugulipennis*	۵
۱-۳-۵- سن سبز یونجه *Adelphocoris lineolatus*	۶
۱-۳-۶- زنبور بذرخوار یونجه *Eurytoma roddii*	۶
۱-۳-۷- شته‌های مهم مزارع یونجه	۶
۱-۳-۷-۱- شته لگومینوز یا شته سیاه یونجه *Aphis craccivora*	۸
۱-۳-۷-۲- شته نخود *Acyrthosiphon pisum*	۸
۱-۳-۷-۳- شته خالدار یونجه *Therioaphis trifolii*	۸
فصل دوم: مروری بر منابع	۱۰
۲- ۱- تاریخچه شته‌ها	۱۱
۲- ۲- فرم شته‌ها	۱۲
۲- ۳- عوامل مؤثر در ایجاد فرم‌ها	۱۴
۲- ۴- وجوه تمایز شته‌ها	۱۵
۲- ۵- مشخصات مهم و بارز مورفولوژیک شته‌ها	۱۶
۲- ۶- انتخاب گیاه میزبان	۱۶
۲- ۶-۱- نحوه استقرار بر روی میزبان	۱۷
۲- ۶-۲- شناسایی گیاه میزبان	۱۷
۲- ۶-۳- توزیع و پراکنش شته‌ها بین گیاهان میزبان و در سطح آن‌ها	۱۷
۲- ۷- کیفیت غذا	۱۸

۲- ۸- محل‌های تغذیه‌ای ۱۸
۲- ۹- کیفیت غذایی گیاه میزبان ۱۸
۲- ۱۰- پدیده چندشکلی ۱۹
۲- ۱۱- شته خالدار یونجه ۱۹
۲- ۱۱- ۱- شکل شناسی ۱۹
۲-۱۱- ۱- ۱- ماده‌های بی بال بکرزا ۱۹
۲-۱۱- ۱- ۲- ماده‌های بالدار بکرزا ۲۰
۲- ۱۱- ۲- مناطق انتشار ۲۰
۲- ۱۱- ۳- گیاهان میزبان و خسارت ۲۰
۲- ۱۱- ۴- زیست شناسی ۲۱
۲- ۱۲- آزمایشات ژنتیکی ۲۱
۲- ۱۳- نشانگرهای مولکولی ۲۲
۲- ۱۴- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR ۲۳
۲- ۱۴- ۱- مزایای PCR ۲۴
۲- ۱۵- کاربرد نشانگرهای ژنتیکی در حشره‌شناسی ۲۴
۲- ۱۶- سیستماتیک شته‌ها ۲۵
فصل سوم: مواد و روش‌ها ۳۰
۳-۱- نمونه برداری ۳۱
۳-۲- استخراج DNA ۳۱
۳-۳- تعیین غلظت DNA ۳۲
۳-۴- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR ۳۳
۳-۵- تهیه ژل آگارز و الکتروفورز محصولات ۳۳
۳-۶- الکتروفورز محصولات rep-PCR ۳۴
فصل چهارم: نتایج ۳۵
۴-۱- نتایج ۳۶
۴-۱-۱- مناطق انجام نمونه‌برداری ۳۶
۴-۱-۲- آزمون RAPD-PCR ۳۶
۴-۱-۳- آزمون rep-PCR ۳۶

۴-۲- بحث ۳۷
۴-۲-۱- آزمون RAPD-PCR ۳۷
۴-۲-۲- آزمون rep-PCR ۳۸
منابع ۴۱
منابع ۴۲
پیوست‌ها ۴۹
پیوست ۱ (جداول) ۵۰
پیوست ۲ (شکل‌ها) ۵۷
پیوست ۳ (واژه‌نامه) ۸۰

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول ۳-۱: اجزا و مقادیر لازم جهت تهیه یک لیتر بافر استخراج	۵۱
جدول ۳-۲: اجزا و مقادیر لازم جهت تهیه بافر TE	۵۱
جدول ۳-۳: آغازگرهای تصادفی استفاده شده در آزمون RAPD-PCR	۵۱
جدول ۳-۴: آغازگرهای استفاده شده در آزمون rep-PCR	۵۲
جدول ۳-۵: اجزا و مقادیر مورد نیاز جهت تهیه یک واکنش PCR با حجم ۱۰ میکرولیتر	۵۲
جدول ۳-۶: اجزا و مقادیر مورد نیاز جهت تهیه یک واکنش rep-PCR با حجم ۲۵ میکرولیتر	۵۳
جدول ۳-۷: برنامه واکنش جهت انجام آزمون RAPD-PCR	۵۳
جدول ۳-۸: برنامه واکنش جهت انجام آزمون rep-PCR با استفاده از آغازگر BOX	۵۴
جدول ۳-۹: برنامه واکنش جهت انجام آزمون rep-PCR با استفاده از آغازگر ERIC	۵۴
جدول ۳-۱۰: برنامه واکنش جهت انجام آزمون rep-PCR با استفاده از آغازگر REP	۵۴
جدول ۳- ۱۱: اجزا و مقادیر لازم جهت تهیه بافر TBE (1X)	۵۵
جدول ۴- ۱: مناطق انجام نمونه برداری	۵۵
جدول ۴-۲: تعداد آلل و محتوای اطلاعات چند شکلی برای ۱۵ ژنوتیپ شته خالدار یونجه	۵۶

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱: گیاه یونجه	۵۸
شکل ۱-۲: مزرعه یونجه	۵۸
شکل ۲-۱: شته خالدار یونجه *Therioaphis trifolii* سطح شکمی	۵۹
شکل ۲-۲: تجمع شته خالدار روی یونجه	۵۹
شکل ۲-۳: شمای شماتیک شته خالدار یونجه	۶۰
شکل ۲-۴: زرد شدن محل تغذیه شته خالدار یونجه	۶۱
شکل ۲-۵: مزرعه آلوده به شته خالدار یونجه	۶۱
شکل ۳-۱: شمای شماتیک نشانگر مولکولی Gene Ruler TM 1Kb DNA Ladder, Fermentas	۶۲
شکل ۳-۲: شمای شماتیک نشانگر مولکولی Gene Ruler DNA Ladder Mix, Fermentas	۶۲
شکل ٤-۱: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های کرمان، تکثیر شده با آغازگر A07 با دماهای اتصال آغازگر متفاوت	۶۳
شکل ۴-۲: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های کرمان، تکثیر شده با آغازگرهای A11 و CO4 با دماهای اتصال آغازگر متفاوت، ۷ چاهک اول آغازگر A11 و ۷ چاهک دوم آغازگر CO4	۶۳
شکل ۴-۳: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های کرمان، تکثیر شده با آغازگر BAM با دماهای اتصال آغازگر متفاوت	۶۴
شکل ۴-۴: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های کرمان، تکثیر شده با آغازگر X17 با دماهای اتصال آغازگر متفاوت	۶۴
شکل ۴-۵: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های جمع‌آوری شده، تکثیر شده با آغازگر A11 در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز	۶۵
شکل ۴-۶: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های جمع‌آوری شده، تکثیر شده با آغازگر A07 در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز	۶۶

شکل ۴-۷: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های جمع‌آوری شده، تکثیر شده با آغازگر A09 در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۶۷

شکل ۴-۸: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های جمع‌آوری شده، تکثیر شده با آغازگر X17 در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۶۸

شکل ۴-۹ : ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های جمع‌آوری شده، تکثیر شده با آغازگر X19 در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۶۹

شکل ۴-۱۰: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های جمع‌آوری شده، تکثیر شده با آغازگر BAM در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۷۰

شکل ۴-۱۱: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های جمع‌آوری شده، تکثیر شده با آغازگر CO4 در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۷۱

شکل ۴-۱۲: دندروگرام شته‌های *Therioaphis trifolii* جمع‌آوری شده از ۱۵ منطقه ایران بر اساس تجزیه و تحلیل نقوش حاصل از آغازگرهای RAPD در برنامه NTSYSpc2.0 با روش UPGMA ۷۲

شکل ۴-۱۳ : ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های جمع‌آوری شده، تکثیر شده با آغازگر BOX در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۷۳

شکل ۴-۱۴: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های جمع‌آوری شده، تکثیر شده با آغازگر ERIC در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۷۴

شکل ۴- ۱۵: ژل آگارز نشان‌دهنده الگوی تکثیری DNA استخراج شده از نمونه‌های جمع‌آوری شده، تکثیر شده با آغازگر REP در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۷۵

شکل ۴-۱۶: دندروگرام شته‌های *Therioaphis trifolii* جمع‌آوری شده از ۱۵ منطقه ایران بر اساس تجزیه و تحلیل نقوش حاصل از آغازگر BOX در برنامه NTSYSpc2.0 با روش UPGMA ۷۶

شکل ۴-۱۷: دندروگرام شته‌های *Therioaphis trifolii* جمع‌آوری شده از ۱۵ منطقه ایران بر اساس تجزیه و تحلیل نقوش حاصل از آغازگر ERIC در برنامه NTSYSpc2.0 با روش UPGMA ۷۷

شکل ۴-۱۸: دندروگرام شته‌های *Therioaphis trifolii* جمع‌آوری شده از ۱۵ منطقه ایران بر اساس تجزیه و تحلیل نقوش حاصل از آغازگرهای BOX، ERIC و REP در برنامه NTSYSpc2.0 با روش UPGMA ۷۸

فصل اول:

مقدمه

۱- یونجه :

۱-۱- تاریخچه یونجه:

یکی از محصولات اساسی و مهم‌ترین گیاه علوفه‌ای کشور یونجه *Medicago sativa* است. کشت این گیاه در ایران سابقه تاریخی داشته و بسیاری از محققین مبداء اولیه یونجه را کشور ایران می‌دانند. کریمی(۱۳۵۵) مبداء اصلی یونجه را خاور نزدیک مانند آسیای صغیر، قفقاز، ایران و مناطق کوهستانی ترکمنستان ذکر می‌کند. نقل شده است که در زمان مادها از این گیاه جهت تعلیف اسب‌ها استفاده می‌کردند و به علف مادها مشهور بوده است و احتمالاً نام Medicago از علف مادها (Herba media) اخذ شده باشد. هم‌چنین گفته می‌شود بعد از شکست خشایار شاه در سال ۴۷۹ قبل از میلاد و عقب‌نشینی ارتش مادها از سرزمین یونان، یونانی‌ها برای اولین بار مقداری یونجه به دست آوردند که برای تغذیه اسب‌ها استفاده می‌کردند. یونانی‌ها به این گیاه نام Media دادند که بعداً Medica و در علم گیاه‌شناسی به Medicago تبدیل شد.

۱-۲- گیاهشناسی یونجه:

یونجه گیاهی است چند ساله یا دائمی که ریشه‌ای راست و مستقیم دارد و به ریشه اولیه یونجه معروف است. این ریشه، بعد از قرار گرفتن بذر در خاک و جذب رطوبت، بدون انشعاب به وجود می‌آید. به موازات پیدایش ریشه اولیه، قسمت زیر لپه یا هیپوکوتیل در زیر سطح خاک قرار می‌گیرد و با طویل شدن زیر لپه باعث جوانه زدن و خارج شدن از سطح خاک می‌شود. یونجه جوانه زده در این موقع نسبت به آب بیش از اندازه، کمبود آب، شوری خاک و یا سله بستن سطح خاک، حساسیت خاصی نشان می‌دهد. وقتی‌که یونجه جوانه می‌زند، فقط دارای دو لپه یا کوتیلدون است که به صورت برگ‌های متورم به نظر می‌آیند. این لپه‌ها، بعد از مدتی از بین می‌روند و از مرکز آن اولین برگ با دمبرگ بلندی تولید می‌شود. این برگ اولیه، ساده و معمولاً قلبی شکل است و شباهتی با برگ‌های اصلی یونجه ندارد. بعد از گذشت مدتی، نخستین برگ مرکب سه برگچه‌ای یونجه به وجود می‌آید که به تدریج با ادامه رشد و نمو، سایر برگ‌های مرکب نیز تشکیل می‌شود. در شکل ۱-۱ گیاه یونجه و در شکل ۲-۱ مزرعه یونجه نشان داده شده است.

گیاه یونجه علاوه بر ریشه اصلی راست و مستقیم اولیه، ریشه‌های جانبی نیز دارد که از سلول‌های حاشیه استوانه مرکزی ریشه اصلی سرچشمه می‌گیرند. برخوردار بودن این گیاه از یک

سیستم ریشه قوی، عامل موفقیت آن در مقاومت به کلیه عوامل نامساعد و هم‌چنین استفاده از موادغذایی تحت‌الارض به شمار می‌آید. یک رابطه همزیستی بین ریشه گیاه یونجه و نژاد باکتری ریزوبیوم تثبیت کننده ازت هوا وجود دارد که بعد از گذشت چند هفته از رشد و نمو، این گیاه دیگر نیازی به ازت خاک نخواهد داشت. علاوه بر آن، ریشه عمیق و راست، این گیاه را قادر می‌سازد تا از رطوبت قابل جذب اعماق زمین استفاده کند (کریمی، ۱۳۷۶).

علوفه گیاه یونجه در بین نباتات علوفه‌ای از برتری‌های خاص برخوردار است، از لحاظ مواد غذایی از سایر لگومینوزهای علوفه‌ای غنی‌تر است مثلاً شبدر قرمز ۱۲ درصد و یونجه ۱۵/۳ درصد پروتئین دارد و از طرفی پروتئین یونجه قابلیت جذب بیشتری دارد. هم‌چنین یونجه به علت دارا بودن مواد معدنی و بیش از ده نوع ویتامین مخصوصاً ویتامین A و C اهمیت خاصی پیدا کرده است (کریمی، ۱۳۵۵). یونجه علاوه بر تولید علوفه بسیار خوب از نظر کمی وکیفی اثرات مثبت دیگری نیز دارد. این گیاه مشابه سایر گیاهان لگومینوز در افزایش و ذخیره ازت در خاک نقش مؤثری دارد. از طرفی ریشه‌های عمیق گیاه یونجه با نفوذ به اعماق خاک موجب نرم و قابل نفوذ شدن خاک زراعی شده و بعد از مرگ گیاه یونجه، این ریشه‌های عمیق پوسیده شده و مواد هوموسی و آلی زیادی در خاک به جای می‌گذارند. به‌طور متوسط یک هکتار یونجه در حدود ۶۵۰۰ تا ۸۵۰۰ کیلوگرم بقایا در خاک باقی می‌گذارد.

گیاه یونجه با سطحی بیش از ۶۱۶۰۰۰ هکتار و تولیدی حدود ۴۶۳۹۰۰۰ تن در کشور مهم‌ترین گیاه علوفه‌ای کشور محسوب می‌شود. در استان کرمان نیز بیش از ۴۶۰۰۰ هکتار از اراضی زراعی به کشت این محصول اختصاص داشته و سالیانه ۴۴۵۰۰۰ تن علوفه با ارزش تولید می‌شود (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۵). رقم یونجه بمی یکی از ارقام شناخته شده و پر محصول یونجه متعلق به استان کرمان است.

چند ساله بودن گیاه یونجه و سبز بودن آن در تمام سال مخصوصاً در مناطق گرمسیر و معتدل این امکان را فراهم ساخته است که مزارع یونجه فون غنی از بندپایان را در خود جای دهد. بعضی از این بندپایان موجوداتی هستند که در این مزارع فقط سکنی گزیده و عده‌ای دیگر موجوداتی هستند که به‌طور اتفاقی در مزارع یونجه دیده می‌شوند ولی عمدتاً آفات این محصول و دشمنان طبیعی آفات، فون اصلی بندپایان این مزارع را تشکیل می‌دهند.

حشرات مضر باعث توقف رشد، ریزش برگ، مرگ گیاهان و بالاخره کاهش کمیت و کیفیت علوفه و بذرها می‌شوند، آلودگی شدید در یک چین عملکرد چین‌های بعدی را نیز کاهش می‌دهد.

کنترل آفات یونجه مسئله پیچیده‌ای است مشتمل بر استفاده از سموم حشره‌کش، عوامل زیست شناختی و مقاومت گیاهان مقاوم. یک برنامه جامع کنترل شامل بهترین روش استفاده از هر سه مورد فوق است.

استفاده از مواد شیمیایی به علت وجود خطر برای سلامتی انسان و حیوان مستلزم دقت و احتیاط زیاد است. هم‌چنین ممکن است حشرات در برابر استفاده مداوم از یک ماده شیمیایی مقاوم شوند. در مورد یونجه، هنگامی که تعداد بسیار زیادی از آفات مشاهده شوند، مؤثرترین راه مبارزه استفاده از مواد شیمیایی است. هم‌چنین با مصرف سموم تعداد حشرات را می‌توان به نحوی کاهش داد تا عوامل زیست‌شناختی و مقاومت گیاهی بتوانند در کنترل آفت مؤثر واقع شوند. واریته‌های مقاوم مطمئن‌ترین نوع کنترل حشرات را فراهم می‌سازند. استفاده از مقاومت گیاهی در کنترل حشرات مسائل ناشی از استفاده سموم را، از جمله خسارتی که به انگل‌ها و حشرات شکارچی وارد می‌کند، تجمع باقی‌مانده مضر سموم در محیط و محصول کاهش می‌دهد.

مقاومت گیاه نسبت به حشرات می‌تواند نسبتاً دائمی باشد. در هر صورت، جوامع حشرات نیز مانند جوامع گیاهی انعطاف‌پذیر و پویا هستند. شرایط بسیار نامناسب و تنش در جامعه حشرات ممکن است منجر به انتخاب و یا ظهور و تکامل سویه‌ها و یا تیپ‌های زیستی جدید شود. در مورد شته خالدار یونجه تیپ‌های زیستی جدیدی که بعضی از آن‌ها قادر به حمله به واریته‌های مقاوم قبلی نیز هستند ظهور کرده‌اند (رضایی، ۱۳۷۲).

۱-۳- آفات مهم مزارع یونجه:

۱-۳-۱- سرخرطومی برگ یونجه *Hypera postica* (Col., Curculionidae)

در حال حاضر، سرخرطومی برگ یونجه، آفت درجه یک تمام مناطق یونجه‌کاری ایران است. این آفت در اکثر نقاطی که یونجه کشت می‌شود، محصول چین اول را از بین می‌برد. این حشره در مراحل مختلف لاروی و حشره کامل از برگ و ساقه یونجه تغذیه می‌کند ولی خسارت عمده آن به مرحله لاروی مربوط می‌شود. خسارت لاروهای سن یک و دو قابل توجه نیست بلکه خسارت اصلی را لاروهای سنین سوم و چهارم وارد می‌نمایند.

۱-۳-۲- سرخرطومی های ریشه یونجه *Sitona sp*. (Col., Curculionidae)

هر دو مرحله بالغ و لاروی سرخرطومی‌های ریشه از یونجه تغذیه می‌کنند. حشرات بالغ منحصراً از قسمت‌های هوایی به خصوص برگ‌های جوان تغذیه نموده و لاروها روی قسمت‌های

مختلف ریشه زندگی می‌کنند. گرچه میزان خسارت حشرات بالغ در نتیجه تغذیه از برگ با خسارتی که لاروها در دوره نشو و نمای نسبتاً طولانی خود بر روی ریشه وارد می‌آورند، قابل مقایسه نیست، ولی چنان‌چه این خسارت را با زیان سرخرطومی برگ یونجه مقایسه کنیم خواهیم دید که این حشرات نیز در دوره بلوغ با جمعیت زیادی که دارند به مقدار قابل ملاحظه‌ای به برگ‌های یونجه خسارت وارد می‌کنند.

۱-۳-۳- سوسک شاخک‌بلند ریشه یونجه

Plagionotus floralis **(Col., Cerambycidae)**

سوسک ریشه‌خوار اولین بار در بهار ۱۳۶۲ در مزارع یونجه دشت آجی‌چای تبریز مشاهده شده است.(اکبری نوشاد، ۱۳۷۲) این حشره عمدتاً زمستان را به صورت لارو کامل درون ریشه بوته‌های آلوده یونجه سپری می‌کند. لاروهای زمستان‌گذران سوسک ریشه‌خوار یونجه فاقد دیاپوز اجباری بوده و در طول فصل سرد نیز به تغذیه و رشد خود ادامه می‌دهند. سر لاروها در اواخر دوره رشد و پیش شفیره شدن به سمت بالا و به طرف طوقه گیاه قرار می‌گیرد. در اواسط بهار پس از رشد کامل لاروها، تغذیه آن‌ها متوقف شده، سپس تبدیل به شفیره می‌شوند. حشرات بالغ چند روزی درون ریشه باقی می‌مانند و سپس با سوراخ نمودن آن در ناحیه طوقه بوته به محیط بیرون از خاک راه می‌یابند.

۱-۳-۴- سن گلخوار یونجه *Lygus rugulipennis* **(Het., Miridae)**

این آفت بسیار پلی‌فاژ بوده و در روی اکثر گیاهان زراعی و مرتعی یافت می‌شود. به‌طوری که در یکصد خانواده گیاهی بیش از ۴۳۷ گونه میزبان شناخته شده دارد (هولوپاینن و واریس[1]، ۱۹۹۱) ، در ایران تا کنون از روی یونجه، اسپرس، آفتابگردان، سیب‌زمینی، لوبیا، سویا و چغندرقند جمع‌آوری و گزارش شده است (خانجانی، ۱۳۶۹).

تغذیه سن‌ها از اندام‌های زایشی گیاه سبب کاهش قوه نامیه، لاغری، کاهش وزن هزاردانه و ریزش تعداد قابل توجهی از غنچه و گل یونجه می‌شود. خسارت در مرحله گل به حدی است زیاد است که از مجموعه گل‌آذین فقط محور گل باقی می‌ماند. پوره‌ها و حشرات بالغ از مرحله قبل از گلدهی نیز تغذیه می‌کنند ولی خسارت آن‌ها در این مرحله اقتصادی نمی‌باشد.

---

۱ – Holopainen and Varis

۱-۳-۵- سن سبز یونجه *Adelphocoris lineolatus* (Het., Miridae)

این آفت انتشار جهانی دارد و تا کنون از شمال قفقاز، منطقه کیروف جنوب سیبری، قزاقستان، آسیای میانه، اروپای غربی، شمال آفریقا، افغانستان، چین، ژاپن، آمریکای شمالی، تمام مناطق پالئارکتیک، کریمیه، اوکراین، تا مدار ۶۲ درجه عرض شمالی، نیویورک و ویسیکانسین آمریکا، آلبرتا، ساسکاچون و مانتابای کانادا روی علف‌های هرز و هم‌چنین در سراسر ترکیه گزارش شده است. در ایران نیز در اکثر نقاط وجود دارد (صلواتیان، ۱۳۳۸؛ فرحبخش، ۱۳۴۰؛ مدرس اول، ۱۳۶۵؛ خرمالی، ۱۳۷۵ و خانجانی و کلافچی، ۱۳۸۲).

پوره‌ها و حشرات کامل سن سبز یونجه از غنچه، گل و قوزه پنبه، غنچه، گل و غلاف‌های سبز یونجه و سایر حبوبات تغذیه می‌کنند. تغذیه آن از گل سبب زرد شدن براکته‌های باز و ریزش اکثر غنچه‌ها و گل‌ها می‌شود و از مجموعه گل‌آذین فقط محور گل باقی می‌ماند. ریزش گل و غنچه به خاطر وجود آنزیم‌های پکتیناز و پلی‌گالاکتوزیناز در بزاق این حشره است که سبب تخریب دیواره سلولی و نهایتاً ریزش گل‌ها می‌شود.

۱-۳-۶- زنبور بذرخوار یونجه *Eurytoma roddii* (Hym., Eurytomidae)

گیاهان میزبان این حشره یونجه معمولی و وحشی می‌باشند. این حشره فقط در مزارع یونجه بذری ایجاد خسارت می‌کند. خسارت مربوط به مرحله لاروی است که از تمام محتویات بذر اعم از گیاهچه و لپه‌ها تغذیه می‌کند و در پایان فقط پوسته بذر باقی می‌ماند. بذور آلوده چروک خورده و تیره رنگ می‌شوند و به راحتی از بذور سالم قابل تشخیص هستند.

۱-۳-۷- شته‌های مهم مزارع یونجه:

شته‌ها گروهی از حشرات متعلق به راسته جوربالان هستند. حشرات این راسته دارای خصوصیات زیر می‌باشند:

۱- تمام بال‌های جلویی غشایی و نازک هستند، در حالی‌که در راسته ناجوربالان بخشی از بال‌های جلو سخت شده‌اند.

۲- هنگام استراحت، بال‌ها به شکل شیروانی تا می‌شوند.

۳- قطعه‌های دهان از نوع زننده-مکنده است.

این راسته به دو گروه تقسیم می‌شود: Sternorrhynque و Auchenorrhynque. گروه Sternorrhynque دارای زیر راسته Aphidinea می‌باشد که شامل خانواده‌های Pemphigidae، Phylloxeridae، Aphididae و Chermesidae می‌باشد. گونه‌های تمام این خانواده‌ها در فارسی