Archive of SID

دانش گیاهپزشکی ایران
دورهٔ ۴۶، شمارهٔ ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۴ (ص ۲۷۶-۲۶۹)

بررسی زمستان‌گذرانی و تحمل به سرما در شفیره‌های سفیدهٔ بزرگ کلم، *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae) در ایران

مریم عطاپور*
استادیار، پژوهشکدهٔ کشاورزی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، گروه تولیدات گیاهی، آزمایشگاه حشره‌شناسی کاربردی. تهران، ایران، صندوق پستی ۱۱۱-۳۳۵۳۵

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۲۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۱/۱۲)

چکیده

سفیدهٔ بزرگ کلم *Pieris brassicae* از آفات مهم کلمیان است که زمستان را به صورت شفیره در پناهگاه‌های مختلف به‌سرمی‌برد. با افزایش سطح زیرکشت دانه‌های روغنی بر اهمیت این آفت در کشور افزوده شده است. با وجود این، در خصوص چگونگی زمستان‌گذرانی این آفت اطلاعات بسیار ناچیزی در دست است. لذا، در این مطالعه شفیره‌های زمستان‌گذران طی ماه‌های‌های آبان ۱۳۹۱ تا فروردین ۱۳۹۲ جمع‌آوری شد و وضعیت دیاپوزی، نقطهٔ انجماد بدن (SCP)، میزان تحمل به دماهای پایین (۱۰-، ۱۵-، ۲۰-، ۲۵- و ۳۰- درجهٔ سلسیوس)، همچنین دمای کشندهٔ ۵۰ و ۸۰ درصد جمعیت ($Ltemp_{50}$ و $Ltemp_{80}$) مطالعه شد. نتایج نشان داد که شفیره‌ها طی سه ماه زمستان در فاز اصلی دیاپوزند و اوج سرماسختی و تحمل به دماهای پایین نیز در این سه ماه مشاهده شد. همچنین، نقطهٔ انجماد به طور معناداری در این سه ماه کاهش یافت و $Ltemp_{50}$ و نقطهٔ انجماد در این زمان بسیار به هم نزدیک شد. به این‌ترتیب مشخص شد که شفیره‌های این آفت از راهبرد اجتناب از یخ‌زدگی بهره می‌برد و دیاپوز و سرماسختی در این آفت به طور کامل بر هم منطبق است. لذا، اوج سرماسختی را در عمق دیاپوز این حشره می‌توان انتظار داشت.

واژه‌های کلیدی: **دیاپوز، سرماسختی، سفیدهٔ بزرگ کلم،** $Ltemp_{50}$، *Pieris brassicae*.

مقدمه

تغییرات فصلی دما یکی از مهم‌ترین مسائلی است که حشرات ساکن مناطق معتدل باید چرخهٔ زندگی خود را با آن سازگار کنند. دماهای پایین بر اساس میزان شدت و مدت زمانی که حشره در معرض آن‌ها قرارمی‌گیرد زندگی حشرات را تحت تأثیر قرارمی‌دهد. زمستان گذرانی[1] نوعی رکود رشدی است که در اثر دماهای پایین‌تر از دمای بهینه به وقوع می‌پیوندد و چون این شرایط در طبیعت و در مناطق معتدل بیشتر در زمستان رخ می‌دهد به این نام مرسوم شده است. (Denlinger, 1991; Danks, 2006; Kostal, 2006; Lee, 2010).

واژهٔ cold-hardiness یا cold hardening که معادل سرماسختی یا تحمل به سرما شناخته می‌شود، ظرفیت حشره در افزایش میزان تحمل به دماهای پایین شناخته می‌شود. در شرایط طبیعی و جمعیت‌های صحرایی حشرات، سرماسختی روند آرامی دارد و ممکن است هفته‌ها یا ماه‌ها طول بکشد و طی

* تلفن: ۰۹۱۲۲۵۷۵۸۰۱
Email: atapour@irost.org

1. Hibernation

www.SID.ir

Archive of SID

آن تحمل حشره در برابر دماهای پایین به تدریج افزایش یابد (Bale, 1989; Lee, 2010).

در بیشتر مطالعات بر اساس توانایی تحمل یخ در بدن و تغییرات نقطهٔ انجماد، حشرات به دو گروه متحمل به یخزدگی[1] و غیرمتحمل به یخزدگی[2] تقسیم می‌شوند (Lee, 1991). بسیاری از حشرات جزء گروه غیرمتحمل به یخزدگی هستند. این گروه از حشرات در صورت یخزدن آب بافت‌های بدن، از بین می‌روند. به همین منظور با افزایش ظرفیت فراسرمایی[3] و کاهش نقطهٔ انجماد (SCP) [4] سعی می‌کنند از یخزدن بدن اجتناب کنند. در مقایسه با گروه اول گروه کوچک‌تری از حشرات از راهبرد تحمل به یخزدگی بهره می‌برند. این چنین حشراتی با به‌کارگیری برخی سازوکارهای فیزیولوژیایی خاص حتی در صورت یخزدن بافت‌های بدن و در دماهایی پایین‌تر از نقطهٔ انجماد خود زنده می‌مانند (Layne & Kuharsky, 2000).

پروانهٔ سفیدهٔ بزرگ کلم *Pieris brassicae* (L.) (Lep: Pierridae) از آفات مهم کلمیان است که به انواع کلم آسیب می‌رساند. به‌ویژه در استان‌های گیلان و مازندران به‌خصوص در شهرستان‌های بابل، قائمشهر، رامسر و تنکابن از مهم‌ترین آفات سبزی و صیفی است. این آفت زمستان را به صورت شفیره در پناهگاه‌های مختلف به‌سرمی‌برد و در فصل بهار به محض گرم‌شدن هوا، پروانه‌ها ظاهر می‌شوند و پس از تغذیه از شیرهٔ گل‌ها و جفت‌گیری در هر نوبت یک دسته تخم ۲۰ الی ۳۰ عددی روی برگ گیاهانی مانند شلغم و ترب قرارمی‌دهند. مجموع تخم‌ها ممکن است تا ۲۰۰ عدد هم برسد. تخم‌ها پس از پنج تا هشت روز بازمی‌شود و لاروهای کوچک برای مدتی به طور دسته‌جمعی زندگی می‌کنند و از قسمت‌های لطیف برگ‌ها تغذیه می‌کنند (Khanjani, 2006). لاروها به تدریج که بزرگ‌تر می‌شوند زندگی دسته‌جمعی را ترک می‌کنند و پخش می‌شوند. لاروهای درشت ضمن تغذیه از برگ‌های کلم فقط رگبرگ‌های بزرگ‌تر را به‌جا می‌گذارند. لارو دارای سه سن لاروی است. دورهٔ لاروی حدود دو هفته طول می‌کشد. وقتی لارو کامل شد، برای شفیره‌شدن خود را به اشیای مجاور اعم از چوب و نظایر آن محکم می‌کند و با چند تار ابریشم به اشیای مزبور وصل و سپس تبدیل به شفیره می‌شود. دورهٔ شفیرگی حدود یک تا دو هفته طول می‌کشد. نوع میزبان این آفت روی دوره‌های سنی و میزان تفریخ تخم‌ها اثر معناداری دارد (Singh Chahil & Singh Kular, 2013). به‌طور کلی، این حشره در سال دو تا چهار نسل دارد و از نسل دوم به بعد به انواع کلم حمله می‌کند. اگر مبارزهٔ مؤثری با آن صورت نگیرد، گاهی تمام محصول مزرعه را از بین می‌برد. همچنین، لاروها علاوه‌بر خسارت مستقیم، با فضولات خود که به مقدار زیاد در لابه‌لای بوتهٔ کلم ریخته می‌شود باعث آلودگی می‌شوند و محصول را غیرقابل‌مصرف می‌کنند (Feltwell, 1982). با افزایش سطح زیرکشت دانه‌های روغنی نظیر کلزا، بر اهمیت این آفت در کشور افزوده شده است (Mehrkhou *et al*., 2013).

در مطالعات گذشته دربارهٔ زمستان‌گذرانی این آفت به طور خلاصه مشخص شده است که دو ماه تیمار دمای ۴ درجهٔ سلسیوس ۱۴ روز پس از شفیره‌شدن سبب بروز تغییرات فیزیولوژیکی مرتبط با القای دیاپوز در آن می‌شود. همچنین، سوربیتول یکی از ترکیبات مهم محافظ سرما در شفیره‌های زمستان‌گذران این آفت است. نقش برخی آنزیم‌ها در تغییر و تبدیل منابع کربوهیدراتی طی دورهٔ زمستان در این حشره بررسی شده است (Fourche *et al*., 1979; Somme & Velle, 1982). با توجه به افزایش اهمیت این آفت در کشورهای همجوار نظیر ترکیه- که خسارت آن به ۴۰ درصد نیز می‌رسد (Molet, 2011) و با توجه به نبودن اطلاعات کافی و جدید در مورد فاز زمستان‌گذرانی و تحمل به سرمای این آفت، در مطالعهٔ حاضر تغییرات نقطهٔ انجماد شفیره‌های‌های زمستان‌گذران و میزان تحمل آن‌ها در دماهای پایین در ماه‌های مختلف بررسی شد تا راهبرد سرماسختی و میزان تحمل آفت در برابر دماهای پایین مشخص شود.

1. Freeze intolerant
2. Freeze intolerant
3. Supercooling capacity
4. Supercooling point

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری حشرات زمستان‌گذران، توزین و تفکیک نمونه‌های دیاپوزی از غیردیاپوزی

شفیره‌های سفیدهٔ بزرگ کلم طی ماه‌های آبان ۱۳۹۱ تا فروردین ۱۳۹۲ به طور ماهانه (دهم هر ماه) از مزارع کلزای گرگان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. برای اطمینان از وضعیت دیاپوز شفیره‌ها از روش غوطه‌وری آن‌ها در آب استفاده شد. در این روش شفیره‌هایی که در آب غرق شدند شفیره‌های دیاپوزی و شفیره‌هایی که روی آب شناور ماندند شفیره‌های غیردیاپوزی منظور شدند (Kaneko & Katagiri, 2006). تعداد سی شفیرهٔ جمع‌آوری‌شده در آبان به طور دقیق توزین شد و هر کدام به‌طور مشخص داخل ظرفی در بیرون گذاشته شد. این شفیره‌ها مجدداً در اسفند ماه توزین شد. اطلاعات هواشناسی نیز از ایستگاه هواشناسی گرگان به دست آمد.

اندازه‌گیری نقطهٔ انجماد بدن

شفیره‌های زمستان‌گذران پس از انتقال به آزمایشگاه ابتدا وزن شد. سپس، انتهای سنسورهای تیپ K دستگاه ثبت‌کنندهٔ دما (Tes 1384, Datalogger 4 Input Thermometer, Taiwan) با چسب نواری روی سطح شکمی بدن حشره ثابت و نمونه‌ها درون دستگاه تست چمبر (Binder MKF 240, Germany) از دمای ۲۰ تا ۳۰- درجهٔ سلسیوس با سرعت ۰/۵ درجهٔ سلسیوس در دقیقه سرد شد. با رسیدن دمای بدن حشره به زیر صفر درجهٔ سلسیوس، کاهش تدریجی دما با نرم‌افزار مخصوص دستگاه ثبت‌کنندهٔ دما، در فواصل زمانی ۳۰ ثانیه‌ای ثبت شد. پایین‌ترین دمایی که در آن دما در اثر آزادشدن گرمای درونی بدن حشره، افزایش ناگهانی دما مشاهده شد، نقطهٔ انجماد بدن درنظر گرفته شد (Atapour & Moharramipour, 2009; Kristiansen *et al*., 2009). بعد از اندازه‌گیری نقطهٔ انجماد بدن، شفیره‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط نگه داشته و آنگاه بقای آن‌ها بررسی شد. حرکت‌دادن قسمت انتهایی شکم شفیره‌ها ملاک بقا در نظر گرفته شد (Moreau *et al*., 1981).

بررسی میزان تلفات در دمای پایین

در نمونه‌برداری ماهیانه در طول پاییز و زمستان و بهار از ده شفیره (به عنوان ده تکرار) برای آزمایش در هر دما استفاده شد. شفیره‌ها درون لوله‌های آزمایش به حجم ۱۵ میلی‌لیتر قرار داده شد و درون دستگاه سیرکولاتور به تدریج با سرعت ۰/۵درجهٔ سلسیوس در دقیقه از ۲۰ درجهٔ سلسیوس تا دماهای مورد نظر (۱۰-، ۱۵-، ۲۰-، ۲۵- و ۳۰- درجهٔ سلسیوس) سرد شد. سپس، در دمای مورد آزمایش، ۲۴ ساعت نگهداری شد. انتخاب این دماها بر اساس اندازه‌گیری نقطهٔ انجماد بدن شفیره‌ها در آزمایش‌های مقدماتی بود. پس از آن نمونه‌ها به تدریج با سرعت ۰/۵ درجهٔ سلسیوس در دقیقه گرم و به ۲۵ درجهٔ سلسیوس رسانده شد. بعد از ۲۴ ساعت نگهداری حشرات کامل در این دما میزان تلفات با توجه به حرکت انتهای شکمی حشره تعیین شد. شفیره‌های مرده در این زمان علاوه بر نداشتن تحرک، با علایمی نظیر نرم‌شدن بدن یا تغییر رنگ غیرطبیعی کاملاً از شفیره‌های سالم تفکیک‌پذیر بود.

تعیین دمای حداقل کشنده Lower Lethal Temperature ($Ltemp_{50}$, $Ltemp_{80}$)

از داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش قبل برای محاسبهٔ دماهای پایین کشنده به‌ترتیب برای مرگ ۵۰ و ۸۰ درصد از جمعیت ($Ltemp_{50}$ و $Ltemp_{80}$) استفاده شد. مقادیر بالا به کمک معادلهٔ رگرسیونی مدل لجیستیک (Binary Logistic) محاسبه شد (Saeidi *et al*., 2012).

تجزیهٔ آماری

اطلاعات به‌دست آمده به صورت میانگین ± خطای معیار گزارش شد. تجزیهٔ داده‌ها با کمک آزمون t (Independent samples t-test) و تجزیهٔ واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. مقایسهٔ میانگین داده‌های مختلف با کمک آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18.0 (SPSS Inc., 2009) انجام گرفت.

www.SID.ir

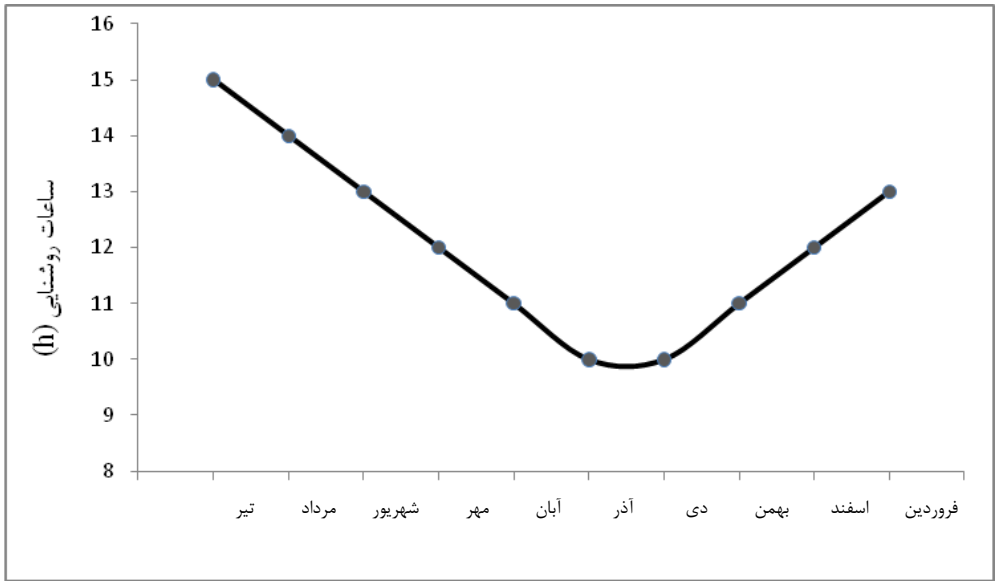
Archive of SID

نتایج و بحث

در هر ماه پس از جمع‌آوری شفیره‌ها و انتقال آن‌ها به آزمایشگاه، ابتدا آزمون غوطه‌وری آن‌ها در آب انجام پذیرفت. اکثر شفیره‌های جمع‌آوری‌شده در آبان (بیش از ۸۰ درصد)، آذر ۱۳۹۱ و فروردین ۱۳۹۲ روی آب شناور ماندند. این در حالی بود که تقریباً همهٔ شفیره‌های سه ماه دی، بهمن و اسفند ۱۳۹۱ در آب غرق شدند.

هر چند بیشتر حشرات زمستان‌گذران زمان ورود به مرحلهٔ دیاپوز فاقد علایم خاصی است اما دیاپوز در برخی حشرات با علایم مشخصی همراه است. برای مثال، در کرم غوزهٔ پنبه *Helicoverpa armigera* (Hubner) ایجاد لکه‌های چشمی در شفیره‌های دیاپوزی مشخصه‌ای برای دیاپوز محسوب می‌شود (Hanif *et al*., 2000). تغییر در رنگ و شکل حشرات دیاپوزی و غیردیاپوزی در پروانه‌ها بیشتر به چشم می‌خورد. برای مثال، در پروانهٔ *Papilio xuthus* L. شفیره‌های دیاپوزی قهوه‌ای رنگ و کوچک‌تر از شفیره‌های غیردیاپوزی سبزرنگ است (Tanaka & Tsubaki, 1984). از نظر ظاهری شفیره‌های دیاپوزی سفیدهٔ بزرگ کلم تنها با نداشتن یک ردیف خار بسیار ریز در سطح پشتی خود از شفیره‌های غیردیاپوزی تفکیک می‌شود (Hazel & West, 1983). با این حال Kaneko & Katagiri (2006) مشخص کردند که شفیره‌های دیاپوزی این حشره به دلیل حفرهٔ داخلی کوچک‌تر بین قفسهٔ سینه و شکم، وزن مخصوص بالای ۱/۰ دارند. در نتیجه در آب غرق می‌شوند در حالی که شفیره‌های غیردیاپوزی حفرهٔ بزرگ‌تری دارند و وزن مخصوص آن‌ها کمتر از ۱ است. در نتیجه روی آب شناور می‌مانند و اثبات شد که این روش راه مطمئنی برای تشخیص وضعیت دیاپوز این حشره به کار می‌رود. به این ترتیب، با توجه به غرق‌شدن شفیره‌های جمع‌آوری شده در سه ماه دی، بهمن و اسفند، به نظر می‌رسد که شفیره‌های زمستان‌گذران سفیدهٔ بزرگ کلم در سه ماه زمستان در مرحلهٔ اصلی دیاپوز به سر می‌برند.

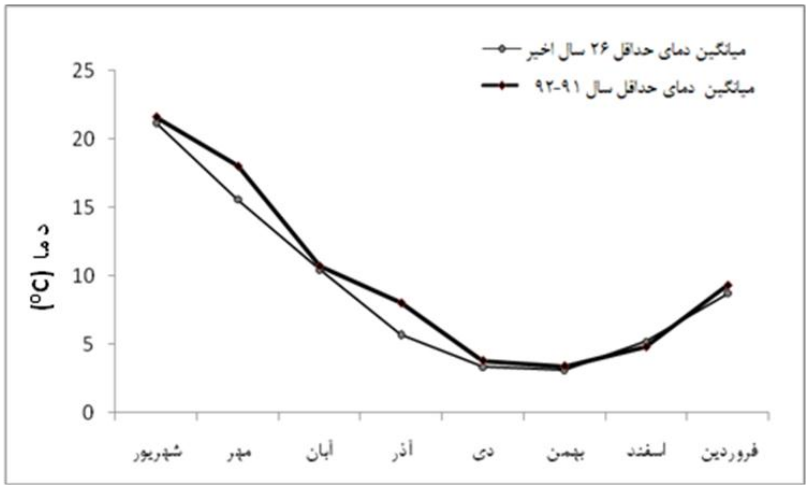
بررسی ساعت‌های روشنایی و تاریکی گرگان نشان داد که پس از تیر ماه ساعات روشنایی از ۱۵ ساعت به تدریج کاهش می‌یابد و کمترین مدت روشنایی مربوط به ماه‌های آذر و دی با ۱۰ ساعت است (شکل ۱). در مطالعات گذشته روی این حشره مشخص شد، چنانچه لاروهای سن ۲ یا ۳ این حشره با دوره‌های روشنایی کمتر از ۱۵ ساعت مواجه شود دیاپوزی در شفیره‌های آن‌ها القا می‌شود که حدود پنج ماه به طول می‌انجامد (Jogar *et al*., 2005). همچنین، همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است میانگین حداقل دما از حدود آذر ماه به زیر ۵ درجهٔ سلسیوس کاهش می‌یابد که دمای مناسب برای آغاز دیاپوز است.



شکل ۱. تغییرات ساعات روشنایی طی ماه‌های تیر ۱۳۹۱ تا فروردین ۱۳۹۲ گرگان

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲. تغییرات میانگین دمای حداقل طی ماه‌های شهریور تا فروردین سال‌های ۱۳۶۳ الی ۱۳۸۹ (۲۶ سال) و سال ۹۲-۱۳۹۱ گرگان

به این ترتیب، با توجه به ساعات روشنایی گرگان، به نظر می‌رسد القای دیاپوز در لاروهای سنین بالاتر از اواسط تابستان به وقوع بپیوندد که دورهٔ روشنایی رو به کاهش می‌رود. سپس، شفیره‌ها بین ماه‌های آبان تا آذر در مرحلهٔ «پیش‌دیاپوز» است و برای واردشدن به مرحلهٔ اصلی دیاپوز طی سه ماه زمستان آماده می‌شود. بنابراین، به‌طور کلی، پنج ماه دیاپوز این شفیره‌ها، از آبان تا اسفند ماه به طول می‌انجامد.

میانگین وزن ۳۰ شفیرهٔ جمع‌آوری‌شده در آبان که هنوز وارد فاز اصلی دیاپوز خود نشده بودند ۰/۰۰۹±۴۱۳ میلی‌گرم و میانگین وزن همان شفیره‌ها در اسفند ماه ۰/۰۰۸±۳۹۵ میلی‌گرم بود. با وجود کمی کاهش، این کاهش معنادار نبود (P=۰/۱۶۵، t_{58}=۱/۴۰۷). به این‌ترتیب به نظر می‌رسد با توجه به اینکه در طول دیاپوز سطح سوخت‌وساز بدن به شدت کاهش پیدا می‌کند، کاهش چشمگیری در وزن حشره به وقوع نمی‌پیوندد هرچند مطالعات دیگر نشان داده‌اند که طی این دوره تغییر و تبدیل‌های معناداری در راستای افزایش ظرفیت سرماسختی حشره به وقوع می‌پیوندد (Lee, 2010). در بررسی‌های انجام‌گرفته روی تغییرات وزن شفیره‌های سفیدهٔ بزرگ کلم که در آزمایشگاه پرورش یافته بود، مشخص شد که شفیره‌های دیاپوزی ۲۴ درصد سنگین‌تر از شفیره‌های غیردیاپوزی است (Pullin & Bale, 1989a). به نظر می‌رسد بازهٔ زمانی اندازه‌گیری وزن در مطالعهٔ ما کوتاه باشد و شفیره‌های جمع‌آوری‌شده در آبان دچار تغییرات لازم از قبل شده بود. همچنین، به نظر می‌رسد چنانچه این شفیره‌ها با شفیره‌های نسل بهاره از نظر وزنی مقایسه می‌شد شاید نتایج ملموس‌تری به دست می‌آمد.

نقطهٔ انجماد بدن شفیره‌های زمستان‌گذرانی که بلافاصله پس از جمع‌آوری و انتقال به آزمایشگاه اندازه‌گیری شد طی ماه‌های مختلف به طور معناداری تغییر کرد (P<۰/۰۰۱، $F_{5,30}$=۱۱/۰۵). بالاترین نقطهٔ انجماد در اولین ماه نمونه‌برداری (آبان ماه) با رقم ۰/۹۳±۱۷/۷- ثبت شد و به‌تدریج کاهش یافت؛ به طوری‌که کمترین نقطهٔ انجماد در بهمن ماه ۰/۳۵±۲۵/۵- درجهٔ سلسیوس ثبت شد؛ پس از آن مجدداً افزایش یافت (شکل ۳). در حشراتی که از راهبرد اجتناب از یخ‌زدگی بهره می‌برند طی ماه‌های سرد به‌تدریج با کاهش نقطهٔ انجماد، ظرفیت فوق سرمای[1] آن‌ها افزایش می‌یابد. بنابراین، این دسته از حشرات به طور مشخص با سردشدن هوا دچار کاهش نقطهٔ انجماد می‌شوند. این در حالی است که حشراتی که از راهبرد تحمل یخ‌زدگی بهره می‌برند، به‌طور کلی در ماه‌های زمستان نقطهٔ انجماد آن‌ها بالاست (حدود ۱۰- درجه) (Sinclair, 1999 & 2001).

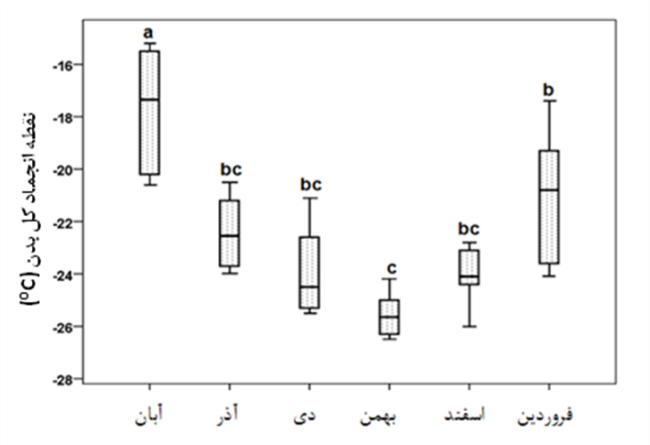
همان‌طور که شکل ۴ نشان می‌دهد، درصد بقای شفیره‌ها در ماه‌های مختلف در دو دمای ۱۰- و ۱۵-

1. Supercooling capacity

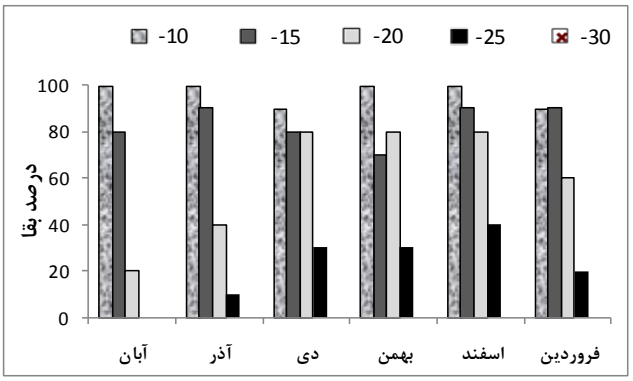
www.SID.ir

Archive of SID

درجه به‌طور کلی بالاست. این دو دما بالاتر از نقطهٔ انجماد شفیره‌ها حتی در ماه‌های ابتدایی جمع‌آوری است. اما در دو دمای ۲۰- و ۲۵- درجه مشاهده شد که در ماه‌های ابتدایی درصد بقا بسیار پایین است، به‌ویژه در سه ماه زمستان، با کاهش نقطهٔ انجماد بدن و در نتیجه افزایش ظرفیت سرماسختی، افزایش چشمگیری داشت. همچنین، هیچ نمونه‌ای در دمای ۳۰- درجهٔ سلسیوس زنده نماند که دمایی پایین‌تر از کمترین نقطهٔ انجماد به‌دست‌آمدهٔ شفیره‌ها (۲۵/۵- درجه در بهمن ماه) بود. به این ترتیب، با توجه به پایین‌آمدن نقطهٔ انجماد این حشره در سردترین ماه‌ها، همچنین افزایش ظرفیت سرماسختی و بقای آن‌ها در این زمان، مشخص می‌شود که این آفت از راهبرد اجتناب از یخ‌زدگی بهره می‌برد.



شکل ۳. تغییرات نقطهٔ انجماد (SCP) در شفیره‌های زمستان‌گذران *P. brassicae* جمع‌آوری‌شده طی ماه‌های آبان ۱۳۹۱ تا فروردین ۱۳۹۲. حروف مشابه نشان‌دهندهٔ عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد در گروه‌بندی Tukey است.



شکل ۴. درصد بقا در شفیره‌های زمستان‌گذران *P. brassicae* جمع‌آوری‌شده طی ماه‌های آبان ۱۳۹۱ تا فروردین ۱۳۹۲ پس از ۲۴ ساعت تیمار در دماهای ۱۰-، ۱۵-، ۲۰-، ۲۵- و ۳۰- درجهٔ سلسیوس. هیچ نمونه‌ای در دمای ۳۰- درجه زنده نماند.

محاسبهٔ مرگ ۵۰ درصد از افراد در دمایی مشخص ($Ltemp_{50}$)، شاخص مناسبی برای میزان تحمل حشره نسبت به دماهای پایین و سرمای زمستان است و کمترین خطا در آن مشاهده می‌شود (Turnock & Fields, 2005). نزدیک‌شدن دمای $Ltemp_{50}$ به نقطهٔ انجماد بیانگر افزایش میزان تحمل و کاهش امکان مرگ پیش از یخ‌زدگی است. همان‌طور که در جدول ۱ مشخص است میزان $Ltemp_{50}$ به طور معناداری از آبان کاهش می‌یابد و به پایین‌ترین حد خود در اسفند ماه (۲۳/۱- درجه) می‌رسد. در واقع، به مقدار نقطهٔ انجماد بدن بسیار نزدیک می‌شود و البته پس از آن در فروردین به طور معکوس افزایش می‌یابد. به این‌ترتیب مشخص می‌شود که شفیره‌های زمستان‌گذران سفیدهٔ بزرگ کلم قادرند جمعیت

www.SID.ir

Archive of SID

مناسبی از خود را در دماهای پایینی نزدیک نقطهٔ انجماد خود حفظ کنند، اما دماهای پایین‌تر از نقطهٔ انجماد سبب تلفات بالایی در آن‌ها می‌شود. علاوه‌بر $Ltemp_{50}$ که میزان دمای کشنده برای ۵۰ درصد جمعیت را نشان می‌دهد، در برخی منابع $Ltemp_{80}$ نیز مطرح شده است به این دلیل که تصور می‌شود دمایی که در آن ۸۰ درصد تلفات در جمعیت ایجاد می‌گردد در شرایط طبیعی قابل‌اطمینان‌تر از دمایی است که ۹۰ درصد تلفات ایجاد می‌کند (Powell & Bale, 2004; Jakobs, 2014). همان‌طور که در جدول ۱ مشخص است، دماهای حدود ۲۶- تا ۲۷- درجه حتی در ماه‌های زمستان و اوج سرماسختی حشره سبب تلفات ۸۰ درصد جمعیت می‌شود ($Ltemp_{80}$). به این ترتیب می‌توان انتظار داشت، چنانچه در طبیعت دما به زیر نقطهٔ انجماد بدن شفیره‌های پروانهٔ سفیدهٔ بزرگ کلم، به‌ویژه به محدودهٔ ۲۶- تا ۲۷- درجهٔ سلسیوس برسد تلفات زیادی در جمعیت آن رخ خواهد داد و در نسل بعدی می‌توان جمعیت پایین‌تری از آفات را انتظار داشت.

جدول ۱. دمای حداقل کشنده (L_{temp50} و L_{temp80}) و حدود اطمینان بالا و پایین آن‌ها در شفیره‌های زمستان‌گذران *P. brassicae* از آبان ۱۳۹۱ تا فروردین ۱۳۹۲ با استفاده از معادلهٔ رگرسیونی مدل لجیستیک

Months	n	L_{temp50} (Lower, Upper) (°C) [1, 2]	L_{temp80} (Lower, Upper)(°C) [1, 2]
آبان	۱۰	-۱۷/۵ (-۱۷/۶ , -۱۷/۱) a	-۱۹/۷ (-۲۲/۴ , -۱۹/۰) a
آذر	۱۰	-۱۹/۵ (-۱۹/۶ , -۱۹/۱) b	-۲۲/۴ (-۲۵/۵ , -۲۱/۵) a
دی	۱۰	-۲۱/۶ (-۲۱/۷ , -۲۱/۳) d	-۲۶/۷ (-۳۲/۰ , -۲۵/۱) a
بهمن	۱۰	-۲۱/۶ (-۲۱/۷ , -۲۱/۳) d	-۲۶/۲ (-۳۰/۸ , -۲۴/۷) a
اسفند	۱۰	-۲۳/۱ (-۲۳/۱ , -۲۲/۸) e	-۲۶/۶ (-۳۰/۴ , -۲۵/۴) a
فروردین	۱۰	-۲۰/۵ (-۲۰/۷ , -۲۰/۰) c	-۲۴/۹ (-۲۸/۸ , -۲۳/۶) a

1. 95% lower and upper confidence limits are shown in parenthesis.
2. Values followed by the same letters in a column are not significantly different if their 95% confidence intervals overlap.

نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها

نتایج این مطالعه مشخص کرد که شفیره‌های سفیدهٔ بزرگ کلم در ماه‌های سرد زمستان از راهبرد اجتناب از یخزدگی بهره می‌برند و با پایین‌آوردن نقطهٔ انجماد، ظرفیت سرماسختی خود را بالا می‌برند و قادرند دماهایی نزدیک نقطهٔ انجماد خود را تحمل کنند. در این مطالعه تنها زمان ۲۴ ساعت در معرض چنین دماهای پایینی بررسی شد و امکان دارد افزایش این زمان حتی در دماهایی بالاتر نتایج متفاوتی به دنبال داشته باشد. در مطالعهٔ Pullin & Bale (1989b) در خصوص تحمل به دماهای پایین این حشره، مشخص شد که شفیره‌های غیردیاپوزی تیمارهای کوتاه‌مدت دمای ۱۵- درجه را تحمل می‌کنند. بنابراین، مشخص شد که شفیره‌های غیردیاپوزی در کوتاه‌مدت برای تحمل به دماهای پایین نیازی به غلظت‌های زیاد ترکیبات محافظ سرما[1] ندارند. با وجود این، مشخص شد که این شفیره‌های غیردیاپوزی قادر به تحمل تیمارهای طولانی‌مدت دماهای پایین نیستند، در حالی که شفیره‌های دیاپوزی قادرند این شرایط را تحمل کنند. به این‌ترتیب پیشنهاد می‌شود در مطالعات تکمیلی علاوه بر دامنهٔ دماها، تأثیر مدت زمان و حتی نرخ کاهش دما در بقای شفیره‌های زمستان‌گذران این آفت بررسی شود.

REFERENCES

1. Atapour, M. & Moharramipour, S. (2009). Changes of cold hardiness, supercooling capacity, and major cryoprotectants in overwintering larvae of *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology*, 38, 260-265.
2. Bale, J. S. (1989). Cold hardiness and overwintering of insects. *Agricultural Zoology Reviews*, 3, 157-192.
3. Danks, H. V. (2006). Insect adaptations to cold and changing environments. *Canadian Entomologist*, 138, 1-23.
4. Denlinger, D. L. (1991). Relationship between cold hardiness and diapause, In: R. E. Lee and D. L. Denlinger, (Eds.) *Insect at Low Temperature*. Chapman and Hall, New York. pp. 174-198.

1. Cryoprotectants

www.SID.ir

Archive of SID

5. Feltwell, J. (1982). *Large White Butterfly, the Biology, Biochemistry and Physiology of Pieris brassicae (Linn.)*. The Hague, Netherlands. Dr. W. Junk Publishers, 535 pp.
6. Fourche, J., Bosquet, G., Guillet, C. & Calvez, B. (1979). Cold acclimation during the wintering of diapausing pupae of *Pieris brassicae*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 62(A), 357-362.
7. Hanif, M., Murai, T., Yoshida, H. & Tsumuki, H. (2000). Populational variation in diapause-induction and -termination of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied Entomology Zoology*, 35(3), 357-360.
8. Hazel, W.N. & West, D.A. (1983). The effect of larval photoperiod on pupal colour and diapause in swallowtail butterflies. *Ecological Entomology*, 8, 37-42.
9. Jakobs R. (2014). Low temperature tolerance of adult *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). Electronic Thesis and Dissertation Repository. Western University. 93 pp.
10. Jõgar, K., Metspalu, L., Hiiesaar, K., Luik, A., Martin, A.-J., Mänd, M., Jaaniso, R. & Kuusik, A. (2005). Physiology of diapause in pupae of *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera: Pieridae). *Agronomy Research*, 3(1), 21-37.
11. Kaneko, J. & Katagiri, C. (2006). A simple method to discriminate diapause from non-diapause pupae in large and small white butterflies, *Pieris brassicae* and *P. rapae* crucivora. *Naturwissenschaften*, 93(8), 393-396.
12. Khanjani, M. (2006) *Vegetable pests in Iran*. Bu-Ali Sina University Publication, 2nd Edition. 467 pp. (in Farsi)
13. Kostal, V. (2006). Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of Insect Physiology*, 52, 113-127.
14. Kristiansen, E., Pedersen, S., Ramlov, H. & Zachariassen, K. E. (1999). Antifreeze activity in the cerambycid beetle *Rhagium inquisitor*. *Journal of Comparative Physiology B*, 169, 5-60.
15. Layne, J. R., Jr. & Kuharsky, D. K. (2000). Triggering of cryoprotectant synthesis in the woolly bear caterpillar (*Pyrrharctia isabella* Lepidoptera: Arctiidae). *Journal of Experimental Zoology*, 286, 367-371.
16. Lee, R. E. (2010). A primer on insect cold-tolerance. In: D. L. Denlinger, and R. E. Lee, (Eds.) *Low Temperature Biology of Insects*. 390 pp. Cambridge University Press. pp. 3-34.
17. Lee, R. E. (1991). Principles of insect low temperature tolerance. In: Lee, R. E. and D. L. Denlinger, (Eds.) *Insect at Low Temperature*. New York, Chapman and Hall. pp. 17-46.
18. Mehrkhou, F., Mahmoodi, L. & Mouavi, M. (2013). Nutritional indices parameters of large white butterfly *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae) on different cabbage crops. *African Journal of Agricultural Research*, 8(25), 3294-3298.
19. Molet, T. (2011). CPHST Pest Datasheet for *Pieris brassicae*. *USDA-APHIS-PPQCPHST*. 10 pp.
20. Moreau, R., Olivier, D., Gourdoux, L. & Dutrieu, J. (1981) .Carbohydrate metabolism in *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera); variations during normal and diapausing development. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 68(B), 95-99.
21. Powell S.J.L. & Bale, J.S. (2004). Cold shock injury and ecological costs of rapid cold hardening in the grain aphid *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Insect Physiology*, 50(4), 277-84.
22. Pullin, A. S. & Bale, J. S. (1989a). Effects of ecdysone, juvenile hoemone and hemolymph transfer on cryoprotectant metabolism in diapausing and non-diapausing pupae of *Pieris brassicae*. *Journal of Insect Physiology*, 35(12), 911-918.
23. Pullin, A. S. & Bale, J.S. (1989 b). Influence of diapause and temperature on cryoprotectant synthesis and cold hardiness in pupae of *Pieris brassicae*. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 94, 499-503.
24. 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.
25. Sinclair, B.J. (1999). Insect cold tolerance: how many kinds of frozen? *European Journal of Entomology*, 96, 157-164.
26. Sinclair, B.J. (2001). Field ecology of freeze tolerance: interannual variation in cooling rates, freeze-thaw and thermal stress in the microhabitat of the alpine cockroach *Celatoblatta quinquemaculata*. *Oikos*, 93, 286-293.
27. Singh Chahil, G. & Singh Kular, J. (2013). Biology of *Pieris brassicae* on different brassica species in the plants of Punjab. *Journal of Plant Protection Research*, 53(1), 53-59.
28. Somme, L. & Velle, W. (1982). Polyol dehydrogenase in diapausing pupae of *Pieris brassicae*. *Journal of Insect Physiology*, 14, 135-143.
29. SPSS Inc. (2009) PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc.
30. Tanaka, K. & Tsubaki, Y. (1984). Seasonal dimorphism, growth and food consumption in the swallowtail butterfly *Papilio xuthus* L. *Kontyu*, 52, 390-398.
31. Turnock, W.J. & Fields, P.G. (2005). Winter climates and cold hardiness in terrestrial insects. *European Journal of Entomology*, 102, 561-576.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Journal of Plant Protection, Vol. 46, No. 2, Autumn & Winter 2015-2016

Overwintering and cold tolerance in pupae of large cabbage white, *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae) in Iran

Maryam Atapour*
Assistant Professor, Institute of Agriculture, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST).
P.O. Box: 33535111, Tehran, Iran
(Received: Sep. 14, 2015 - Accepted: Feb. 1, 2016)

ABSTRACT

Large cabbage white, *Pieris brassicae*, is a major pest of Brassicaceae family which overwinters as pupa on different shelters. In spite of increase in oilseed cropping area, there is little information available about its overwintering condition. In this study, overwintering pupae were collected during November 2012 to April 2013 and the diapause conditions, the whole body supercooling point (SCP), cold tolerance at subzero low temperatures (-10, -15, -20, -25 and -30°C) as well as lower lethal temperatures ($Ltemp_{50}$ and $Ltemp_{80}$) were investigated. The results showed that these pupae were in the main phase of diapause during three months of winter when the highest level of cold-hardiness capacity was observed. Also, the SCPs were significantly decreased and reached near to $Ltemp_{50}$ at this time. Therefore, it could be concluded that these pupae use freeze avoidance strategy and there is a close linkage between diapause and cold-hardiness in this species, so, the highest level of cold tolerance could be expected during the deep phase of diapause in winter.

Keywords: large cabbage white, *Pieris brassicae*, diapause, cold-hardiness, $Ltemp_{50}$.

* Corresponding author E-mail: atapour@irost.org Tel: +98 912 2575801

www.SID.ir