

## تغییرات فصلی نقطه انجماد و تحمل به سرما در لاروهای بید چغناور قند *Scrobipalpa ocellatella* (Lepidoptera: Gelechiidae) در کرج

زهرا گنجی و سعید محرومی پور\*

گروه حشره شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

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

### Seasonal changes in supercooling point and cold tolerance in field collected larvae of the beet moth, *Scrobipalpa ocellatella* (Lepidoptera: Gelechiidae) in Karaj, Iran

Z. Ganji and S. Moharrampour

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

\*Corresponding author, E-mail: moharami@modares.ac.ir, moharrampour@gmail.com

#### چکیده

بخشی از جمعیت بید چغناور قند (*Scrobipalpa ocellatella* (Boyd)) زمستان‌های سخت را به صورت لارو در بقایای چغناور و سایر پناهگاه‌های مناسب سپری می‌کند. به منظور مطالعه توانایی زمستان‌گذرانی این حشره، لاروهای سن آخر به صورت ماهیانه از شهریور تا اسفند ۱۳۹۰ جمع آوری شدند. تغییرات فصلی در شاخص‌های سرماسختی (نقطه انجماد و دمای حداقل کشنده) بید چغناور قند مورد مطالعه قرار گرفت. میانگین نقطه انجماد لاروهای بید چغناور قند جمع آوری شده از مزرعه بین  $0/99 \pm 0/92$  تا  $15/0 \pm 17/8$  درجه سلسیوس در نوسان بود. به علاوه حدود ۵۰ درصد از لاروهای جمع آوری شده در مهر ماه پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در دمای ۱۲- درجه سلسیوس تلف شدند؛ این شاخص به تدریج کاهش یافته و در بهمن ماه به صفر رسید. دمای حداقل کشنده برای ۵۰ درصد افراد از  $13/2$ - درجه سلسیوس در مهر ماه به  $16/4$ - درجه سلسیوس در بهمن رسید. در تمام طول زمستان نقطه انجماد لاروهای زمستان‌گذران در ماه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری با هم نشان ندادند. این در حالی است که هم‌زمان با کاهش تدریجی دمای هوای تحمل بید چغناور قند نسبت به سرما افزایش می‌یابد.

**واژگان کلیدی:** بید چغناور قند، *Scrobipalpa ocellatella*، تغییرات فصلی، نقطه انجماد، دمای حداقل کشنده

#### Abstract

A part of population of the beet moth, *Scrobipalpa ocellatella* (Boyd) in severe winter condition overwinters as larvae. In order to study overwintering potential of the pest, last instar larvae were collected monthly from September 2011 to March 2012. Seasonal changes in cold hardiness indices such as supercooling point (SCP) and lower lethal temperature of the beet moth were studied. The mean supercooling points of field collected larvae varied from  $-15.0 \pm 0.99$  to  $-17.8 \pm 0.92$  °C. Samples collected in October exhibited about 50% mortality, after 24 h exposure to -12 °C. It was gradually decrease until January (no mortality was observed) in January. Lethal temperature for 50% mortality (LT<sub>50</sub>) decreased from -13.2 °C in October to -16.4 °C in January. Supercooling points of overwintering larvae thorough the winter did not change significantly; while during the gradual decrease in ambient temperature, cold tolerance of *S. ocellatella* is progressively increased.

**Key words:** beet moth, *Scrobipalpa ocellatella*, seasonal changes, supercooling point, lower lethal temperature

بندپایان می‌باشد که آن‌ها را برای ورود به فصل زمستان آماده می‌کند و با دمای‌های پایین و دوره نوری روز کوتاه فعال می‌شود (Horwath & Duman, 1982). به تدریج کلی دو نوع سرماسختی در بندپایان وجود دارد: سرماسختی سریع که واکنشی سریع در برابر کاهش دما است و سرماسختی تدریجی که سازگاری فصلی و بلندمدت به سرما (طی چند هفته تا چند ماه) می‌باشد و در بسیاری حشرات از تابستان تا زمستان رخ می‌دهد و مانع از آسیب سرما یا

#### مقدمه

یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده جمعیت حشرات، مواجه شدن با دمای‌های پایین در ماه‌های سرد سال می‌باشد؛ عدم سازگاری حشرات با شرایط نامناسب در زمستان، منجر به مرگ یا آسیب‌های جبران‌ناپذیر به فرآیندهای حیاتی حشره خواهد شد (Zhao, 1997). سرماسختی توانایی یک حشره برای افزایش سطح تحمل به سرما است و یک سازگاری فیزیولوژیکی مهم در

گنجی و محرومی‌پور: تغییرات فصلی نقطه انجماد و تحمل به سرما در لاروهای بید ...

ریشه‌های باقی‌مانده در مزرعه می‌گذراند، ولی چنان‌چه زمستان معتدل باشد به همه شکل دیده می‌شود و اگر زمستان خیلی سرد باشد تنها به صورت لاروهای کامل در لابه‌لای بوته‌ها و سرهای قطع شده چغندر و مفرز دمیرگ‌ها باقی می‌مانند (Behdad, 1982). بررسی‌های (Kheyri et al., 1980; Valich et al., 2005; Timus & Croitoru, 2006) فراوانی در زمینه زیست‌شناسی (Saad & El-Abhrawi, 1977; Robert & Blaisinger, 1978; Marie, 2004; Sabry et al., 2011; Arnaudov et al., 2012) بید چغندر قند انجام شده است. با این حال، تاکنون میزان تحمل بید چغندر قند در دماهای پایین و تغییرات فصلی آن مورد مطالعه قرار نگرفته است. بنابراین، به منظور بررسی تغییرات فصلی سرماسختی بید چغندر قند، نقطه انجماد (SCP) و تحمل حشره به دماهای زیر صفر مورد مطالعه قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها داده‌های هواشناسی

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

### جمع‌آوری نمونه

نمونه‌برداری از مزرعه‌ای در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند (ایستگاه تحقیقاتی مهندس سید عبدالرسول مطهری) به مختصات "35° 50' 22.56" شمالی و "51° 58.68" شرقی و به ارتفاع ۱۲۵۳ متر از سطح دریا واقع در کمال شهر کرج انجام شد. نمونه‌ها به صورت ماهیانه از شهریور تا اسفند ۱۳۹۰ جمع‌آوری شد.

مرگ در دماهای پایین می‌شود (Leather et al., 1993). این نوع از سرماسختی در اثر کاهش تدریجی دمای هوا ایجاد شده و اثر طولانی مدت دارد. سازگاری به سرما همان‌طور که به تدریج به وجود می‌آید به تدریج نیز از بین می‌رود (Lee et al., 1987; Lee, 2010). حشرات از سازوکارهای گوناگون برای افزایش سرماسختی خود بهره می‌برند و به این ترتیب می‌توانند در دماهای پایین زنده بمانند (Lee, 1991; Danks, 1996; Bale, 2002) دماهای زیر صفر به کمک دو راهکار عمدۀ مصون می‌مانند: اجتناب از یخ‌زدگی و تحمل به یخ‌زدگی مایعات بدن. حشراتی که از راهکار اول بهره می‌برند حساس به یخ‌زدگی و آن‌ها که از راهکار دوم استفاده می‌کنند متتحمل به یخ‌زدگی نامیده می‌شوند. حشرات متتحمل به یخ‌زدگی تشکیل بلورهای یخ در خارج سلول را تحمل می‌کنند، در حالی که این رویداد برای حشرات حساس به یخ‌زدگی کشنده است و این حشرات برای گریز از یخ‌زدن با سازوکارهای مختلف، توانایی فوق سرد شدن (Lee, 2010) خود را افزایش می‌دهند (supercooling capacity). راهکار سرماسختی در حشرات مختلف متفاوت است و از روی تغییر در شاخص‌هایی مانند نقطه انجماد (lower supercooling point (SCP)) یا دماهای پایین کشنده (Leather et al., 1993) تعیین می‌شود (lethal temperatures (LLTs)). نقطه انجماد، پایین‌ترین دما پیش از شروع تشکیل بلورهای یخ در مایعات بدن است که با آزاد شدن ناگهانی گرمای بدن همراه است (Lee, 1989).

بید چغندر قند یا لیتا *Scrobipalpa ocellatella* یکی از مهم‌ترین آفات چغندر می‌باشد که پراکنش جهانی داشته و از بسیاری کشورها گزارش شده است (Behdad, 1982). تعداد نسل این آفت بسته به شرایط آب و هوایی هر منطقه متفاوت و در ایران بین ۳ تا ۶ نسل در سال متغیر است (Kheyri et al., 1980). این آفت زمستان را به صورت لارو در بوته‌های چغندر قند و سر

می‌رساند و نمونه‌ها از آن خارج می‌شدنند و وضعیت زنده ماندن آنها پس از اندازه‌گیری نقطه انجماد مورد بررسی قرار گرفت. در صورت وجود تردید در مورد مرده و یا زنده بودن لاروها از استریومیکروسکوپ استفاده می‌شد.

**تعیین میزان تحمل لاروهای سن آخر به سرما**  
 میزان تحمل لاروهای سن آخر بیلد چغnder قند در دماهای  $-5^{\circ}\text{C}$ ،  $-7^{\circ}\text{C}$ ،  $-10^{\circ}\text{C}$ ،  $-12^{\circ}\text{C}$ ،  $-15^{\circ}\text{C}$ ،  $-17^{\circ}\text{C}$ ،  $-19^{\circ}\text{C}$  و  $-21^{\circ}\text{C}$ - درجه سلسیوس مورد مطالعه قرار گرفت تا بتوان میزان مرگ‌ومیر تقریبی در حدود ۱۰ تا ۹۰ درصد را به دست آورد. برای هر دما ۴ تکرار در نظر گرفته شد. از لوله‌های آزمایش ۱۵ میلی-لیتری برای انجام این آزمایش استفاده شد. جهت جدا نگاه داشتن لاروها از یکدیگر و جذب رطوبت احتمالی از سطح بدن لاروها، در هر لوله آزمایش یک تکه دستمال کاغذی خشک قرار داده شد. در هر تکرار با توجه به میزان آلودگی آن ماه، بین ۴ تا ۱۰ حشره استفاده شد. برای رسیدن به دمای مطلوب از دستگاه سردکننده قابل برنامه‌یزی استفاده گردید و دمای دستگاه از  $+20^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس تا دمای موردنظر با سرعت  $0/5^{\circ}\text{C}$  درجه در دقیقه سرد شد و لاروها به مدت مشخص ( $2^{\circ}\text{C}$  و ۲۴ ساعت) در آن دما نگهداری و سپس با همان سرعت به دمای  $20^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس بازگشته و  $24^{\circ}\text{C}$  ساعت در دمای آزمایشگاه (حدود  $25^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس) نگهداری و پس از این مدت از نظر زنده ماندن بررسی شدند. لازم به ذکر است که ملاک زنده بودن لارو مشاهده هر گونه حرکت لارو مانند تکان دادن ضمایم بدن و ضربان قلب در زیر استریومیکروسکوپ بود. در صورت تردید در خصوص زنده بودن حشرات، از قلمموی نرم به عنوان محرك استفاده شد.

**تعیین دمای حداقل کشنده (LLT)**  
 از داده‌های به دست آمده از آزمایش‌های تحمل لاروها به سرما ( $24^{\circ}\text{C}$  ساعت سرماده‌ی) برای محاسبه

سر ریشه‌های چغnder قند به همراه طوقه و برگ‌ها توسط بیل با غبانی جدا شده و در گونه‌های کنفری جمع آوری شدند. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده کشاورزی دانشکده تربیت مدرس منتقل شد. به منظور حفظ شرایط طبیعی، نمونه‌ها در طی انجام آزمایش‌ها در دمای محیط و بیرون از آزمایشگاه نگهداری می‌شدند. پس از شکافت پوست ریشه و دمبرگ‌ها و بررسی برگ‌های لوله شده چغnder قند، اقدام به جمع آوری لاروها از محل‌های تغذیه می‌شد. لاروها با کمک قلمموی نرم به پتری دیش حاوی دستمال کاغذی خشک منتقل می‌شدند. استفاده از دستمال کاغذی به منظور خشک نمودن سطح بدن لاروها (جهت جلوگیری از القای یخ‌زدگی) صورت می‌گرفت. در طول مدت جداسازی نمونه، برگ چغnder قند در اختیار حشرات قرار می‌گرفت.

#### تعیین نقطه انجماد

نقطه انجماد نمونه‌های جمع آوری شده از مزرعه به روشن (Khani et al. 2007) تعیین شد. به طور معمول در هر ماه، نقطه انجماد حدود  $20^{\circ}\text{C}$  عدد لارو اندازه‌گیری شد. به این ترتیب که حسگر جنس نیکل-کروم دستگاه ثبت‌کننده دما (Testo, model 177-T4, Germany) در تماس با سطح شکمی لاروهای سن آخر قرار داده شد و در محل خود ثابت گردید و سپس به دستگاه سردکننده قابل برنامه-ریزی (Binder, model MK53, Germany) منتقل شدند. دمای این دستگاه به نحوی برنامه‌ریزی شد که از  $+20^{\circ}\text{C}$  تا  $-30^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس با سرعت تقریبی  $0/5^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس در دقیقه به تدریج سرد شود و طی این مدت هر  $3^{\circ}\text{C}$  ثانیه دمای بدن حشره توسط دستگاه دماپای Testo Comfort-Software Basic ثبت شد. نقطه‌ای که پس از آن، افزایش سریع دما به علت آزاد شدن گرمای درونی رخ می-دهد، به عنوان نقطه انجماد منظور شد (Lee, 2010). سپس دستگاه به شکل معکوس دما را به  $+20^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس

گنجی و محرومی پور: تغییرات فصلی نقطه انجماد و تحمل به سرما در لاروهای بید ...

نیز حدود ۸ درجه کاهش داشت و به ۵/۶- درجه سلسیوس رسید. پس از آن تا آذر و دی ماه کاهش جزئی (به ترتیب ۱ و ۲ درجه) در دمای هوا، روی داد. حداقل مطلق دمای آذر ماه ۴/۴- درجه سلسیوس ثبت شد. میانگین دمای دو ماه دی و بهمن ۲/۶ درجه سلسیوس گزارش شد. حداقل مطلق دمای ثبت شده در دی و بهمن ماه برابر با ۸/۸- درجه سلسیوس بود. پس از آن تا اسفند ماه افزایش دمای هوا روی داد و میانگین دمای هوا و حداقل مطلق دما به ترتیب به ۷/۱ و ۷- درجه سلسیوس رسید (شکل ۱).

#### نقطه انجماد (SCP) بدن لاروها

با این که بیشینه و کمینه SCP در ماههای مختلف به ترتیب از ۶- تا ۲۵- درجه سلسیوس در بین افراد جمعیت مشاهده شد، اما میانگین SCP در ماههای مختلف، بین ۱۵- و ۱۸- درجه سلسیوس در نوسان بود و از روند خاصی پیروی نکرد. بین نقطه انجماد شهریور تا اسفند ماه اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $F = 0.736$ ;  $df = 5,94$ ;  $P = 0.598$ ) (شکل ۲). با این وجود پایین ترین میزان SCP در آذر ماه (۱۷/۸- درجه سلسیوس) مشاهده شد. نمودار جعبه‌ای نقطه انجماد ماهیانه در شکل ۲ نمایش داده شده است.

دهماهی پایین‌کشنده به ترتیب برای مرگ و میر ۵۰ و ۸۰ درصد از جمعیت ( $LT_{50}$  و  $LT_{80}$ ) استفاده شد. مقادیر فوق به کمک معادله رگرسیونی مدل لجیستیک (Binary Logistic)، محاسبه شد (Saeidi *et al.*, 2012).

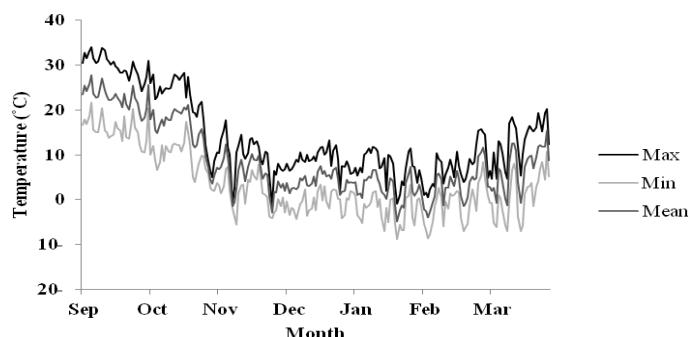
#### تجزیه آماری

اطلاعات به دست آمده به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار گزارش شدند. تجزیه داده‌ها بعد از نرمال کردن از معادله  $(X/100)^{0.5}$  (Independent Arcsine t) با کمک آزمون (One-way ANOVA) انجام شد و مقایسه میانگین داده‌های مختلف با کمک آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18.0 (SPSS Inc., 2009) انجام شد.

#### نتایج

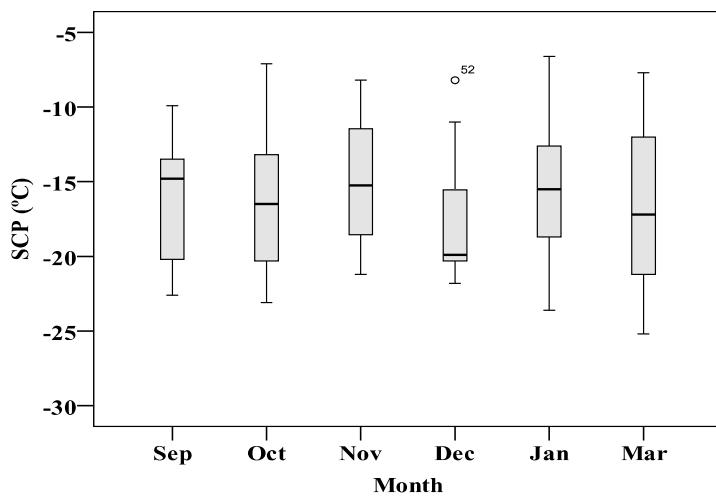
##### داده‌های هواشناسی

میانگین دمای هوا در شهریور ماه، حدود ۲۲ درجه سلسیوس بود. این دما در مهر ماه به ۱۵/۷ درجه سلسیوس رسید و حداقل مطلق دما در این دو ماه به ترتیب ۱۰/۶ و ۲ درجه سلسیوس ثبت شد. در آبان ماه شاهد کاهش شدید دمای هوا (۱۰ درجه سلسیوس) بودیم و دمای آبان ماه به ۵/۷ درجه سلسیوس و حداقل مطلق دما



شکل ۱- تغییرات کمینه، میانگین و بیشینه دمای روزانه در نزدیکترین ایستگاه هواشناسی به محل نمونه‌برداری از شهریور تا اسفند سال ۱۳۹۰.

**Fig. 1.** Seasonal changes in minimum, mean and maximum air temperatures at the nearest weather station to collection site from September 2011 to March 2012.



شکل ۲- تغییرات نقطه انجماد (SCP) در لاروهای سن بید چغnder قند جمع آوری شده در ماههای شهریور تا اسفند ۱۳۹۰.

**Fig. 2.** Supercooling point variation fluctuation in last instar larvae of *Scrobipalpa ocellatella* collected from September 2011 to March 2012.

بین دو ماه بهمن و اسفند اختلاف معنی‌دار مشاهده شد

میزان تحمل افراد به دماهای زیر صفر درجه سلسیوس در ابتدای پاییز در کمترین میزان خود بود. پس از آن به تدریج به مقاومت افراد افزوده شده و در اواسط زمستان به بیشترین میزان رسید. سپس همزمان با افزایش دمای هوا از تحمل کاسته شد. در آزمایش‌های انجام شده، هیچ مرگ‌ومیری در دمای ۵- درجه سلسیوس رخ نداد. در آذر و بهمن ماه با افزایش تحمل به سرما همه لاروها ۲۴ ساعت دمای ۷- درجه سلسیوس را تحمل کردند. میزان تحمل لاروهای سن آخر از مهر تا بهمن افزایش یافت. بهنحوی که در ماه مهر نیمی از لاروهای آزمایش شده در تیمار ۲۴ ساعته دمای ۱۲- درجه سلسیوس تلف شدند، درحالی که در بهمن همه لاروها در این دما زنده ماندند. پس از آن در میزان تحمل به سرما کاهش مشاهده شد و در اسفند ۵ درصد مرگ- و میر در دمای ۱۲- درجه سلسیوس روی داد.

میزان تحمل افراد به دماهای زیر صفر درجه سلسیوس در ابتدای پاییز در کمترین میزان خود بود. پس از آن به تدریج به مقاومت افراد افزوده شده و در اواسط زمستان به بیشترین میزان رسید. سپس همزمان با افزایش دمای هوا از تحمل کاسته شد. در آزمایش‌های انجام شده، هیچ مرگ‌ومیری در دمای ۵- درجه سلسیوس رخ نداد. در آذر و بهمن ماه با افزایش تحمل به سرما همه لاروها ۲۴ ساعت دمای ۷- درجه سلسیوس را تحمل کردند. میزان تحمل لاروهای سن آخر از مهر تا بهمن افزایش یافت. بهنحوی که در ماه مهر نیمی از لاروهای آزمایش شده در تیمار ۲۴ ساعته دمای ۱۲- درجه سلسیوس تلف شدند، درحالی که در بهمن همه لاروها در این دما زنده ماندند. پس از آن در میزان تحمل به سرما کاهش مشاهده شد و در اسفند ۵ درصد مرگ- و میر در دمای ۱۲- درجه سلسیوس روی داد.

#### تحمل به سرما

میزان تحمل افراد به دماهای زیر صفر درجه سلسیوس در ابتدای پاییز در کمترین میزان خود بود. پس از آن به تدریج به مقاومت افراد افزوده شده و در اواسط زمستان به بیشترین میزان رسید. سپس همزمان با افزایش دمای هوا از تحمل کاسته شد. در آزمایش‌های انجام شده، هیچ مرگ‌ومیری در دمای ۵- درجه سلسیوس رخ نداد. در آذر و بهمن ماه با افزایش تحمل به سرما همه لاروها ۲۴ ساعت دمای ۷- درجه سلسیوس را تحمل کردند. میزان تحمل لاروهای سن آخر از مهر تا بهمن افزایش یافت. بهنحوی که در ماه مهر نیمی از لاروهای آزمایش شده در تیمار ۲۴ ساعته دمای ۱۲- درجه سلسیوس تلف شدند، درحالی که در بهمن همه لاروها در این دما زنده ماندند. پس از آن در میزان تحمل به سرما کاهش مشاهده شد و در اسفند ۵ درصد مرگ- و میر در دمای ۱۲- درجه سلسیوس روی داد.

گنجی و محرومی پور: تغییرات فصلی نقطه انجماد و تحمل به سرما در لاروهای بید ...

جدول ۲ نشان داده شده است. همچنین نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که براساس معیار ( $LT_{80}$ ) حداقل بخش کمی از جمعیت (حدود ۲۰ درصد) بهخصوص در ماه‌های آبان و دی توانسته‌اند دماهای زیر نقطه انجماد را تحمل نمایند.

کمتر از میانگین نقطه انجماد همان ماه). بنابراین ۵۰ درصد از افراد جمعیت در این ماه دماهای نزدیک به  $LT_{50}$  خود را تحمل کرده‌اند. در اسفند ماه SCP افزایش جزئی داشت (۱۵/۹ - درجه سلسیوس) که نشان‌دهنده کاهش تحمل به سرما است. نتایج در

جدول ۱ - درصد مرگ و میر لاروهای سن آخر بید چغندر قند، بید چغندر قند در دماهای -۵ تا -۲۱ - درجه سلسیوس از شهریور تا اسفند ماه ۱۳۹۰.

**Table 1.** Mortality rate in last instar larvae of the beet moth, *Scrobipalpa ocellatella* (-5 to -21 °C) from September 2011 to March 2012.

Exposure time (h)	Temperature (°C)	% Mortality				
		October	November	December	January	March
24	-5	0	0	0	0	NT
	-7	12.5	25.0	0	0	NT
	-10	31.3	31.3	29.2	0	NT
	-12	50.0	31.3	25.0	0	50.0
	-15	56.3	43.8	62.5	43.8	25.0
	-17	68.8	87.5	62.5	60.4	58.3
	-19	93.8	NT	93.8	62.5	83.3
	-21	NT	NT	NT	93.8	NT
2	-12	50.0	NT	NT	NT	NT
	-15	NT	35.4	50.0	43.8	NT
	-17	NT	45.8	12.0	52.5	NT
	-19	NT	NT	81.3	65.6	NT
	-21	NT	NT	NT	93.8	NT

NT: not tested.

جدول ۲ - میانگین نقطه انجماد، دمای حداقل کشنده ( $LT_{50}$  و  $LT_{80}$ ) و حدود اطمینان بالا و پایین آنها در لاروهای سن آخر بید چغندر قند از شهریور تا اسفند ۱۳۹۰.

**Table 2.** Mean SCP, lower lethal temperature ( $LT_{50}$  and  $LT_{80}$ ) values and their lower and upper confidence limits in last instar larvae of the beet moth from September 2011 to March 2012.

Months	n	$SCP \pm SE$ (°C) <sup>1</sup>	n	$LT_{50}$ (Lower, Upper) (°C / 24 h) <sup>2,3</sup>	$LT_{80}$ (Lower, Upper) (°C / 24 h) <sup>2,3</sup>
September	10	-15.9 ± 1.29		NT	NT
October	13	-16.3 ± 1.46	94	-13.2 (-13.3, -13.0) a	-17.4 (-19.7, -16.4) a
November	20	-15.0 ± 0.99	92	-14.5 (-16.9, -13.8) b	-20.3 (-29.6, -17.6) b
December	20	-17.8 ± 0.92	81	-14.3 (-14.3, -14.1) b	-17.7 (-19.7, -16.8) a
January	15	-15.7 ± 1.03	81	-16.4 (-16.4, -16.3) d	-19.3 (-21.3, -18.5) a
March	22	-16.5 ± 1.19	42	-15.9 (-16.0, -15.2) c	-19.2 (-24.5, -18.0) a

NT: not tested.

<sup>1</sup> There was no significant difference among means ( $F = 0.736$ ;  $df = 5, 94$ ;  $P = 0.598$ ).

<sup>2</sup> 95% lower and upper confidence limits are shown in parenthesis.

<sup>3</sup> Values followed by the same letters in a column are not significantly different if their 95% confidence intervals overlap.

## بحث

در مهر ماه، دمای  $LT_{50}$  نسبتاً بالاتر از میانگین نقطه انجماد بود. در ماههای بعد فاصله  $LT_{50}$  و نقطه انجماد، با افزایش تحمل به تدریج کاسته شد تا جایی که تقریباً برابر شدند و در این شرایط آسیب دمایی پایین به حداقل می‌رسد. بسیاری از حشرات پیش از یخ‌زدن مایعات بدن می‌میرند و دچار مرگ پیش از یخ‌زدگی Baust & Rojas, 1985; Bale, 1987; Koštál *et al.*, 2004 از افراد، شاخص مناسبی برای میزان تحمل حشره نسبت به دمایی پایین و تعیین استراتژی یا راهکار سرماسختی است و کمترین خطای در آن مشاهده می‌شود (Turnock & Fields, 2005). نزدیک شدن دمای  $LT_{50}$  به نقطه انجماد بیانگر افزایش میزان تحمل و کاهش امکان مرگ پیش از یخ‌زدگی است. با افزایش میزان تحمل، لاروهای بید چغnder قند قادر بودند دمایی نزدیک به  $SCP$  خود را تحمل کنند و به این ترتیب به بیشترین میزان تحمل خود رسیدند. بنابر این براساس طبقه‌بندی (Bale 1996) به نظر می‌رسد که لاروهای بید چغnder قند از راهکار حساس به یخ‌زدگی بهره می‌برد. با افزایش تدریجی دمای هوا از میزان تحمل لاروهای زمستان-گذران کاسته شد؛ درحالی که توانایی سرماسختی به وجود آمده به طور کامل از بین نرفت و با وجود روند کاهشی میزان تحمل، حشرات در اوایل بهار مقاوم‌تر از حشرات ابتدای پاییز بودند. سازوکار سرماسختی و سازگاری به سرما، همان‌طور که به تدریج به وجود می‌آید، به تدریج نیز از بین می‌رود و حتی حشرات در فصل بهار هم‌چنان قابلیت سرماسختی دارند. این موضوع به نفع حشرات تمام می‌شود؛ زیرا در فصل بهار امکان افت ناگهانی دمای هوا وجود دارد. این مقاومت در مواجه شدن با کاهش دمای ناگهانی که در بهار ممکن است روی دهد، به یاری حشره می‌آید. حال آن-که اگر به محض افزایش دمای هوا، سازگاری‌های به-

میزان تحمل لاروهای سن آخر بید چغnder قند در تمامی ماههای مورد مطالعه، به مدت ۲۴ ساعت در دمایی زیر صفر درجه سلسیوس بررسی شد. همچنین، علاوه بر ۲۴ ساعت، زنده‌مانی حشرات پس از ۲ ساعت سرماده‌ی نیز بررسی شد. این آزمایش به منظور مطالعه اثر مدت سرماده‌ی بر میزان تحمل حشرات صورت گرفت. در مطالعات بسیاری، برای تعیین سرماسختی، حشرات به مدت ۲۴ ساعت در (Coyle *et al.*, 2011; Bemani *et al.*, 2012; Kawasaki *et al.*, 2013) همچنین میزان توانایی حشرات مختلف پس از ۲ ساعت سرماده‌ی مورد بررسی قرار گرفته است (Bennett & Lee, 1989; Lu *et al.*, 2012; Nguyen *et al.*, 2014) درصد مرگ‌ومیر لاروهای بید چغnder قند در ۲ و ۲۴ ساعت سرماده‌ی تقریباً برابر بود. با توجه به نتایج ۲ و ۲۴ ساعت سرماده‌ی به لاروهای بید چغnder قند می‌توان گفت که زمان سرماده‌ی (۲ تا ۲۴ ساعت) تأثیری در نرخ زنده‌مانی لاروها نداشته است. دمای کشنده برای  $50$  درصد از افراد جمعیت ( $LT_{50}$ ) از  $-13/2$ - درجه در مهر ماه به  $-16/4$ - درجه سلسیوس در بهمن رسید. این در شرایطی است که میانگین دمای ماهیانه بسیار بالاتر و حدود  $4$  درجه سلسیوس بود. در سه ماه مهر، آبان و آذر تنها یک سوم ( $30$  درصد) از افراد جمعیت پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در دمای  $-10$ - درجه سلسیوس از بین رفته‌اند. این درحالی است که پایین‌ترین دمایی که حشرات در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۰ تجربه نمودند،  $-8/8$ - درجه سلسیوس بود و به نظر نمی‌رسد تهدید جدی برای لاروهای زمستان‌گذران این حشره محسوب شود.

گرفته شوند (Van Lenteren *et al.*, 2006). نقطه انجماد حشرات مختلف حتی گونه‌های مناطق قطبی، پایین‌تر از حداقل مطلق دمای هواست که در زمستان تجربه می‌کنند (Bale, 2002; Clark & Worland, 2008). برای بیشتر حشرات ساکن مناطق معتدل، خطر آسیب سرما بیشتر از آسیب یخ‌دگی است و مرگ در دماهای بالاتر از نقطه انجماد روی می‌دهد (Bale, 2002). بنابراین، علاوه بر نقطه انجماد، دما و زمان حداقل کشنده به عنوان شاخص‌های تحمل به سرما مورد مطالعه قرار می‌گیرند (Watanabe, 2002). در این مطالعه، حشره به مدت ۲۴ ساعت در معرض دماهایی قرار گرفت که بسیار پایین‌تر از حداقل مطلق دما در شرایط طبیعی است. بدین معنی که دماهای فوق بسیار پایین‌تر از دماهایی است که ممکن است حشره آن را در طبیعت تجربه نماید. لذا هدف از این مطالعه، بررسی حداقل توان بید چغندر قند برای تحمل دماهای زیر صفر درجه بود. نتایج ما نشان داد که لاروهای زمستان‌گذران از پتانسیل بالایی برای تحمل دماهای زیر صفر برخوردارند. بید چغندر قند نه تنها دماهای پایین در زمستان کرج را به خوبی تحمل می‌نماید، بلکه نقطه انجماد پایین این حشره، زنده ماندن در دماهای زیر صفر به مدت طولانی را امکان پذیر می‌سازد. علاوه بر این، لاروهای بید چغندر قند درون بقایای چغندر پس از برداشت و یا درون چغندرهای برداشت نشده در مزرعه زمستان‌گذرانی می‌کنند که تا حد زیادی موجب محافظت آن‌ها از دماهای پایین کشنده می‌شود.

دست آمده از بین برود حشره ممکن است با شوک سرما مواجه شود (Sømme, 1999). معمولاً در حشرات حساس به یخ‌زدگی با افزایش سرما سختی، SCP کاهش می‌یابد (Lee, 2010). اما چنین رابطه‌ای در لاروهای زمستان‌گذران بید چغندر قند مشاهده نشد. این امر یعنی افزایش تحمل به سرما بدون کاهش معنی دار در SCP در تعدادی از حشرات مانند پروانه ساقه‌خوار *Sesamia nonagrioides* Lef پروانه قهوه‌ای روشن سیب (*Epiphyas postvittana* (Walker)) و کرم خوش‌خوار *Lobesia botrana* (Denis and Schiffermüller) (Gillyboeuf *et al.*, 1994; Andreadis *et al.*, 2005; Bürgi & Mills, 2010) گزارش شده است. تنوع فراوانی در نقطه انجماد (۸/۵-۱۶/۸ تا - درجه سلسیوس) در *Adoxophyes orana* (Fischer von Roslerstamm) شب‌پره که زمستان را به صورت سنین مختلف لاروی سپری می‌کند، گزارش شده است (Jo & Kim, 2001). همچنین، نقطه انجماد در مگس ریشه کلم در تمام طول سال تقریباً بدون تغییر باقی می‌ماند، در حالی که میزان تحمل این حشره در پاسخ به دماهای پایین در زمستان افزایش می‌یابد (Koštál & Šimek, 1995). نتایج مشابه با داده‌های این مطالعه، برای کرم سرخ پنبه، *Pectinophora* (Walker) شده و میانگین نقطه انجماد طی زمستان بین ۱۴/۶-۱۷/۱ درجه سلسیوس بوده است (Kalsta *et al.*, 2006). تحمل به سرما با شاخص‌های گوناگونی سنجیده می‌شود که بهتر است در مجموع و نه به تنها یکی در نظر

## منابع

- Andreadis, S. S., Milonas, P. G. & Savopoulou-Soultani, M.** (2005) Cold hardiness of diapausing and non-diapausing pupae of the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 117, 113-118.
- Arnaudov, V., Raykov, S., Davidova, R., Hristov, H., Vasilev, V. & Petkov, P.** (2012) Monitoring of pest populations: an important element of integrated pest management of field crops. *Agricultural Science and Technology* 4 (1), 77-80.

- Bale, J. S.** (1987) Insect cold hardiness: freezing and supercooling - an ecophysiological perspective. *Journal of insect physiology* 33, 899-908.
- Bale, J. S.** (1993) Classes of insect cold hardiness. *Functional Ecology* 7, 751-753.
- Bale, J. S.** (1996) Insect cold hardiness: A matter of life and death. *European Journal of Entomology* 93, 369-382.
- Bale, J. S.** (2002) Insects and low temperatures: from molecular biology to distributions and abundance. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 357, 849-861.
- Baust, J. G. & Rojas, R. R.** (1985) Insect cold hardiness: facts and fancy. *Journal of Insect Physiology* 31, 755-759.
- Behdad, E.** (1982) *Pests of field crops in Iran*. 589 pp. Neshat, Esfahan, Iran. [In Persian].
- Bemani, M., Izadi, H., Mahdian, K., Khani, A. & Amin Samih, M.** (2012) Study on the physiology of diapause, cold hardiness and supercooling point of overwintering pupae of the pistachio fruit hull borer, *Arimania comaroffi*. *Journal of Insect Physiology* 58, 897-902.
- Bennett, L. E. & Lee, R. E.** (1989) Simulated winter to summer transition in diapausing adults of the lady beetle (*Hippodamia convergens*): supercooling point is not indicative of cold-hardiness. *Physiological Entomology* 14, 361-367.
- Bürgi, L. P. & Mills, N. J.** (2010) Cold tolerance of the overwintering larval instars of light brown apple moth *Epiphyas postvittana*. *Journal of Insect Physiology* 56, 1645-1650.
- Clark, M. & Worland, M. R.** (2008) How insects survive the cold: molecular mechanisms—a review. *Journal of Comparative Physiology B* 178, 917-933.
- Coyle, D. R., Duman, J. G. & Raffa, K. F.** (2011) Temporal and species variation in cold hardiness among invasive rhizophagous weevils (Coleoptera: Curculionidae) in a northern hardwood forest. *Annals of the Entomological Society of America* 104, 59-67.
- Danks, H. V.** (1996) The wider integration of studies on insects cold-hardiness. *European Journal of Entomology* 93, 383-403.
- Fedorenko, V. P.** (2006) The most important sugar beet pests in Ukraine and integral measures for their control. *Proceeding of the National Academy Science* 110, 21-38.
- Gillyboeuf, N., Anglade, P., Lavenseau, L. & Peypelut, L.** (1994) Cold hardiness and overwintering strategy of the pink maize stalk borer, *Sesamia nonagrioides* Lef (lepidoptera, noctuidae). *Oecologia* 99, 366-373.
- Hammad, S. M., Youssef, K. E. H., & Assem, M. A. H.** (1968) The biology of the sugar-beet mining moth *Scrobipalpa ocellatella* (Boyd) (Lepidoptera:Gelechiidae). *Bulletin de la Societe Entomologique d'Egypte* 52, 49-51.
- Horwath, K. L. & Duman, J. G.** (1982) Involvement of the circadian system in photoperiodic regulation of insect antifreeze proteins. *Journal of Experimental Zoology* 219, 267-270.
- Jo, H. M., & Kim, Y.** (2001) Relationship between cold hardiness and diapause in the smaller fruit tortrix, *Adoxophyes orana* (Fischer von Roslerstamm). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 4, 1-9.
- Kalsta, O. P., Moilonas, P. G. & Savopoulou-Soultani, M.** (2006) Diapause development and cold hardiness of *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera: Gelechiidae) larvae in Greece. *European Journal of Entomology* 103, 541-545.
- Kawarasaki, Y., Teets, N. M., Denlinger, D. L. & Lee, R. E. Jr** (2013) The protective effect of rapid cold-hardening develops more quickly in frozen versus supercooled larvae of the Antarctic midge, *Belgica antarctica*. *The journal of experimental biology* 216, 3937-3945.
- Khani, A., Moharrampour, 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., 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].
- Koštál, V. & Šimek, P.** (1995) Dynamics of cold hardiness, supercooling and cryoprotectants in diapausing and non-diapausing pupae of the cabbage root fly, *Delia radicum* L. *Journal of Insect Physiology* 41, 627-634.
- Koštál, V., Vambera, J. & Bastl, J.** (2004) On the nature of pre-freeze mortality in insects: water balance, ion homeostasis and energy charge in the adults of *Pyrrhocoris apterus*. *Journal of Experimental Biology* 207, 1509-1521.
- Leather, S. R., Walters, K. F. A., & Bale, J. S.** (1993) *Ecology of Insect Overwintering*. 239 pp. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Lee, R. E. Jr** (1989) Insect cold-hardiness: to freeze or not to freeze. *Bioscience* 39, 308-313.
- Lee, R. E. Jr** (1991) Principles of insect low temperature tolerance. pp. 17-46 in Lee, R. E. Jr. & Denlinger, D. L. (Eds) *Insects at low temperature*. Chapman and Hall.
- Lee, R. E. Jr** (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.
- Lee, R. E. Jr, Chen, C. P., & Denlinger, D. L.** (1987) A rapid cold-hardening process in insects. *Science* 238, 1415-1417.
- Van Lenteren, J., Bale, J., Bigler, F., Hokkanen, H. & Loomans, A.** (2006) Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests. *Annual Review of Entomology* 51, 609-634.
- Lu, M. X., Liu, Z. X., Wang, X. & Du, Y. Z.** (2012) Seasonal cold tolerance of *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Annals of the Entomological Society of America* 105, 479-483.
- Marie, S. S.** (2004) Use of the egg parasitoid *Trichogramma evanescens* West for controlling the rib miner, *Scrobipalpa ocellatella* Boyd in sugar beet in Egypt (Lepidoptera: Gelechiidae). *Egyptian Society for Biological Control of Pests* 14 (2), 128-135.
- Nguyen, C., Bahar, M. H., Baker, G. & Andrew, N. R.** (2014) Thermal tolerance limits of diamondback moth in ramping and plunging assays. *PLoS ONE* 9, e87535.
- Potyondi, L., & Kimmel, J.** (2003) Present situation in Hungarian sugarbeet production. Paper presented at the 1st joint 1/RB-ASSBT Congress. San Antonio (USA).
- Robert, P. C. & Blaisinger, P.** (1978) Role of non-host plant chemicals in the reproduction of an oligophagous insect: the beet moth *Scrobipalpa ocellatella* (Lepidoptera: Glechiidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 24, 632-636.
- Saad, A. & El-Abhrawi, A.** (1977) Efficiency of pesticides against sugar-beet borer *Scrobipalpa ocellatella* Boyd in Iraq. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent* 42, 957-960.
- Sabry, K. H., Abdel-Raheem, M. A. & El-Fatih, M. M.** (2011) Efficacy of the entomopathogenic fungi; *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae* on some insect pests under laboratory conditions. *Egyptian Society for Biological Control of Pests* 21, 33-38.
- Saeidi, F., 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.
- Sømme, L.** (1999) The physiology of cold hardiness in terrestrial arthropods. *European Journal of Entomology* 96, 1-10.
- 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.
- Turnock, W. J. & Fields, P. G.** (2005) Winter climates and cold hardiness in terrestrial insects. *European Journal of Entomology* 102, 561-576.

- Valich, N., Vuchajnk, F., Ferenchak, B., Mlinarich, M. & Trdan, S.** (2005) Monitoring of sugarbeet moth (*Scrobipalpa ocellatella* Boyd, Lepidoptera, Gelechiidae) in Slovenia using pheromone traps. *7th Slovenian Conf. Plant Prot., Zrece, Slovenia, 8-10 March 2005.* 454-458.
- Watanabe, M.** (2002) Cold tolerance and myo-inositol accumulation in overwintering adults of a lady beetle, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology* 99, 5-10.
- Zhao, Z.** (1997) Progress in the research on mechanism of insect cold-hardiness. *Insect Science* 4, 265-276.