

امکان ذخیره‌سازی حشرات کامل کفشدوزک *Cryptolaemus montrouzieri* در دمای پاییننگار شهریاری<sup>۱</sup>، علی افشاری<sup>۱\*</sup>، همت دادپور مغاللو<sup>۲</sup>، احمد ندیمی<sup>۱</sup>

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- آزمایشگاه تحقیقات کنترل بیولوژیک، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی،

آمل، ایران

\* مسئول مکاتبات: علی افشاری، پست الکترونیک: Ahvazuniv@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۱۰

۷۴-۶۵ (۲) ۵

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۱۷

## چکیده

کفشدوزک *Cryptolaemus montrouzieri* مهم‌ترین شکارگر شپشک‌های آردآلود در باغات مرکبات و چای شمال ایران می‌باشد. به منظور در اختیار داشتن تعداد کافی از این کفشدوزک و رهاسازی آن در زمان‌های مناسب، ذخیره‌سازی آن در دماهای پایین ضروری می‌باشد. در این پژوهش برای بررسی امکان ذخیره‌سازی این کفشدوزک، حشرات کامل نر و ماده برای مدت زمان‌های ۵، ۷، ۱۰، ۱۴ و ۳۰ روز درون یخچال (دمای  $5 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $60 \pm 10$  درصد و تاریکی مطلق) نگهداری شدند و پس از سپری شدن مدت زمان مورد نظر، مرگ و میر آن‌ها شمارش و با شاهد مقایسه شد. سپس، کفشدوزک‌های زنده مانده درون ظروف پتری جفت شدند و در داخل یک دستگاه ژرمیناتور (دمای  $26 \pm 2$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $60 \pm 5$  درصد و دوره روشنایی به تاریکی ۱۶ به هشت ساعت) قرار گرفتند و تا زمان مرگ آخرین فرد، تعداد تخم‌های گذاشته شده در هر روز شمارش و یادداشت شد. نتایج نشان داد ذخیره‌سازی در دمای پایین زنده‌مانی، طول عمر و میانگین تخم‌گذاری روزانه کفشدوزک را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. با افزایش طول مدت ذخیره‌سازی، درصد مرگ و میر حشرات نر و ماده افزایش یافت و به ترتیب از  $29/39 \pm 5/2$  و  $25/78 \pm 4/8$  درصد در تیمار ۵ روز به  $100$  درصد در تیمار ۳۰ روز رسید. در همین حال، طول عمر کفشدوزک‌های ماده از  $99/8 \pm 2/2$  روز در تیمار شاهد به  $51/5 \pm 2/3$  روز در تیمار ۱۴ روز و میانگین تخم‌گذاری آن‌ها از  $4/99 \pm 0/06$  تخم/ماده/روز در تیمار شاهد به  $4/51 \pm 0/07$  تخم/ماده/روز در تیمار ۱۴ روز کاهش یافت. به طور کلی، حشرات کامل این کفشدوزک نسبت به دمای پایین حساس بودند و ذخیره‌سازی بلندمدت آن‌ها (بیش از هفت روز) در دمای پایین (پنج درجه سلسیوس) توصیه نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: انسکتاریوم، پرورش انبوه، کفشدوزک کریپتولموس، سرمادهی، شپشک‌های آردآلود

## مقدمه

گونه‌هایی مانند شپشک آردآلود مرکبات (Jacas et al., 2006)، شپشک آردآلود انگور، *Maconellicoccus hirsutus* Green (Persad & Khan, 2002)، شپشک آردآلود چای، *Pseudococcus viburni* Signoret (Malkeshai, 2010; )، شپشک آردآلود جنوب، *Nipaecoccus viridis* Newstead (Malkeshi et al., 2013; Abdollahi Ahi et al., 2015) و طعمه‌های آن گزارش شده‌اند. علاوه بر شپشک‌های آردآلود، تغذیه این کفشدوزک از شپشک‌های نرم‌تن،

کفشدوزک *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) بومی استرالیا است و برای اولین بار در سال ۱۸۹۱ میلادی به منظور کنترل شپشک آردآلود مرکبات، *Planococcus citri* Risso به ایالات متحده آمریکا وارد شد. از آن زمان تاکنون این کفشدوزک به منظور کنترل بیولوژیک شپشک‌های آردآلود و در مواردی سپردارها، به تعداد زیادی از کشورهای دیگر نیز وارد شده است (Kairo et al., 2013). شپشک‌های آردآلود طعمه‌های ترجیحی این کفشدوزک به شمار می‌روند و

در دمای شش درجه سلسیوس نشان داد که حشره کامل، مناسب‌ترین مرحله برای ذخیره‌سازی این کفشدوزک می‌باشد. ذخیره‌سازی بلندمدت (یک ماه) حشرات کامل موجب کاهش شدید طول عمر آنها شد و این کاهش در کفشدوزک‌های ماده به مراتب از افراد نر شدیدتر بود (Abdel-Salem & Abdel-Baki 2000).

نتایج ذخیره‌سازی حشرات کامل کفشدوزک *Harmonia axyridis* (Pallas) در دماهای پایین نشان داد که بیش از ۸۰ درصد حشرات کاملی که به مدت پنج ماه در دماهای سه و شش درجه سلسیوس ذخیره شده بودند، زنده ماندند و ذخیره‌سازی بلندمدت در این دو دما بر قدرت زادآوری حشرات ماده تأثیر منفی نداشت (Ruan *et al.*, 2012). هم‌چنین، نتایج یک مطالعه دیگر نشان داد که ذخیره‌سازی حشرات کامل جفت‌گیری کرده این کفشدوزک به مدت شش ماه در دمای شش درجه سلسیوس بر میانگین تخم‌گذاری و درصد تفریح تخم‌های آن تأثیر منفی نگذاشت (Awad *et al.*, 2013).

بررسی واکنش حشرات کامل زمستان‌گذران و غیرزمستان‌گذران (فعال) کفشدوزک *Hippodamia variegata* (Goeze) به دماهای پایین نشان داد که کفشدوزک‌های زمستان‌گذران برخلاف کفشدوزک‌های فعال جمع‌آوری شده از مزرعه به راحتی تا یک ماه در دماهای ۳- و صفر درجه سلسیوس زنده ماندند در حالی که نگاه‌داری حشرات کامل زمستان‌گذران در دمای ۱۰ درجه سلسیوس باعث وقوع مرگ و میر بیش از ۸۰ درصد در جمعیت آنها شد (Hamedi & Moharrampour, 2013).

مطالعات انجام شده در زمینه ذخیره‌سازی کفشدوزک *C. montrouzieri* در دماهای پایین بسیار محدود می‌باشند. نتایج یک بررسی نشان داد که ۱۳/۳ و ۲۴ روز ذخیره‌سازی در دمای پنج درجه سلسیوس به ترتیب باعث بروز تلفات ۵۰ و ۱۰۰ درصد در جمعیت حشرات کامل شد (Maes *et al.*, 2015). هم‌چنین، نتایج یک پژوهش دیگر نشان داد که ذخیره‌سازی طولانی مدت شفیره‌ها در دمای ۱۰ درجه سلسیوس باعث به تأخیر افتادن خروج حشرات کامل و کاهش تخم‌گذاری آنها شد. نتایج این بررسی نشان داد که

سفیدبالک‌ها و شته‌ها نیز گزارش شده است (Kairo *et al.*, 2013).

این کفشدوزک در سال ۱۳۴۵ شمسی توسط موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور از اسپانیا وارد ایران شد و در انسکتاریوم آزمایشگاه آفات و بیماری‌های گیاهی تنکابن پرورش داده شد (Behdad, 1993). متأسفانه با گسترش برنامه‌های مبارزه شیمیایی، سال‌ها استفاده از این کفشدوزک در برنامه‌های کنترل بیولوژیک شپشک‌های آردآلود مورد بی‌توجهی قرار گرفت اما به دلیل ناکارآمدی برنامه‌های مبارزه شیمیایی، ایده استفاده مجدد از این کفشدوزک در کنترل بیولوژیک این گروه از آفات در باغ‌های مرکبات و چای شمال (Mafi Pashakolaei, 1997; Kohansal & Saraji, 2002; Malkeshi, 2010; Malkeshi *et al.*, 2013) و باغات مرکبات جنوب ایران (Mossadegh *et al.*, 2008) مطرح شده است.

تولید انبوه و ذخیره‌سازی دشمنان طبیعی یکی از ارکان اصلی برنامه‌های کنترل بیولوژیک می‌باشد. بیشتر دشمنان طبیعی قابلیت نگهداری پایینی دارند و اغلب آنها مدت کوتاهی پیش از رهاسازی پرورش داده می‌شوند. با توسعه روش‌های کارآمد ذخیره‌سازی می‌توان هزینه‌های کنترل بیولوژیک را کاهش داد و زمان رهاسازی دشمن طبیعی در مزرعه را با مرحله بحرانی طغیان آفت هماهنگ نمود (Colinet & Boivin, 2011). با توجه به اهمیت کفشدوزک‌ها در کنترل بیولوژیک آفات، در زمینه ذخیره‌سازی آنها در دماهای پایین مطالعاتی صورت گرفته است. امکان ذخیره‌سازی حشرات کامل زمستان‌گذران کفشدوزک *Coleomegilla maculata* Timberlake در دمای چهار درجه سلسیوس بررسی شد و نتایج نشان داد که حشرات کامل این کفشدوزک تا ۲۰ هفته در این دما زنده ماندند (Jean *et al.*, 1990). هم‌چنین، بهترین مدت زمان برای ذخیره‌سازی لاروهای سن دوم و سوم این کفشدوزک در دمای چهار درجه سلسیوس برابر با دو هفته گزارش شده است (Gagnea & Coderre, 2001).

بررسی امکان ذخیره‌سازی مراحل مختلف نشوونمایی کفشدوزک یازده نقطه‌ای، *Coccinella undecimpunctata* L.

شد. جمعیت اولیه‌ی کفشدوزک و شپشک از آزمایشگاه تحقیقات کنترل بیولوژیک آمل وابسته به موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه شد. به‌منظور پرورش شپشک آردآلود مرکبات از میوه‌های کدو حلواپی (*Cucurbita moschata* L.) استفاده شد. برای جلوگیری از پوسیدگی احتمالی قارچی، میوه‌های کدو پیش از آلوده‌سازی به شپشک با آب شستشو داده شدند و سطح آن‌ها با قارچ‌کش کاربندازیم یا محلول وایتکس ده درصد ضدعفونی شد (Abdollahi Ahi, 2011). هم‌چنین، علاوه بر ضدعفونی سطح میوه‌ها، گلگاه و دم آن‌ها نیز به‌پارافین آغشته شدند. میوه‌های کدو پس از ضدعفونی شدن بر روی قفسه‌هایی فلزی که طبقات آن‌ها از جنس سیم‌های توری بودند و کف آن‌ها با گونی‌های کنفی پوشیده شده بود، قرار گرفتند و جمعیت اولیه‌ی شپشک آردآلود مرکبات با استفاده از قلم‌مو روی آن‌ها مستقر شد. اطراف این قفسه‌ها به‌طور کامل باز بود و هوا به‌خوبی در میان آن‌ها جریان داشت (Malkeshi, 2010).

پس از گذشت حدود یک ماه و افزایش جمعیت شپشک روی میوه‌های کدو، پنج جفت کفشدوزک روی کدوهای آلوده رهاسازی شدند تا اقدام به تولیدمثل و افزایش جمعیت خود نمایند. به‌منظور تامین مستمر طعمه، هر دو تا سه هفته یک‌بار تعدادی کدوی تازه به شپشک آلوده می‌شدند. به‌منظور جلوگیری از فرار کفشدوزک‌ها، اطراف قفسه‌های حاوی کدوهای آلوده با پارچه‌ی توری محصور شد. علاوه بر قفس از تشت‌های پلاستیکی نیز به‌منظور پرورش کفشدوزک استفاده شد. در این روش ابتکاری، ابتدا چند عدد میوه‌ی کدوی کاملاً آلوده به شپشک درون یک عدد تشت پلاستیکی و روی یک شانه‌ی مقوایی تخم‌مرغ قرار گرفت و سپس چند جفت کفشدوزک بر روی کدوهای آلوده رهاسازی شدند و دهانه‌ی تشت با استفاده از پارچه‌ی توری پوشانده شد. پیش از آغاز آزمایش‌های اصلی، جمعیت کفشدوزک به‌مدت سه نسل به‌این دو روش پرورش داده شد تا از نظر شرایط تغذیه‌ای و فیزیولوژیک یک‌نواخت شود. پس از سه نسل پرورش، حشرات کامل کفشدوزک‌ها به‌تدریج جمع‌آوری و در آزمایش‌های مربوطه مورد استفاده قرار گرفتند.

سن شفیره بر میزان تحمل آن به‌دمای پایین مؤثر می‌باشد به‌طوری که تحمل شفیره‌های پنج روزه کفشدوزک به‌دمای پایین نسبت به شفیره‌های یک و سه روزه بیش‌تر بود (Babu & Azam, 1988).

با توجه به‌اهمیت کفشدوزک *C. montrouzieri* در کنترل بیولوژیک شپشک‌های آردآلود در باغات مرکبات و جای ایران و نیاز روزافزون به‌پرورش انبوه آن در انسکتاریوم‌ها، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر مدت زمان‌های مختلف ذخیره‌سازی حشرات کامل این کفشدوزک در دمای پایین بر زنده‌مانی، طول عمر و زادآوری آن‌ها انجام شد. در این مطالعه تلاش شد که بهترین مدت زمان ذخیره‌سازی این کفشدوزک در دمای پنج درجه سلسیوس تعیین شود و از این طریق، جمعیت آن برای یک مدت زمان معین در دمای پایین نگه‌داری و به‌تعداد کافی و در زمان‌های لازم در باغات آلوده به شپشک‌های آردآلود رهاسازی شود.

## مواد و روش‌ها

### زمان و مکان تحقیق

این تحقیق در سال ۱۳۹۳ در انسکتاریوم مدیریت حفظ نباتات شهرستان گرگان انجام شد. تمام مراحل پرورش کفشدوزک در یک اتاق به‌ابعاد ۴×۴ متر و در دمای ۲۶±۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰±۱۰ درصد و دوره روشنایی به‌تاریکی ۱۶ به ۸ ساعت انجام شد. رطوبت اتاق از طریق آب‌پاشی و پهن کردن گونی‌های خیس در کف اتاق و دمای آن توسط شوفاژ (فصل زمستان) و یک دستگاه کولر گازی (در فصل تابستان) تامین می‌شد. برای تعیین رطوبت نسبی و دمای اتاق، به‌ترتیب از یک دستگاه رطوبت‌سنج و یک دستگاه دماسنج استفاده شد. دوره نوری هم با استفاده از یک عدد لامپ مهتابی متصل به یک دستگاه تایمر مارک <sup>®</sup>Sassin که در بالای قفسه‌های پرورش نصب شده بود، تنظیم شد.

### پرورش شپشک آردآلود مرکبات و کفشدوزک

به‌منظور پرورش کفشدوزک *C. montrouzieri* از شپشک آردآلود مرکبات، *P. citri* به‌عنوان طعمه استفاده

## آماده‌سازی تیمارها

در این بررسی، تأثیر پنج مدت زمان مختلف ذخیره‌سازی (۵، ۷، ۱۰، ۱۴ و ۳۰ روز) بر زنده‌مانی، طول عمر و میانگین تخم‌گذاری (زادآوری) حشرات کامل کفشدوزک بررسی شد. در هر کدام از تیمارها (مدت زمان ذخیره‌سازی)، شش جمعیت ۳۰ تایی از کفشدوزک‌های نر و شش جمعیت ۳۰ تایی از کفشدوزک‌های ماده‌ی جفت‌گیری کرده (حداکثر یک روزه) به شکل جداگانه در درون لیوان‌های پلاستیکی شفاف به قطر دهانه ۱۰ و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر قرار گرفتند و دهانه لیوان‌ها با پارچه توری سفیدرنگ مسدود شد (هر تیمار دارای شش تکرار و هر تکرار شامل یک جمعیت ۳۰ تایی از کفشدوزک بود). کفشدوزک‌های درون لیوان‌ها ابتدا به مدت ۷۲ ساعت با شپشک آردآلود تغذیه شدند و سپس لیوان‌های حاوی کفشدوزک به درون یک دستگاه یخچال (مدل LG GR- R65WSF و دمای  $5 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $60 \pm 10$  درصد و تاریکی مطلق) منتقل و برای مدت زمان مورد نظر در آنجا نگهداری شدند. در تیمار شاهد لیوان‌های حاوی کفشدوزک ۷۲ ساعت تغذیه شدند و پس از ثبت مرگ و میر احتمالی، به جای یخچال درون یک دستگاه ژرمیناتور (دمای  $26 \pm 2$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $60 \pm 5$  درصد و دوره روشنایی به تاریکی ۱۶ به ۸ ساعت) نگهداری شدند. به منظور تعیین میزان مرگ و میر حشرات کامل در تیمارهای مختلف، پس از سپری شدن مدت زمان مورد نظر در هر تیمار، لیوان‌های حاوی کفشدوزک از یخچال خارج شدند و تعداد حشرات کامل مرده شمارش و ثبت شد. برای شمارش دقیق کفشدوزک‌های مرده، کفشدوزک‌ها پس از خروج از یخچال به مدت ۴۸ ساعت در شرایط اتاق نگهداری شدند و افرادی که پس از این مدت قادر به حرکت نبودند، مرده تلقی می‌شدند. در بررسی تأثیر ذخیره‌سازی در سرما بر طول عمر و زادآوری (میانگین تخم‌گذاری روزانه‌ی) کفشدوزک، از میان افراد زنده‌مانده در هر تیمار (به استثنای ۱۴ روز) تعداد ۲۰ جفت کفشدوزک به شکل جداگانه درون ظروف پتری (قطر نه سانتی‌متر) قرار گرفتند. در تیمار ۱۴ روز به دلیل بالا بودن تلفات، فقط ۷ جفت

کفشدوزک زنده ماندند و در درون ظروف پتری جفت شدند. ظروف پتری حاوی کفشدوزک به داخل یک دستگاه ژرمیناتور (دمای  $26 \pm 2$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $60 \pm 5$  درصد و دوره روشنایی به تاریکی ۱۶ به ۸ ساعت) انتقال یافتند و به طور منظم با شپشک آردآلود مرکبات تغذیه شدند. ظروف پتری روزانه مورد بازدید قرار می‌گرفتند و تا زمان مرگ افراد، تعداد تخم‌های گذاشته شده‌ی آن‌ها شمارش و ثبت می‌شد.

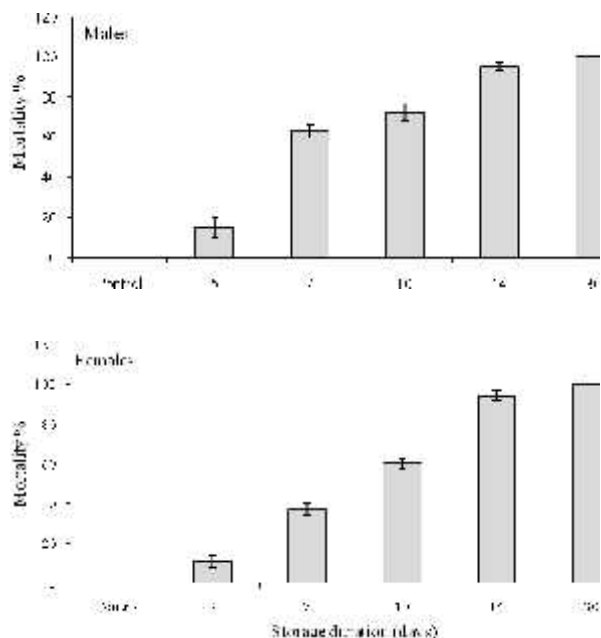
## تجزیه و تحلیل‌های آماری

آزمایش تأثیر سرما بر تلفات کفشدوزک در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار (پنج مدت زمان مختلف نگهداری در یخچال شامل ۵، ۷، ۱۰، ۱۴ و ۳۰ روز به علاوه‌ی شاهد) انجام شد. با توجه به مرگ و میر صد درصدی کفشدوزک‌های ذخیره شده در تیمار ۳۰ روز، طول عمر و میانگین تخم‌گذاری روزانه در این تیمار اندازه‌گیری نشدند. هم‌چنین، با توجه به این که تعداد کفشدوزک‌های زنده مانده در تیمار ۱۴ روز از ۲۰ عدد کمتر بود، بررسی تأثیر سرما بر طول عمر و میانگین تخم‌گذاری در قالب یک طرح کاملاً تصادفی نامتعادل (با تکرارهای نامساوی) انجام شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab 13 ارزیابی شد و از نرم‌افزار آماری SAS (SAS Institute, 2007) برای تجزیه واریانس (ANOVA) داده‌های به دست آمده استفاده شد. اختلاف بین میانگین‌های صفات با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده شد.

## نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که ذخیره‌سازی کفشدوزک‌های نر و ماده در دمای پنج درجه‌ی سلسیوس، زنده‌مانی آن‌ها را در سطح احتمال یک درصد به شکل معنی‌داری کاهش داد (به ترتیب  $P < 0.0001$ ،  $F_{5, 24} = 169.2$  و  $P < 0.0001$ ،  $F_{5, 24} = 345.4$ ). میزان تلفات کفشدوزک‌های نر و ماده در تمامی مدت‌زمان‌های ذخیره‌سازی به طور معنی‌داری از شاهد بیش‌تر بود. با افزایش طول مدت

به طوری که طول عمر کفشدوزک‌های نر از  $95/95 \pm 1/54$  روز در تیمار شاهد به  $47/7 \pm 2/21$  روز در تیمار ۱۴ روز و طول عمر کفشدوزک‌های ماده از  $99/8 \pm 2/2$  روز در تیمار شاهد به  $51/5 \pm 2/3$  روز در تیمار ۱۴ روز کاهش یافت (جدول ۱).



شکل ۱- درصد مرگ و میر افراد نر و ماده کفشدوزک *Cryptolaemus montrouzieri* پس از ذخیره‌سازی آن‌ها در دمای پایین برای مدت زمان‌های مختلف.

Fig. 1. Mortality percent of males and females of *Cryptolaemus montrouzieri* after different periods of cold storage at low temperature (5°C).

ذخیره‌سازی در دمای پایین، بر درصد مرگ و میر کفشدوزک‌های نر و ماده افزوده شد به طوری که ذخیره‌سازی یک ماه کفشدوزک‌های نر و ماده در دمای پایین، بروز تلفات صد درصدی را در جمعیت ذخیره شده موجب شد. در ذخیره‌سازی دو هفته‌ای، کفشدوزک‌های نر و ماده به ترتیب  $95/93 \pm 1/93$  و  $95/33 \pm 2/21$  درصد تلفات را متحمل شدند که با تلفات آن‌ها پس از ذخیره‌سازی ۳۰ روزه، تفاوت آماری معنی داری نداشتند. در ذخیره‌سازی ۵ روزه، تلفات کفشدوزک‌های نر و ماده به ترتیب  $29/39 \pm 5/2$  و  $25/78 \pm 4/8$  اندازه‌گیری شد که کم‌ترین مقادیر مرگ و میر در مدت زمان‌های مختلف ذخیره‌سازی بود (شکل ۱).

ذخیره‌سازی در دمای پایین علاوه بر میزان زنده‌مانی، روی میانگین تخم‌گذاری و طول عمر کفشدوزک‌های ماده و نر نیز به طور معنی داری تأثیر داشت (به ترتیب  $P < 0.0001$ ،  $P < 0.0001$ ،  $F_{4, 86} = 51.4$ ،  $P < 0.0001$ ،  $F_{4, 86} = 5.48$ ،  $F_{4, 86} = 74.2$ ). میانگین تخم‌گذاری کفشدوزک‌های ماده اگر چه در تمامی مدت زمان‌های ذخیره‌سازی نسبت به شاهد کم‌تر بود، اما مقدار آن نوسان شدیدی نداشت و از  $4/99 \pm 0/06$  عدد تخم در روز در تیمار شاهد تا  $4/51 \pm 0/07$  عدد تخم در روز در تیمار ۱۴ روز تغییر کرد (جدول ۱). طول عمر کفشدوزک‌های نر و ماده نیز در تمامی مدت زمان‌های ذخیره‌سازی نسبت به شاهد کم‌تر بود و در مقایسه با میانگین تخم‌گذاری نوسان بیش‌تری داشت

جدول ۱- میانگین ( $\pm$ SE) تخم‌گذاری و طول عمر کفشدوزک‌های نر و ماده *Cryptolaemus montrouzieri* پس از ذخیره‌سازی در دمای پنج درجه سلسیوس برای مدت زمان‌های مختلف.

Table 1. Mean ( $\pm$ SE) of daily oviposition and male and female longevity of *Cryptolaemus montrouzieri* after different periods of cold storage at 5°C.

Cold storage duration (days)	n	Mean of oviposition (Eggs/female/day)	Female longevity (days)	Male longevity (days)
Control	20	4.99±0.06 a	99.8±2.2 a	95.95±1.54 a
5	20	4.76±0.046 b	83.45±1.48 c	80.75±1.6 c
7	20	4.83±0.064 b	83.8±1.45 c	78.2±1.28 c
10	20	4.72±0.06 b	80.55± 1.53 c	72.85±1.28 c
14	7	4.51±0.07 c	51.5± 3.74 c	47.73±3.74 d

میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف معنی دار می‌باشند (آزمون LSD و سطح احتمال ۵ درصد).

Means followed by same letters in each column are not statistically different (LSD-test,  $P < 0.05$ ).

## بحث

کامل این کفشدوزک ۱۴/۷ درجه سلسیوس گزارش شده است (Saeedi *et al.*, 2015) این در حالی است که برخی از کفشدوزک‌ها مانند *Chilocorus kuwanae* Silvestri حتی در دماهای چهار درجه سلسیوس نیز قادر به تغذیه از شپشک‌های سپردار می‌باشند (Ricci *et al.*, 2006). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که تحمل این کفشدوزک به سرما بسیار پایین می‌باشد به طوری که ذخیره‌سازی حشرات کامل آن به مدت دو هفته و یک ماه در دمای ۵ درجه سلسیوس به ترتیب باعث بروز ۹۵ و ۱۰۰ درصد تلفات در جمعیت حشرات کامل آن شد. در یک بررسی دیگر، گزارش شده است که ۲۴ روز ذخیره‌سازی در دمای ۵ درجه سلسیوس باعث بروز ۱۰۰ درصد تلفات در جمعیت حشرات کامل این کفشدوزک شد (Maes *et al.*, 2015) که با نتایج پژوهش حاضر مشابهت زیادی دارد. در پژوهش حاضر، جمعیت کفشدوزک در دمای ۲۶ درجه سلسیوس و طول روشنایی ۱۶ ساعت (شرایط مشابه تابستان) پرورش یافت و بلافاصله در دمای ۵ درجه سلسیوس ذخیره شد. انتقال فوری جمعیت کفشدوزک از دمای بالا به درون یخچال شاید یکی از دلایل مهم بالا بودن تلفات آن در واکنش به سرما باشد. بر اساس نتایج یک پژوهش دیگر، سازگار کردن تدریجی جمعیت با دمای پایین باعث کاهش چشم‌گیر تلفات ناشی از سرما می‌شود به طوری که اگر جمعیت کفشدوزک *C. montrouzieri* پیش از ذخیره‌سازی در دماهای پایین برای مدت کوتاهی در دمای ۱۰ درجه سلسیوس قرار داده شود از میزان تلفات آن به مقدار زیادی کاسته خواهد شد (Maes *et al.*, 2015).

تغذیه یا عدم تغذیه و نیز مدت زمان تغذیه پیش از ذخیره‌سازی بر میزان مرگ و میر دشمنان طبیعی بسیار مؤثر گزارش شده است، به طوری که با افزایش مدت زمان تغذیه‌ی پیش از ذخیره‌سازی، از میزان مرگ و میر در طول ذخیره‌سازی به طور قابل توجهی کاسته می‌شود (Colinet & Abdel-Salem & Abdel-Baki, 2000)؛ (Boivin, 2011). نوع غذای خورده شده پیش از ذخیره‌سازی بر واکنش کفشدوزک *C. montrouzieri* به سرما مؤثر گزارش شده است به طوری که کفشدوزک‌های

باتوجه به اهمیت روزافزون کفشدوزک *C. montrouzieri* در کنترل بیولوژیک شپشک‌های آردآلود در باغات مرکبات و چای ایران (Mossadegh *et al.*, 2008; Malkeshi *et al.*, 2013; Malkeshi, 2010; Abdollahi Ahi *et al.*, 2015) ارائه راه کارهایی برای کارآمدتر شدن پرورش انبوه و ذخیره‌سازی آن ضروری می‌باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش طول مدت ذخیره‌سازی در دمای پنج درجه سلسیوس، بر میزان مرگ و میر حشرات کامل کفشدوزک *C. montrouzieri* افزوده شد. این روند کلی، یعنی افزایش تلفات حشرات کامل با طولانی‌تر شدن مدت زمان ذخیره‌سازی در دمای پایین، در کفشدوزک *C. undecimpunctata* نیز گزارش شده است (Abdel-Salem & Abdel-Baki, 2000) اما تلفات کفشدوزک *C. montrouzieri* در شرایط مشابه بسیار بیش‌تر بود به طوری که درصد مرگ و میر حشرات کامل آن پس از دو هفته ذخیره‌سازی در دمای پایین به بیش از ۹۵ درصد رسید که در مقایسه با ۲۰ درصد تلفات گزارش شده برای کفشدوزک *C. undecimpunctata* در شرایط مشابه (Abdel-Salem & Abdel-Baki, 2000) بسیار بیش‌تر بود. یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج بررسی تأثیر طول مدت زمان ذخیره‌سازی بر زنده‌مانی کفشدوزک *H. axyridis* (Ruan *et al.*, 2012) نیز تا حد زیادی متفاوت بود.

گزارش‌های منتشر شده در زمینه‌ی واکنش کفشدوزک *C. montrouzieri* به سرما و امکان ذخیره‌سازی آن در دماهای پایین بسیار محدود می‌باشد. این کفشدوزک به طور کلی یک گونه‌ی سازگار با اقلیم‌های گرمسیر گزارش شده است به طوری که در دماهای زیر ۲۰ درجه سلسیوس قادر به تغذیه و تولیدمثل نمی‌باشد و جمعیت آن در طول زمستان‌های سرد دچار تلفات شدید می‌شود (Kairo *et al.*, 2013). این کفشدوزک فاقد دیپوز می‌باشد (Iperti, 1999) به طوری که ۵۰ درصد جمعیت حشرات کامل آن فقط ۱۲ ساعت پس از قرار گرفتن در معرض دمای ۵/۵ درجه سلسیوس زیر صفر از بین رفتند (Bartlett, 1974). آستانه پایین دمایی برای فعالیت حشرات



شده در طول عمر) آن‌ها شد. در مقابل، نتایج ذخیره‌سازی حشرات کامل کفشدوزک *H. axyridis* در دماهای سه و شش درجهٔ سلسیوس نشان داد که حتی ذخیره‌سازی بلند مدت (تا ۵ ماه) بر میزان تخم‌گذاری این کفشدوزک تأثیر منفی معنی‌داری نگذاشت (Ruan *et al.*, 2012; Awad *et al.*, 2013).

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که حشرات کامل کفشدوزک *C. montrouzieri* نسبت به دمای پایین حساس هستند و برخلاف بسیاری از کفشدوزک‌های دیگر، ذخیره‌سازی بلندمدت در یخچال موجب افزایش چشم‌گیر مرگ و میر و کاهش طول عمر و زادآوری آن‌ها شد. بنابراین، ذخیره‌سازی بلندمدت آن‌ها (بیش از یک هفته) در دمای پنج درجهٔ سلسیوس توصیه نمی‌شود. هم‌چنین، با توجه به حساسیت شدید حشرات کامل این کفشدوزک به دمای پنج درجهٔ سلسیوس، پیشنهاد می‌شود امکان ذخیره‌سازی آن در دماهای بالاتر نیز بررسی شود. به‌علاوه، توصیه می‌شود تأثیر سازگار کردن تدریجی جمعیت این کفشدوزک با سرما پیش از ذخیره‌سازی آن در یخچال و تأثیر آن بر کاهش تلفات کفشدوزک به‌طور جداگانه در یک پژوهش بررسی شود.

تغذیه شده با تخم شب‌پره مدیترانه‌ای آرد، *Ephestia kuehniella* (Zeller) در مقایسه با کفشدوزک‌های تغذیه شده با شپشک آردآلود مرکبات در مقابل یخ‌زدگی در دماهای زیر صفر مقاوم‌تر بودند (Maes *et al.*, 2015). در پژوهش حاضر، حشرات کامل کفشدوزک *C. montrouzieri* پیش از ذخیره‌سازی به مدت ۷۲ ساعت با شپشک آردآلود مرکبات تغذیه شدند، اما با این وجود در طول ذخیره‌سازی دچار تلفات شدیدی شدند که نشان‌دهندهٔ حساسیت شدید این کفشدوزک به دماهای پایین می‌باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ذخیره‌سازی در دمای پایین علاوه بر زنده‌مانی حشرات کامل، طول عمر و میانگین تخم‌گذاری آن‌ها را نیز به‌طور قابل‌توجهی کاهش داد، هر چند که شدت کاهش زادآوری در مقایسه با دو ویژگی دیگر به مراتب کم‌تر بود. این نتیجه با یافته‌های مربوط به تأثیر منفی دماهای پایین بر طول عمر و میزان تخم‌گذاری کفشدوزک *C. ndecimpunctata* مشابه بود (Abdel-Salem & Abdel-Baki, 2000). ذخیره‌سازی حشرات کامل این کفشدوزک در دمای شش درجهٔ سلسیوس حتی به مدت یک هفته، موجب کاهش معنی‌دار طول عمر و میانگین زادآوری (تعداد کل تخم‌های گذاشته

## References

- Abdel-Salem, A.H. & Abdel-Baki, N.F. 2000. Possible storage of *Coccinella undecimpunctata* (Col., Coccinellidae) under low temperature and its effect on some biological characteristics. *Journal of Applied Entomology*, 124(3-4): 169–176.
- Abdollahi, Ahi, G.A., Afshari, A., Baniameri, V., Dadpour, H., Yazdani, M., & Golizadeh, A. 2015. Laboratory survey on biological and demographic parameters of *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) fed on two mealybug species. *Journal of Plant Protection*, 4(3): 267–276.
- Abdollahi Ahi, Gh.A. 2011. Demography and functional response of *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae), feeding on mealybugs, *Planococcus citri* (Risso) and *Pseudococcus viburni* (Signoret) under laboratory conditions. M.Sc. Thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, 124 pp. (In Persian with English summary).
- Awad, M., Kalushkov, P., Nedvedova, T. & Nedved, O. 2013. Fecundity and fertility of ladybird beetle *Harmonia axyridis* after prolonged cold storage. *BioControl*, 58: 657–666.

- Babu, T.R. & Azam, K.M. 1988. Effect of low holding temperature during pupal instar on adult emergence, pre-oviposition and fecundity of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coccinellidae: Coleoptera). *Insect Science and Application*, 9(2): 175–177.
- Bartlett B.R. 1974. Introduction into California of cold-tolerant biotypes of the mealybug predator *Cryptolaemus montrouzieri*, and laboratory procedures for testing natural enemies for cold-hardiness. *Environmental Entomology*, 3: 553–556.
- Behdad, E. 1993. Pests of Field Crops in Iran (Third edition). Yadbood Pub., Isfahan, Iran, 629 pp.
- Colinet, H. & Boivin, G. 2011. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. *Biological Control*, 58: 83–95.
- Gagnea, I. & Coderre, D. 2001. Cold storage of *Coleomegilla maculata* larvae. *Biocontrol Science and Technology*, 11: 361–369.
- Hamedi, N. & Moharramipour, S. 2013. Long-term cold response in overwintering adults of ladybird *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of Crop Protection*, 2 (2): 119–126.
- Iperti, G. 1999. Biodiversity of predaceous coccinellidae in relation to bioindication and economic importance. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 74: 323–342.
- Jacas, J.A., Urbaneja, A. & Vinuela, E., 2006. History and future of introduction of exotic arthropod biological control agents in Spain: a dilemma? *Biological Control*, 51: 1–30.
- Jean, C., Coderre, D. & Tourneur, J.C. 1990. Effects of temperature and substrate on survival and lipid consumption of hibernating *Coleomegilla maculate lengi* (Coleoptera: Coccinellidae). *Environmental Entomology*, 19(6): 1657–1662.
- Kairo, M.T.K, Paraiso, O., Gautam, R.D. & Peterkin, D.D. 2013. *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant)(Coccinellidae: Scymninae): A review of biology, ecology, and use in biological control with particular reference to potential impact on non-target organisms. *CAB Reviews* 8, No.005. doi: 10.1079/PAVSNNR20138005.
- Khodaman, A. 1992. Biological study of mealybug *N. viridis* and possibility of its biological control, by Crypt ladybird and other available coccinellids in Khuzestan (southwest Iran) province, M. Sc. Thesis, Shahid Chamran University of Ahvaz, 140 pp. (In Persian with English summary).
- Kohansal, R. & Saraji, A. 2002. Investigation on efficiency of *Cryptolaemus montrouzieri* against *Pseudococcus affinis* in tea plantations in north of Iran. *Proceeding of the 15<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress*, 7-11 September 2002, Razi university of Kermanshah.
- Maes, S., Gregoire, J.C., & De Clercq, P. 2015. Cold tolerance of the predatory ladybird *Cryptolaemus montrouzieri*. *BioControl*, 60: 199–207.
- Mafi Pashakolaei, Sh. A. 1997. Identification of mealybugs (Hom.; Pseudococcidae) in Mazandaran province and study of their dominant species and natural enemies. M. Sc. Thesis, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran, 112 pp. (In Persian with English summary).
- Malkeshi, S.H., Dadpour Moghanloo, H., Askari, H., Rezapanah, M.R. & Kohansal, R. 2013. Mass rearing and releasing of *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) in tea orchards of Iran. Difficulties and challenges in research and application. *Conference of Biological Control in Agriculture and Natural Resources*, 27-28 Aug. 2013, University of Tehran, (In Persian with English summary).



- Malkeshi, S.H. 2010. Mass rearing of *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) with the farmers participation for biological control of mealybug, *Pseudococcus viburni* at tea orchards in Guilan and Mazandaran provinces. Iranian Research Institute of Plant Protection, Final report of project, approved number: 04-16-16-87088. 77pp. (In Persian with English summary).
- Mossadegh, M. S., Eslamizadeh, R. & Esfandiari, M. 2008. Biological study of mealybug *Nipaecoccus viridis* (New.) and possibility of its biological control by *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant in citrus orchards of North Khuzestan. Proceeding of 18th Iranian Plant Protection Congress, Hamedan, Iran.
- Persad, A. & Khan, A. 2002. Comparison of life table parameters for *Maconellicoccus hirsutus*, *Anagyrus kamali*, *Cryptolaemus montrouzieri* and *Scymnus coccivora*. *Biological Control*, 47: 137–149.
- Ricci C., Primavera, A. & Negri, V. 2006. Effects of low temperatures on *Chilocorus kuwanae* (Coleoptera: Coccinellidae) trophic activity. *European Journal of Entomology*, 103: 547–551.
- Ruan, C.C., Du, W.M., Wang, X.M., Zhang, J.J. & Zang, L.S. 2012. Effect of long-term cold storage on the fitness of pre-wintering *Harmonia axyridis* (Pallas). *BioControl*, 57: 95–102.
- Saeedi, N., Damavandian, M.R. & Dadpour Moghanloo, H. 2015. Effects of temperature on population growth parameters of *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae) reared on *Planococcus citri* (Homoptera: Pseudococcidae). *Arthropods*, 4(3): 78–89.
- SAS Institute. 2007. PROC user's manual, version 8<sup>th</sup> ed. SAS Institute, Cary, NC.

---

**Cold storage possibility of *Cryptolaemus montrouzieri* adults****Negar Shahriari<sup>1</sup>, Ali Afshari\*<sup>1</sup>, Hemmat Dadpour Moghanlou<sup>2</sup>, Ahmad Nadimi<sup>1</sup>**

1. Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural resources, Gorgan, Iran

2. Biological Control Research Laboratory, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Amol, Iran

\*Corresponding author: Ali Afshari, email: Ahvazuniv@yahoo.com

---

Received: May, 07, 2017

5 (2) 65-74

Accepted: Jul., 01, 2018

---

**Abstract**

*Cryptolaemus montrouzieri* (Col.: Coccinellidae) is the most important predator of mealybugs in citrus and tea orchards in north of Iran. Cold storage is necessary in order to have a sufficient numbers of this ladybird and its release at desired times. This study was therefore carried out to assess the possibility of storing adult stage of this ladybird under refrigerator conditions ( $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $60\pm 10\%$  RH and full darkness). Male and female adult ladybirds were stored at low temperature for different durations of 5, 7, 10, 14 and 30 days. After each storage period, the adults' mortality was recorded in each treatment and was compared with the control. Survived ladybirds were then paired and transferred to the separate Petri dishes and kept in a growth chamber ( $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $60\pm 5\%$  RH, and 16:8 h L: D) and their fecundity data were recorded daily until the death of ladybirds. Results showed that cold storage significantly decreased their survival, longevity and fecundity. Mortality percent of males and females increased with storage duration from  $29.39\pm 5.2$  and  $25.78\pm 4.8$  percent in five days treatment to 100 percent in 30 days treatment, respectively. Female longevity ranged from  $99.8\pm 2.2$  days in control to  $51.5\pm 2.3$  days in 14-days treatment. Meanwhile, mean of oviposition in female ladybirds decreased from  $4.99\pm 0.06$  to  $4.51\pm 0.07$  eggs/day. In conclusion, the adult stage of this ladybird was more susceptible to low temperatures than other stages and their long-term cold storage (longer than seven days) is not recommended.

**Keywords:** insectarium, mass rearing, *Cryptolaemus montrouzieri*, cold storage, mealybugs

---