

بررسی تغییرات نقطه انجماد و تحمل به سرما در شفیره‌های دیاپوزی بید چغندر قند *Scrobipalpa ocellatella* (Lepidoptera: Gelechiidae)

فاطمه احمدی، سعید محرمی‌پور و اعظم میکانی

دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه حشره‌شناسی کشاورزی، تهران، صندوق پستی ۳۳۶-۱۴۱۱۵.

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیک: moharami@modares.ac.ir

چکیده

بید چغندر قند (*Scrobipalpa ocellatella* (Boyd)) یکی از آفات مهم آخر فصل چغندر قند می‌باشد که موجب کاهش کمی و کیفی محصول می‌شود. لاروهای این آفت عمدتاً از جوانه‌های مرکزی و سر ریشه‌های گیاه چغندر قند تغذیه می‌کنند. با برداشت چغندر قند در آبان ماه، لاروهای سن آخر موجود در سر ریشه‌ها وارد خاک شده و برای زمستان‌گذرانی به شفیره تبدیل می‌شوند. لاروهای سنین پایین‌تر در صورتی که زیستگاه مناسب و غذای کافی در اختیار داشته باشند، به تدریج با کامل شدن سنین لاروی به شفیره تبدیل می‌شوند. به منظور مطالعه توانایی زمستان‌گذرانی این حشره، شفیره‌ها به صورت ماهیانه از آبان ۱۳۹۴ تا فروردین ۱۳۹۵ جمع‌آوری شدند. تغییرات فصلی در شاخص‌های سرماسختی (نقطه انجماد و کمترین دمای کشنده) بید چغندر قند مورد مطالعه قرار گرفت. میانگین نقطه انجماد شفیره‌های بید چغندر قند جمع‌آوری شده از مزرعه بین $0.33 \pm 13/2$ تا $0.23 \pm 18/2$ - درجه سلسیوس در نوسان بود. حداکثر میزان تحمل شفیره‌ها در ماه‌های آبان، آذر و دی ماه و کمترین میزان تحمل در فروردین ماه مشاهده شد. میزان تحمل شفیره‌های دیاپوزی به طور معنی‌داری از شفیره‌های غیر دیاپوزی در دمای -10 ، -15 و -20 - درجه سلسیوس بالاتر بود. کمترین دمای کشنده برای ۵۰ درصد افراد از $13/9$ - درجه سلسیوس در آبان ماه به $5/5$ - درجه سلسیوس در فروردین ماه کاهش یافت. علی‌رغم این‌که نقطه انجماد شفیره‌های دیاپوزی در ماه‌های منتهی به اواخر زمستان و بهار از -15 - درجه سلسیوس فراتر نرفت، اما شفیره‌ها متناسب با نقطه انجماد نتوانستند دماهای زیر صفر را تحمل نمایند. با این وجود نتایج نشان می‌دهند که قدرت تحمل شفیره‌ها در مرحله دیاپوزی بیش از ظرفیت سرما و یخبندان محیط است و دماهای زیر صفر زمستان نمی‌تواند به عنوان عامل مهمی زنده‌مانی بید چغندر قند را تهدید نماید.

واژگان کلیدی: بید چغندر قند، *Scrobipalpa ocellatella*، نقطه انجماد، کمترین دمای کشنده، دیاپوز

Changes of supercooling point and cold tolerance in diapausing pupae of sugar beet moth, *Scrobipalpa ocellatella* (Lepidoptera; Gelechiidae)

Fatemeh Ahmadi, Saeid Moharramipour* & Azam Mikani

Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, P. O. Box 14115-336, Tehran, Iran.

*Corresponding author E-mail: moharami@modares.ac.ir

Abstract

Sugar beet moth (SBM) *Scrobipalpa ocellatella* (Boyd) is one of the important pests of sugar beet that causes quantitative and qualitative yield loss late in the season. Pest damage is occurred in the central buds and the root of the sugar beet plant. The last instar larvae enter the soil and pupate for overwintering at harvest time of sugar beet in Karaj, Iran in November. The younger larvae having suitable habitat and enough food for development may have chance to pupate in soil gradually whenever weather permit. In order to study the overwintering potential of the pest, pupae were collected monthly from November 2015 to April 2016. Seasonal changes in cold hardiness indices such as supercooling point and lower lethal temperature of the beet moth were studied. The mean supercooling points of field collected pupae varied from -13.2 ± 0.33 to -18.2 ± 0.23 °C. The highest cold hardiness of diapausing pupae was found in November, December and January, and the lowest in April. The cold hardiness of diapausing pupae was higher than that of nondiapausing pupae at -10 , -15 and -20 °C. Lethal temperature for 50% of population (LT_{50}) changed from -13.99 °C in November to -5.5 °C in April. In spite of the fact that the supercooling point of the diapause pupae did

not exceed -15°C in the late-winter and April, the pupae could not withstand temperatures below zero under a supercooling point. However, the findings show that the ability of pupae to tolerate in the diapause stage is more than the capacity of cold and frost environment, and therefore, temperatures below zero in winter cannot be considered as a significant risk for the survival of sugar beet moth.

Key words: sugar beet moth, *Scrobipalpa ocellatella*, supercooling point, lower lethal temperature, diapause

Received: 29 October 2017, Accepted: 9 December 2017

مقدمه

بید چغندر قند (*Scrobipalpa ocellatella* (Boyd) یکی از آفات اختصاصی و مهم آخر فصل مزارع چغندر قند به شمار می‌رود که تقریباً از تمام نواحی چغندرکاری ایران گزارش شده است (Kheyri *et al.*, 1980). نقشه پراکنندگی آفت نشان می‌دهد که این حشره در اروپا، شمال آفریقا، روسیه، خاورمیانه و برخی کشورهای آسیایی مانند عراق و سوریه گسترش دارد (CABI, 1967). در ایران وجود این آفت برای اولین بار توسط افشار در سال ۱۳۱۵ از کرج و ورامین گزارش شده است (Esmacili *et al.*, 1996). حشرات کامل در اوایل بهار ظاهر و پشت برگ‌ها تخم‌گذاری می‌کنند، تغذیه لاروهای تازه خارج شده موجب لوله شدن برگ‌ها می‌گردد. لاروهای سنین بالاتر با ایجاد دالان در دمبرگ، خود را به طوقه گیاه رسانده و با تغذیه از جوانه‌های مرکزی (طوقه) انتقال مواد غذایی به غده را مختل کرده، در نتیجه باعث خسارت کمی و کیفی به غده چغندر قند می‌شوند (Kheyri, 1991). مطالعات انجام شده در ایران نشان می‌دهد که این آفت در مناطق مختلف ۶-۳ نسل در سال دارد. با این حال مطالعات اندکی روی زیست‌شناسی این آفت انجام شده است (Kheyri *et al.*, 1980; Valich *et al.*, 2005; Timus & Croitoru, 2006; Al-keridis, 2016). پژوهشگران گزارش نموده‌اند که بید چغندر قند زمستان را به صورت لاروهای سنین مختلف و به خصوص سن آخر در چغندرهای بجا مانده در مزرعه سپری می‌نمایند. بر این اساس استراتژی تحمل به سرما در لاروهای زمستان‌گذران این آفت توسط Ganji & Moharrampour (2015) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری‌های آنان از لاروهای موجود در بوته‌های چغندر قند به جا مانده در طول پاییز و زمستان نشان داد که لاروهای زمستان‌گذران قادرند دماهای زیر صفر درجه سلسیوس را به خوبی تحمل کنند، اما اندازه‌گیری نقطه انجماد و ترکیبات ضدیخ وجود دیاپوز در لاروهای زمستان‌گذران را تایید نکرد.

لذا این سوال همواره مطرح بود که آیا این حشره واقعاً دیاپوز زمستانه دارد و اگر چنین است حشرات دیاپوزی زمستان را به چه شکل سپری می‌نمایند. در اکثر حشرات دیاپوز و سرماسختی (از طریق فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی) عوامل ضروری برای بقا در شرایط دمایی پایین‌تر از صفر درجه سلسیوس هستند (Denlinger, 1991; Denlinger, 2002; Bale, 1987). دیاپوز در واقع یک سازش اکوفیزیولوژیکی مورد استفاده توسط حشرات در برابر شرایط نامساعد و نوعی وقفه رشدی (Dormancy) است که نسبت به رکود (Quiescence) عمیق‌تر بوده و در اثر یک سری تغییرات هورمونی و فیزیولوژیکی در دوره‌ای خاص از زندگی حشره رخ می‌دهد. استراتژی سرماسختی در حشرات زمستان‌گذران عموماً به ۲ گروه تقسیم می‌شود: اجتناب از یخ‌زدگی و تحمل به یخ‌زدگی. حشرات متحمل به یخ‌زدگی تشکیل کریستال‌های یخ در خارج از سلول را تحمل می‌کنند در حالی که حشرات حساس به یخ‌زدگی برای گریز از این واقعه، از ساز و کارهای مختلفی برای بالابردن توانایی فوق سردشدن (Supercooling capacity) خود استفاده می‌کنند (Lee, 2010; Baust & Rojas, 1985; Zachariassen, 1985). راهکارهای سرماسختی در حشرات مختلف، متفاوت است و ممکن است از روی تغییر در شاخص‌هایی مانند نقطه انجماد یا حداقل دماهای کشنده (Lower lethal temperature (LLTs))

تعیین شوند (Leather *et al.*, 1993). نقطه انجماد دمایی است که در آن کریستال‌های یخ در بدن شکل می‌گیرند. (Lee, 1989, Denlinger & Lee, 2010)

متاسفانه مرحله دیاپوزی بید چغندرقد تاکنون مبهم مانده است و اطلاعات کافی در این مورد وجود ندارد. این در حالی است که با مشخص شدن مرحله دیاپوزی این آفت می‌توان اطلاعات با ارزشی در مورد زیست‌شناسی حشره به دست آورد و از آن جهت کنترل آفت بهره جست. این مطالعه به منظور بررسی وضعیت دیاپوز و استراتژی تحمل حشره به دماهای زیر صفر درجه سلسیوس انجام گرفته است. در زمان برداشت چغندرقد که بسته به شرایط منطقه در مهر یا آبان‌ماه انجام می‌شوند، سر ریشه‌های حاوی لاروهای بید چغندرقد در سطح مزارع به طور گسترده پراکنده می‌شوند. در طول فصل زمستان سرریشه‌های چغندرقد در اثر یخ زدگی و فساد از بین می‌روند و امکان استقرار لاروها در آن زیستگاه غیرممکن می‌گردد. مشاهدات انجام شده در طول زمستان نشان می‌دهد که بقایای به جا مانده در مزرعه فاقد لارو هستند. لذا این فرضیه وجود دارد که لاروهای کامل در داخل خاک به شفیره تبدیل شده و زمستان را به فرم دیاپوز سپری می‌نمایند. نتایج بررسی‌های انجام شده در رابطه با تاثیر دوره نوری و دماهای مختلف بر بید چغندرقد در شرایط آزمایشگاه نشان داد که این حشره زمستان را به صورت شفیره در خاک سپری می‌نماید. زیرا طول دوره شفیرگی در دوره نوری روز کوتاه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۱۸ درجه سلسیوس (مشابه شرایط پاییز) در مقایسه با شاهد به دو برابر ۱۸ درجه سلسیوس می‌رسد. این در حالی است که طول دوره لاروی در شرایط فوق تفاوت معنی‌داری نداشته است (Ahmadi *et al.*, 2017). بنابراین هدف از این پژوهش بررسی تغییرات نقطه انجماد و میزان تحمل شفیره‌های دیاپوزی بید چغندرقد در طول دوره پاییز و زمستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

داده‌های هواشناسی

جهت آگاهی از دمای مزرعه از اطلاعات نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی (ایستگاه هواشناسی کرج واقع در دانشکده کشاورزی پردیس دانشگاه تهران) به مختصات "35°48'23" شمالی و "50°57'14" شرقی و ارتفاع ۱۲۹۲/۹ متر از سطح دریا استفاده شد.

جمع‌آوری حشرات

شفیره‌های دیاپوزی (در اواخر آذر و اوایل دی ماه ۱۳۹۴) و شفیره‌های غیر دیاپوزی (در مردادماه ۱۳۹۵) از مزرعه‌ای در موسسه تحقیقات و تهیه بذر چغندرقد (ایستگاه تحقیقاتی مهندس سیدعبدالرسول مطهری) به مختصات "35° 50' 22.56" شمالی و "50° 51' 58.68" شرقی و به ارتفاع ۱۲۵۳ متر از سطح دریا واقع در کمال شهر کرج جمع‌آوری شد. از آن جایی که مزارع چغندرقد اواخر آبان برداشت می‌شوند، برای تهیه شفیره‌های دیاپوزی، سر ریشه‌های باقی مانده پس از برداشت در شرایط طبیعی نگهداری شد و در طول زمستان از آنها نمونه‌برداری شد.

اندازه‌گیری نقطه انجماد کل بدن

تعیین نقطه انجماد شفیره‌های جمع‌آوری شده از مزرعه (۲۰ عدد در هر ماه) از پاییز ۱۳۹۴ تا بهار ۱۳۹۵ به روش (Khani *et al.* (2007) انجام شد. برای اندازه‌گیری نقطه انجماد بدن، حسگر ثبت کننده دما

(Testo, model 177-T4, Germany) از جنس نیکل-کروم، در تماس با بدن شفییره قرار داده و در محل خود تثبیت شد و سپس به دستگاه سردکننده قابل برنامه‌ریزی (Binder MK53, Germany) منتقل شد. دمای این دستگاه طوری برنامه‌ریزی شده بود که از ۲۰ تا ۳۰- درجه سلسیوس با سرعت تقریبی ۰/۵ درجه سلسیوس در دقیقه به تدریج سرد شد و طی این مدت هر یک ثانیه دمای بدن حشره به وسیله نرم‌افزار Comsoft 4.0 ثبت گردید. نقطه‌ای که پس از آن، افزایش سریع دما به دلیل آزاد شدن گرمای درونی رخ می‌دهد به عنوان نقطه انجماد منظور گردید. سپس دستگاه به شکل معکوس دما را به ۲۵ درجه سلسیوس رساند و نمونه‌ها از آن خارج شدند. همچنین وضعیت زنده ماندن حشرات پس از اندازه‌گیری نقطه انجماد نیز مورد بررسی قرار گرفت.

اندازه‌گیری میزان سرماسختی

سرماسختی شفییره در دماهای ۱۰-، ۱۵- و ۲۰- درجه سلسیوس از پاییز ۱۳۹۴ تا بهار ۱۳۹۵ مورد آزمایش قرار گرفت. هر دما شامل ۳ تکرار و هر تکرار حاوی ۱۵ حشره در لوله‌های آزمایش ۱۵ میلی‌لیتری بود. شفییره‌ها داخل لوله‌های آزمایش به همراه دستمال کاغذی جهت جدا نگاه داشتن شفییره‌ها از یکدیگر، قرار داده شد. علاوه بر این، دستمال کاغذی جاذب رطوبت احتمالی سطح بدن شفییره‌ها است. آن‌گاه نمونه‌ها در داخل دستگاه سردکننده قابل برنامه‌ریزی گذاشته شدند. دمای دستگاه از ۲۵+ درجه سلسیوس تا هر یک از دماهای مذکور با سرعت ۰/۵ درجه سلسیوس بر دقیقه کاهش یافت. نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای مورد نظر نگه داشته شدند و سپس دمای دستگاه به ۲۵+ درجه سلسیوس رسانیده شد. لازم به ذکر است برای تعیین مرده و یا زنده بودن شفییره‌ها، آنها در انکوباتور در دمای 1 ± 25 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 60 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند و خروج حشرات کامل از شفییره‌ها ملاک زنده بودن در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از این آزمایش به منظور تعیین LT_{50} (Lethal temperature 50) مورد استفاده قرار گرفت.

تعیین دمای حداقل کشنده (LT_{50})

از داده‌های به دست آمده از آزمایش‌های تحمل شفییره‌ها به سرما (۲ ساعت سرما دهی) برای محاسبه دماهای پایین کشنده برای مرگ و میر ۵۰ درصد از جمعیت (LT_{50}) استفاده شد. مقادیر فوق به کمک مدل لجستیک (Binary Logistic)، محاسبه شد.

تجزیه آماری

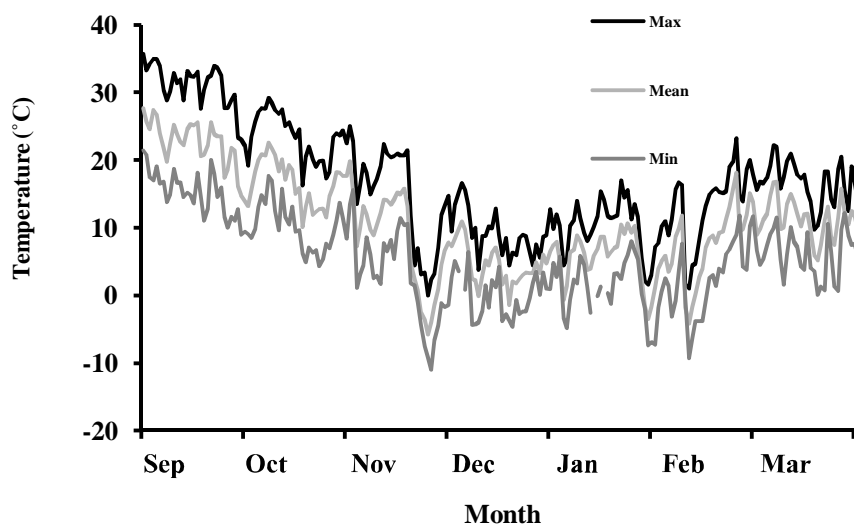
اطلاعات به دست آمده به صورت میانگین \pm خطای معیار گزارش شده است. برای نرمال کردن داده‌های درصد مرگ و میر از معادله $(X/100)^{0.5}$ Arcsine استفاده شد. برای مقایسه نقطه انجماد و درصد زنده‌مانی شفییره‌های دیپوزی با شفییره‌های غیر دیپوزی از آزمون t-test (Independent samples t-test) استفاده شد. برای مقایسه میانگین بیش از دو تیمار از تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد و در صورت معنی‌دار شدن مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. برای آنالیز تمام داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 18.0 (SPSS Inc., 2009) استفاده شد. براساس نتایج بدست آمده از اندازه‌گیری تحمل سرما در دماهای مورد مطالعه، مقادیر LT_{50} با استفاده از مدل Binary logistic و معادله $Y = \frac{e^{a+bx}}{1+e^{a+bx}}$ محاسبه

شدند. در این معادله، a عرض از مبدا (مقدار ثابت) و b شیب خط می‌باشد؛ X مقدار دما و Y درصد مرگ و میر را نشان می‌دهد (Saeidi *et al.*, 2012).

نتایج

داده‌های هواشناسی

میانگین دما در شهریور ماه ۱۳۹۴، حدود ۲۴ درجه سلسیوس بود. این دما در مهرماه به ۱۷/۷ درجه سلسیوس رسید و حداقل دمای مطلق در این دو ماه به ترتیب ۱۱ و ۴/۳ درجه سلسیوس ثبت شده است. در آبان ماه کاهش شدید دمای هوا (۹ درجه سلسیوس) مشاهده شد به طوری که میانگین دمای آبان ماه به ۱۲ درجه سلسیوس و حداقل مطلق دما نیز به حدود ۱/۱ درجه سلسیوس رسید. پس از آن حداقل مطلق دما در آذر و دی به ترتیب به ۷/۶- و ۴/۷- درجه سلسیوس رسید. میانگین دمای بهمن ماه برابر با ۵ درجه سلسیوس و حداقل دمای مطلق آن به ۷/۴- درجه سلسیوس رسید. پس از آن تا اسفند ماه افزایش دمای هوا روی داد و میانگین دمای هوا و حداقل دمای مطلق دما به ترتیب به ۱۱/۵ و ۲/۸ درجه سلسیوس رسید (شکل ۱).



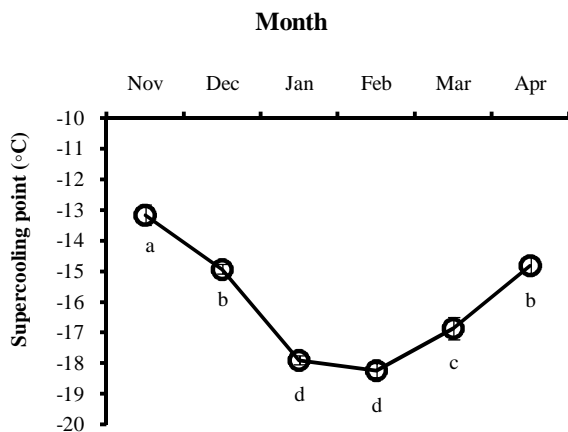
شکل ۱- تغییرات حداقل، میانگین و حداکثر دمای روزانه در نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی به محل نمونه‌برداری از شهریور تا اسفند سال ۱۳۹۴.

Fig. 1. Changes in minimum, mean and maximum air temperature at the nearest weather station to collection site from September 2015 to March 2016.

نقطه انجماد بدن شفیره‌ها

نقطه انجماد کل بدن شفیره‌ها طی ماه‌های پاییز و زمستان ۱۳۹۴ اختلاف معنی‌دار آماری از خود نشان داد ($F=57/2$, $df=5$, 89 , $P<0/005$). به طور کلی نقطه انجماد از آبان تا دی ماه روند کاهشی داشت و پس از آن تا فروردین ماه تدریجاً افزایش یافت (شکل ۲). پایین‌ترین نقطه انجماد مشاهده شده مربوط به شفیره‌های بهمن‌ماه (۱۸/۲- درجه سلسیوس) و بالاترین آن مربوط به آبان‌ماه (۱۳/۲- درجه سلسیوس) بود. در تمام تاریخ‌های نمونه‌برداری پایین‌ترین نقطه انجماد به نمونه‌ای از بهمن‌ماه (۱۹/۵- درجه سلسیوس) تعلق داشت.

میانگین نقطه انجماد شفیره‌های دیاپوزی که در اواخر آذر و اوایل دی‌ماه جمع‌آوری شده بودند به طور معنی‌داری از میانگین نقطه انجماد شفیره‌های غیردیاپوزی که در مردادماه جمع‌آوری شده بودند، پایین‌تر بود (شکل ۳).

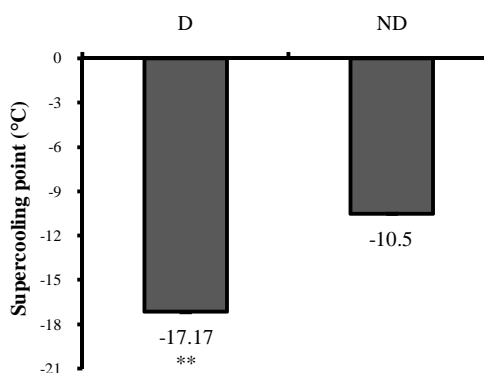


شکل ۲- تغییرات میانگین نقطه انجماد در شفیره‌های بید چغندرقد، ($Mean \pm SE$) جمع‌آوری شده در ماه‌های آبان ۱۳۹۴ تا فروردین ۱۳۹۵. میانگین‌های با حروف مشترک بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Fig. 2. Mean supercooling point ($Mean \pm SE$) fluctuations in pupae of *Scrobipalpa ocellatella* collected from November 2015 to April 2016. Means followed by the same letters are not significantly different (Tukey's test, $P < 0.05$).

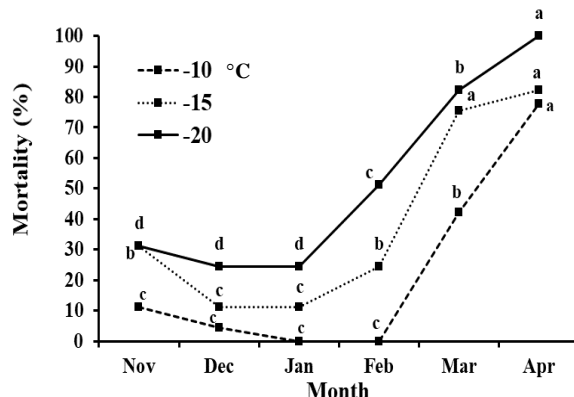
شکل ۳- تغییرات میانگین نقطه انجماد شفیره‌های دیاپوزی (اواخر آذرماه ۱۳۹۴) و غیردیاپوزی (مردادماه ۱۳۹۵) بید چغندرقد، *Scrobipalpa ocellatella*. علامت ** بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد بر اساس آزمون تی استودنت مستقل می‌باشد.

Fig. 3. Mean supercooling point fluctuations ($Mean \pm SE$) in diapausing (December 2015) and non diapausing (August 2016) pupae of *Scrobipalpa ocellatella*. ** indicates significant differences (Independent t- student test, $p < 0.01$).



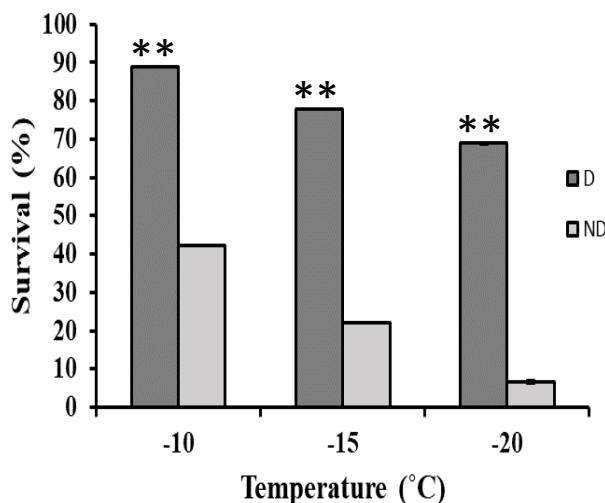
تحمل به سرما در شفیره‌ها

میزان تحمل شفیره‌هایی که در ماه‌های مختلف پاییز و زمستان جمع‌آوری شده‌بودند، در سه دمای ۱۰-، ۲۰- درجه سلسیوس ($F=138/7$ ، $df=5,12$ ، $P<0/001$)، ۱۵- درجه سلسیوس ($F=203/8$ ، $df=5,12$ ، $P<0/001$) و ۲۰- درجه سلسیوس ($F=251/4$ ، $df=5,12$ ، $P<0/001$) با هم اختلاف معنی‌داری داشتند (شکل ۴). میزان زنده‌مانی شفیره‌ها در دماهای زیر صفر درجه سلسیوس در ابتدای پاییز در کمترین میزان خود بود. پس از آن به تدریج به مقاومت شفیره‌ها افزوده شده و در اواسط زمستان به بیشترین میزان رسید که نشان از سازگاری حشره به سرما دارد. سپس همزمان با افزایش دمای هوا از تحمل سرما آنها کاسته شد. بیشترین میزان تحمل شفیره‌ها به سرما در ماه‌های آبان، آذر و دی و کمترین میزان تحمل در ماه‌فروردین مشاهده شد. میزان تحمل شفیره‌های دیاپوزی همواره از شفیره‌های غیر دیاپوزی در دمای ۱۰-، ۱۵- و ۲۰- درجه سلسیوس بالاتر بود (شکل ۵).



شکل ۴- تغییرات میزان مرگ و میر در شفیره‌های زمستان‌گذران بید چغندرقتند، *Scrobipalpa ocellatella* طی ماه‌های آبان ۱۳۹۴ تا فروردین‌ماه ۱۳۹۵. میانگین‌های با حروف مشترک بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Fig. 4. Mortality of overwintering pupae of sugar beet moth from November 2015 to April 2016. Means followed by the same letters are not significantly different (Tukey's test, $P < 0.05$).



شکل ۵- درصد بقا در شفیره‌های دیاپوزی (D) و غیردیاپوزی (ND) بید چغندرقتند، *Scrobipalpa ocellatella* در دماهای ۱۰-، ۱۵- و ۲۰- درجه سلسیوس در شرایط آزمایشگاه. علامت ** بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد بر اساس آزمون تی استودنت مستقل می‌باشد.

Fig. 5. Survival rate in diapausing (D) and non diapausing (ND) pupae of sugar beet moth, *Scrobipalpa ocellatella* (-10, -15 and -20 °C) in laboratory condition.

** indicates significant differences (Independent t- student test, $p < 0.01$).

کمترین دمای کشنده

کمترین دمای کشنده برای مرگ و میر ۵۰ درصد از جمعیت شفیره‌های زمستان‌گذران بید چغندرقتند (LT_{50}) از آبان تا فروردین تغییرات فصلی قابل توجهی نشان داد. در آبان ماه مقدار LT_{50} به دمای ۱۳/۹- درجه

سلسیوس رسید (جدول ۱) که تقریباً برابر میانگین نقطه انجماد همان ماه بود. این دما در شفیره‌های جمع‌آوری شده در ماه‌های آذر و دی حدود ۳ درجه سلسیوس پایین‌تر از نقطه انجماد بدن آن‌ها بود. اما تحمل شفیره‌های بهمن، اسفند و فروردین ماه به دماهای زیر صفر کاهش معنی‌داری داشت، به طوری که در فروردین ماه مقدار LT_{50} به $-5/5$ درجه سلسیوس رسید. علی‌رغم این که نقطه انجماد شفیره‌های دیاپوزی در ماه‌های منتهی به اواخر زمستان و بهار از -15 درجه سلسیوس فراتر نرفت، اما شفیره‌ها متناسب با نقطه انجماد نتوانستند دماهای زیر صفر را تحمل نمایند.

جدول ۱- دمای حداقل کشنده (LT_{50}) و حدود اطمینان بالا و پایین شفیره‌های بید چغندرقد، *Scrobipalpa ocellatella* از آبان ۱۳۹۴ تا فروردین ۱۳۹۵.

Table 1. Lower lethal temperature (LT_{50}) values in pupae of sugar beet moth, *Scrobipalpa ocellatella* from November 2015 to April 2016.

Month	N	LT_{50} (°C)	95% confidence intervals (°C)	
			Lower	Upper
Nov	45	-13.99c	-14.44	-12.78
Dec	45	-17.78e	-18.39	-17.51
Jan	45	-19.05f	-19.78	-18.69
Feb	45	-14.62d	-15.03	-14.45
Mar	45	-11.15b	-11.52	-10.16
Apr	45	-5.49 a	-7.82	-0.53

بحث

نقطه انجماد شفیره‌های دیاپوزی بید چغندرقد در طول پاییز و زمستان از یک روند منطقی پیروی نمودند. به طوری که میزان نقطه انجماد شفیره‌های زمستان‌گذران از ابتدای پاییز با کاهش دما به سمت زمستان کاهش یافت و در ادامه با افزایش دما تا اوایل بهار به مقدار آن افزوده شد. مطالعات *Minder et al.* (1984) نشان می‌دهد که افزایش ظرفیت فوق سرد شدن (Supercooling capacity) یا کاهش نقطه انجماد با شروع دیاپوز همراه است. در حقیقت پس از مرحله القاء دیاپوز، مرحله آمادگی وجود دارد که در آن لاروهای آفت دچار یک سری تغییرات رفتاری و فیزیولوژیک شده و خود را جهت آغاز دیاپوز آماده می‌کنند. مهمترین تغییرات مشاهده‌شده در این زمان، مهاجرت، تجمع، جستجو برای پناهگاه مناسب و افزایش ذخایر انرژی می‌باشد (*Kostal, 2006*). مشاهدات مزرعه‌ای نشان می‌دهد که با سرد شدن دمای هوا در پاییز از میزان آلودگی بوته‌ها به لارو بید چغندرقد کاسته می‌شود. به نظر می‌رسد که لاروهای سن آخر محل تغذیه و پناهگاه خود در سر ریشه‌های چغندرقد را ترک کرده و برای شفیره شدن وارد خاک می‌شوند. به علاوه با کاهش تدریجی دما در پاییز و زمستان و کاهش نقطه انجماد شفیره‌ها، میزان تحمل به سرما افزایش می‌یابد که این پدیده نشان از سازگاری شفیره‌های بید چغندرقد با تغییرات دمایی محیط پیرامون خود دارد. چنین رابطه‌ای بین کاهش نقطه انجماد و افزایش میزان تحمل سرما در برخی حشرات مانند کرم سبب (*Neven, 1999*; *Cydia pomonella* (L.))، *Phyllonorycter ringoniella* (*Matsumura*) (*Li et al., 2002*)، *Khani & Moharamipour, 2011*)، مینوز سبب (*Behroozi et al., 2012*) و *Aulacophora nigripennis* (*Motschulsky*) (*Watanabe & Tanaka, 1999*) نیز گزارش شده است. همچنین میزان تحمل سرما در شفیره‌های بید چغندرقد در اوایل زمستان و در سردترین ماه سال به بیشترین مقدار رسید. سپس با افزایش دمای هوا از تحمل حشرات به سرما کاسته شد. مقدار LT_{50} در

دی‌ماه ۱۹- درجه سلسیوس بود. این در شرایطی است که میانگین دمای ماهیانه بسیار بالاتر و حدود ۴ درجه سلسیوس بود. همچنین نتایج نشان داد که شفیره‌های دیپوزی به راحتی می‌توانند دمای ۱۰- درجه سلسیوس را به مدت ۲ ساعت تحمل نمایند به طوری که تلفات ایجاد شده در این دما در ماه‌های آبان و آذر کمتر از ۱۰ درصد و برای شفیره‌های جمع‌آوری شده در بهمن و اسفند ماه بدون تلفات بود. این در حالی است که پایین‌ترین دمایی که حشرات در پاییز و زمستان ۱۳۹۴ تجربه نموده‌اند، ۹/۳- درجه سلسیوس بود و به نظر نمی‌رسد تهدید جدی برای شفیره‌های این حشره محسوب شود. به علاوه شفیره‌ها در داخل خاک و درون یک پیله تنیده شده از ذرات خاک تشکیل می‌شوند و نفوذ سرما را به شدت کاهش می‌دهند. همچنین این پیله‌ها احتمال دارد بتوانند مانع از نفوذ آب و مانع از القای یخ‌زدگی ناشی از تشکیل بلورهای یخ در سطح بدن شفیره شوند. در آبان ماه میزان تحمل سرما در شفیره‌ها تقریباً نزدیک به میانگین نقطه انجماد رسید که بیانگر کاهش امکان مرگ پیش از یخ‌زدگی است. اما در ماه‌های آذر و دی بعد میزان تحمل سرما (LT_{50}) حتی به پایین‌تر از نقطه انجماد رسید و در واقع شفیره‌های بید چغندر قند قادرند دماهای پایین‌تر از نقطه انجماد خود را در این ماه‌ها نیز تحمل نمایند. بنابراین در طول زمستان لاروهای سنین مختلف از جمله لارو سن آخر که در سرریشه‌های باقی مانده در مزرعه مشاهده می‌شوند فقط بخش کمی از جمعیت زمستان گذران بید چغندر قند را تشکیل می‌دهند که در اولین فرصت به فاز دیپوزی خود یعنی شفیره وارد می‌شوند. در واقع قسمت بزرگی از جمعیت که به صورت شفیره در خاک به دیپوز می‌روند جمعیت اصلی آفت را تشکیل می‌دهند. اما با کاهش چشمگیر و معنی‌دار تحمل شفیره‌ها به دماهای زیر صفر در بهمن، اسفند و فروردین ماه می‌توان دریافت که به احتمال زیاد این شفیره‌ها در مرحله پس‌دیپوزی قرار دارند و امکان ظهور حشرات کامل از این شفیره‌ها در صورت مساعد شدن دمای هوا وجود خواهد داشت.

این پژوهش در تکمیل آزمایش‌های (Ganji & Moharramipour, 2015, 2017) انجام شده است. در آزمایش‌های قبلی طی بررسی‌های مزرعه‌ای نشان داده شد که لاروهای زمستان گذران در طول پاییز و زمستان در سنین مختلف در سر ریشه‌های چغندر قند به تغذیه خود ادامه می‌دهند. این لاروها با وجود سرما و دماهای زیر صفر از هر فرصتی برای تغذیه و تکمیل رشد خود استفاده می‌نمایند. آزمایش‌ها نشان دادند که نقطه انجماد لاروهای زمستان گذران دامنه وسیعی از ۶- تا ۲۵- درجه سلسیوس را نشان می‌دهند. بدین معنی که معمولاً لاروهای سنین پایین به دلیل جثه کم و یا پیش شفیره‌ها به دلیل تخلیه دستگاه گوارش خود نقطه انجماد پایینی دارند، اما لاروهای سنین بالاتر که معمولاً تغذیه کرده و با معده پر مشاهده می‌شوند نقطه انجماد بالایی دارند. با این وجود لاروهای فوق‌عمدتاً نسبت به دماهای زیر صفر مقاوم هستند. معمولاً بقای لاروهای زمستان گذران در صورتی به خطر می‌افتد که سر ریشه‌ها به دلیل یخ‌زدگی، فساد و یا خشکیدگی ناشی از سرما نامناسب شوند. در این صورت لاروهایی که نتوانند رشد خود را کامل کنند محکوم به فنا خواهند بود. اما لاروهایی که در زمستان درون بوته‌های سبز و در نواحی سر ریشه‌ها قرار دارند شانس تغذیه و تکمیل رشد را خواهند داشت. لاروهایی که به سن آخر برسند از هر فرصتی برای ورود به داخل خاک و شفیره‌شدن استفاده می‌نمایند. بنابر این بخش کمی از جمعیت بید چغندر قند به صورت لاروهای غیر دیپوزی در سر ریشه‌ها و بخش اعظم به صورت شفیره‌های دیپوزی در داخل خاک زمستان را سپری می‌نمایند. معمولاً قسمت اعظم لاروها در پاییز داخل خاک شفیره شده و بدین صورت بقای خود را تا سال زراعی آینده تضمین می‌نمایند. لذا در مناطقی که خسارت این آفت بالا است توصیه می‌شود از ارقام مقاوم و زودرس استفاده شود و در صورت امکان از تاخیر در برداشت ریشه‌های چغندر قند اجتناب شود.

References

- Ahmadi, F., Moharramipour, S. & Mikani, A.** (2017) Photoperiodism of diapause induction in sugar beet moth, *Scrobipalpa ocellatella* (Lepidoptera: Gelechiidae). 7th International Symposium on the Environmental Physiology of Ectotherms and Plants 320-321.
- Al-Keridis, L. A.** (2016) Biology, Ecology and control Studies on Sugar-beet mining moth, *Scrobipalpa ocellatella*. *Der Pharma Chemica* 8, 166-171.
- Bale, J. S.** (1987) Insect cold hardiness: Freezing and supercooling- An ecophysiological perspective. *Journal of Insect Physiology* 33, 899-908.
- Baust, J. G., & Rojas, R. R.** (1985) Insect cold hardiness: facts and fancy. *Journal of Insect Physiology* 31, 755-759.
- Behroozi, E., Izadi, H., Samih, M. A. & Moharamipour, S.** (2012) Physiological strategy in overwintering larvae of pistachio white leaf borer, *Ocneria terebinthina* Strg. (Lepidoptera: Lymantriidae) in Rafsanjan, Iran. *Italian Journal of Zoology* 79, 44-49.
- CABI.** (1967) *Scrobipalpa ocellatella*. [Distribution map], Distribution Maps of Plant Pests, CAB Publications. December, pp. Map 240, Available online: <http://www.cabi.org/dmpp/search/?q=scrobipalpa+ocellatella>
- Denlinger, D. L. & Lee, R. E.** (2010) Low temperature biology of insects. Cambridge University Press, U.K.
- Denlinger, D. L.** (1991) Relationship between cold hardiness and diapause. In Lee, R. E. & Denlinger, D. L. (Eds) *Insect at low temperature* (174-198). Chapman and Hall: New York and London
- Denlinger, D. L.** (2002) Regulation of diapause. *Annual Review of Entomology* 47, 93-122.
- Esmali, M., Mirkarimi, A. & Azmaieshfard, P.** (1996) Agricultural Entomology. University of Tehran Publication, Third Edition. 556 p.
- Ganji, Z. & Moharramipour, S.** (2015) Variation of supercooling point in overwintering larvae of *Scrobipalpa ocellatella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Crop Protection* 4 (2), 145-156.
- Ganji, Z. & Moharramipour, S.** (2017) Cold hardiness strategy in field collected larvae of *Scrobipalpa ocellatella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Entomological Society of Iran* 36(4), 287-296.
- Hou, M., Lin, W., & Han, Y.** (2009) Seasonal changes in supercooling points and glycerol content in overwintering larvae of the Asiatic rice borer from rice and water-oat plants. *Environmental Entomology* 38, 1182-1188.
- Khani, A., & Moharamipour, S.** (2011) Cold hardiness and supercooling capacity in the overwintering larvae of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Journal of Insect Science* 10(83), 1-12.
- Khani, A., Moharramipour, S., & Barzegar, M.** (2007) Cold tolerance and trehalose accumulation in overwintering larvae of the codling moth, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *European Journal of Entomology* 104, 385- 392.
- Kheyri, M.** (1991) Important Pests of Sugar beet and Their Control. Ministry of Agriculture, Agricultural Research and Education organization, Kalameh Publication Institute. Tehran. 126 pp. (in Persian).
- Kheyri, M., Naiim, A., Fazeli, M., Djavan-Moghaddam, H. & Eghtedar, E.** (1980) Some studies on *Scrobipalpa ocellatella* Boyd in Iran. *Applied Entomology and Phytopathology* 48, 1-39. (In Persian).
- Kostal, V.** (2006) Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of Insect Physiology* 52, 113-127.

- Leather, S. R., K. F. A. Walters & Bale, J. S.** (1993) The ecology of insect overwintering. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lee, R. E.** (1989) Insect cold-hardiness: to freeze or not to freeze? *Bioscience*, 39, 308-313.
- Lee, R. E.** (2010) A primer on insect cold-tolerance. pp. 3-34 in Denlinger, D. L. & Lee R. E. Jr. (Eds) *Low Temperature Biology of Insects*. Cambridge University.
- Li, Y.P., Oguchi, S., & Goto, M.** (2002) Physiology of diapause and cold hardiness in overwintering pupae of the apple leaf miner *Phyllonorycter ringoniella*. *Physiological Entomology* 27, 92-96.
- Minder, I. F., Dudash, A. V., & Chesnek, S. I.** (1984) Seasonal changes in the resistance to cold and the content of glycogen, glycerin and reducing sugars in the body of hibernating larvae of the codling moth (*Laspeyresia pomonella*). *Zoologicheskii Zhurnal* 63, 1355-1362.
- Neven, L. G.** (1999) Cold hardiness adaptations of codling moth, *Cydia pomonella*. *Cryobiology* 38, 43-50.
- Saeidi, F., S. Moharramipour, S. & Barzegar, M.** (2012). Seasonal patterns of cold hardiness and cryoprotectant profiles in *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae). *Environmental Entomology* 41, 1638-1643.
- SPSS Inc.** (2009) PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc.
- Timus, A. M. & Croitoru, N. J.** (2006) The phytosanitary form and fighting measures diseases and pests of sugar beet from Republic of Moldova. *Zbornik Matice Srpske Za Prirodne Nauke* 110, 227-238.
- Valich, N., Vuchajnk, F., Ferencak, B., Mlinarich, M. & Trdan, S.** (2005) Monitoring of sugarbeet moth (*Scrobipalpa ocellatella* Boyd, Lepidoptera, Gelechiidae) in Slovenia using pheromone traps. *7th Slovenian Conference in Plant Protection, Zrece, Slovenia, 8-10 March 2005*. 454-458.
- Watanabe, M., & Tanaka, K.** (1999) Cold tolerance strategy of the freeze-intolerant chrysomelid, *Aulacophora nigripennis* (Coleoptera: Chrysomelidae), in warmtemperate region. *European Journal of Entomology* 96, 175-181.
- Zachariassen, K. E.** (1985) Physiology of cold tolerance in insects. *Physiological Review*, 65, 799-832.