نامه‌ی انجمن حشره‌شناسی ایران
۱۳۹۲ – ۳۳(۳): ۶۹–۷۸

بررسی تحمل سرما و تغییرات نقطه‌ی انجماد در حشرات کامل زمستان‌گذران سرخرطومی یونجه، *Hypera postica* (Col.: Curculionidae)

مهدیه سعیدی و سعید محرمی‌پور*

گروه حشره شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی ٣٣٦-١٤١١٥، تهران.

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

Cold tolerance and supercooling capacity in overwintering adults of the alfalfa weevil, *Hypera postica* (Col.: Curculionidae)

M. Saeidi and S. Moharramipour*

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

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

چکیده

سرخرطومی یونجه، *Hypera postica* Gyllenhal، آفت کلیدی یونجه است که به‌طور گسترده‌ای در مناطق یونجه‌کاری ایران پراکنش دارد. حشرات کامل سرخرطومی یونجه به‌تدریج از اوایل پاییز وارد مزرعه می‌شوند و جمعیت حشرات وارد شده به مزرعه در طول پاییز و زمستان رو به افزایش است. به‌علت تأثیر عوامل محیطی مانند دمای محیط بر بقای حشرات، در این پژوهش تغییرات نقطه‌ی انجماد و سرماسختی حشرات مورد بررسی قرار گرفت. حشرات کامل زمستان‌گذران ماهانه از مزارع یونجه‌ی کرج طی فصول پاییز و زمستان ۱۳۹۰ جمع‌آوری شدند. نقطه‌ی انجماد و بقای آن‌ها در دماهای زیر صفر از ٥- تا ١٣- درجه‌ی سلسیوس به‌مدت ۲۱۰ دقیقه بررسی شد. میانگین نقطه‌ی انجماد آن‌ها از ۰/٦٨ ± ١٤/٤- درجه‌ی سلسیوس در مهر ماه تا ۰/۸۰ ± ۸/۸- درجه‌ی سلسیوس در اسفند ماه در نوسان بود. میانگین نقطه‌ی انجماد حشرات کامل در طول ماه‌های پاییز (١٣/٤-) به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از ماه‌های زمستان (٨/٦-) بود. حشرات کامل دمای ٥- درجه‌ی سلسیوس را در تمام ماه‌ها تحمل کردند. میزان مرگ و میر حشرات کامل با افزایش شدت سرما افزایش یافت. درصد مرگ و میر حشرات تیمارشده در دمای ١١- درجه‌ی سلسیوس، به ۸۹ درصد در آبان و آذر، و ۱۰۰ درصد در دی و بهمن ماه رسید. میزان LT_{50} حداقل ٨/٦- و حداکثر ٥/٧- درجه‌ی سلسیوس بود. نتایج نشان داد که حشرات کامل نمی‌توانند در دماهایی پایین‌تر از نقطه‌ی انجماد زنده بمانند. بررسی‌های دقیق‌تر مشخص کرد درصورتی‌که میزان شدت سرما به نزدیک نقطه‌ی انجماد حشرات کامل برسد، حدود ۸۰ درصد از جمعیت تلف خواهند شد. بنابراین، چنانچه دمای محیط به محدوده‌ی نقطه‌ی انجماد حشره برسد، تلفات قابل توجهی در جمعیت حشرات کامل سرخرطومی یونجه ایجاد خواهد شد.

واژگان کلیدی: نقطه انجماد، سرخرطومی یونجه، *Hypera postica*، سرماسختی، دیاپوز، زمستان‌گذرانی

Abstract

Alfalfa weevil, *Hypera postica* Gyllenhal, is a key pest of alfalfa and widely distributed in alfalfa fields of Iran. In early autumn, the first adults of *H. postica* arrive in the fields where they steadily increase their populations during autumn and following winter. To evaluate the impact environmental factors including temperature on the survival of the weevils, this study was conducted to measure the levels of variability in supercooling point and cold hardiness in the weevils. Overwintering adults were collected monthly from alfalfa fields on the outskirts of Karaj during the autumn 2011and winter 2012. The supercooling points and survivorship were studied at sub-zero temperatures from -5 to -13 ºC for 210 minutes. The average supercooling point ranged from -14.4 ± 0.68 in October to -8.8 ± 0.80 in March. Mean supercooling points for *H. postica* adults were significantly lower in autumn (-13.4 ºC) comparing winter (-8.6 ºC). Insects survived after being exposed to -5 ºC in all months. The mortality of the adults increased with cold intensity. The percent mortality for adults treated at -11 ºC was approximately 89% in November and December and reached 100% in January and February. The range of LT_{50} values varied from -5.7 ºC (highest) to -8.6 ºC (lowest). Results showed that adults could not withstand the temperatures below the supercooling point. It is found that the cold intensity around supercooling point could cause 80% mortality. It can be concluded that as the ambient temperature in the field approaches the supercooling point, it tends to be detrimental on *H. postica* population.

Key words: supercooling point, alfalfa weevil, *Hypera postica*, cold hardiness, diapause, overwintering

مقدمه

سرخرطومی یونجه، *Hypera postica* Gyllenhal، در حال حاضر، آفت درجه‌ی یک تمام مناطق یونجه‌کاری ایران و جهان محسوب می‌شود. این آفت در بیش‌تر نقاطی که یونجه کشت می‌شود، چین اول محصول را از بین می‌برد (Vojdani & Daftari, 1963). حشرات کامل و

دریافت: ۱۳۹۲/۶/۲۵، پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۲۷.

لاروهای سرخرطومی یونجه از برگ‌های یونجه، شبدر و برخی از علف‌های هرز تغذیه می‌کنند (DeWitt *et al*., 1969)، اما یونجه میزبان مرجح آن به‌شمار می‌آید (Campbell *et al*., 1975). صدمات ناشی از تغذیه‌ی این حشره می‌تواند منجر به کاهش عملکرد، کیفیت علوفه و دوام گیاه شود (Berbrret & McNew, 1986; Wilson & Quisenberry, 1986; Summers, 1989; Hutchins *et al*., 1990). در مطالعات شش‌ساله‌ی انجام شده توسط Blickenstaff *et al*. (1970)، زیست‌شناسی و اکولوژی سرخرطومی یونجه به‌طور جامع و دقیق در مریلند و نیوجرسی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات این محققین نشان می‌دهد که بیش‌تر حشرات کامل، مزارع را در اواخر بهار ترک کرده و از اواسط خرداد به‌مدت ۵-٤ ماه به دیاپوز تابستانه می‌روند. حشرات کامل بعد از دیاپوز تابستانه در آبان و آذر ماه به مزارع یونجه برمی‌گردند و پس از استقرار در مزرعه تغذیه و جفت‌گیری می‌کنند. برخی محققین در ایران نیز معتقدند این حشره دیاپوز تابستانه دارد. مهم‌ترین مرحله‌ی کنترل آفت در زمان تفریخ تخم و ظهور سنین اولیه لاروی می‌باشد که بیش‌تر زارعین این تاریخ را از دست می‌دهند. بدین‌جهت خسارت وارده روی چین اول یونجه شدیدتر است (Seraj, 1988). ازآنجاکه میزان لاروهای مشاهده شده در بهار به جمعیت حشرات کاملی که تخم‌ریزی را در زمستان انجام داده‌اند، بستگی دارد، بنابراین لازم است میزان تحمل حشرات کامل زمستان‌گذران نسبت به سرما مورد بررسی قرار گیرد. بررسی میزان تحمل به سرما در حشرات، به‌دلیل رابطه‌ی بین زمستان‌های شدید، نحوه‌ی زمستان‌گذرانی و فراوانی جمعیت در بهار سال بعد مورد توجه می‌باشد.

تغییرات فصلی دما یکی از مهم‌ترین مسائلی است که حشرات ساکن مناطق معتدل باید چرخه‌ی زندگی خود را با آن سازگار کنند. دماهای پایین براساس میزان شدت و مدت زمانی که حشره در معرض آن‌ها قرار می‌گیرد، می‌توانند زندگی حشرات را تحت تأثیر قرار دهند. این اثرات به‌وسیله‌ی راه‌کارهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی قابل تنظیم و تعدیل می‌باشند. اندازه‌گیری نقطه‌ی انجماد به‌عنوان یکی از مهم‌ترین معیارهای تعیین میزان تحمل حشرات به سرما مورد توجه بوده است، اما این شاخص نمی‌تواند به‌تنهایی معیاری برای اندازه‌گیری سطح سرماسختی حشرات باشد (Nedved, 2000; Hao & Kang, 2004). ازاین‌رو، باید میزان تحمل حشرات به سرما نیز در این امر لحاظ شود و شاخصی نظیر LT_{50} (دمایی که باعث مرگ ۵۰٪ افراد می‌شود) نیز برای تعیین میزان سطح سرماسختی حشرات مورد بررسی قرار می‌گیرد (Turnock & Fields, 2005; Soudi & Moharramipour, 2011; Saeidi *et al*., 2012). بنابراین، در پژوهش حاضر نقطه‌ی انجماد و میزان تحمل به سرمای حشرات کامل سرخرطومی یونجه در دماهای زیر صفر درجه‌ی سلسیوس از مهر ماه تا اسفند ۱۳۹۰ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

حشرات کامل زمستان‌گذران سرخرطومی یونجه به‌صورت ماهیانه طی ماه‌های مهر تا اسفند ۹۱-۱۳۹۰ از مزارع یونجه‌ی ۱۰ هکتاری واقع در ایستگاه تحقیقاتی مهندس سیدعبدالرسول مطهری، مؤسسه‌ی اصلاح و تهیه‌ی بذر چغندرقند، کمال شهر، کرج، به مختصات "۲۳ '۵۰ °۳۵ شمالی، "۵۹ '۵۱ °۵۰ شرقی و ارتفاع ۱۲۵۳ متر از سطح دریا، به‌منظور اندازه‌گیری نقطه‌ی انجماد و تحمل این آفت به سرما جمع‌آوری شدند. یونجه‌های مورد نظر، چهارساله و رقم آن‌ها همدانی بود.

اطلاعات آب و هوایی

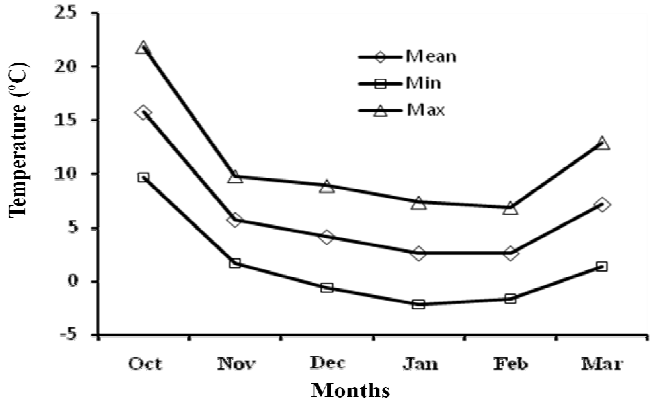
اطلاعات هواشناسی مورد نیاز از ایستگاه هواشناسی کرج واقع در دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه تهران، به مختصات "۲۳ '٤٨ °۳۵ شمالی، "١٤ '٥٧ °٥٠ شرقی و ارتفاع ۱۲۹۲/۹ متر از سطح دریا، تهیه گردید. براساس اطلاعات هواشناسی، ماه‌های آذر، دی و بهمن ۹۱-۱۳۹۰، سردترین ماه‌های سال بودند و میانگین حداقل دمای ثبت‌شده در این سه ماه، به‌ترتیب ۰/٦٥-، ۲/۱٦- و ۱/٦۷- درجه‌ی سلسیوس بود (شکل ۱).

اندازه‌گیری نقطه‌ی انجماد حشرات کامل

در هر ماه، از میان حشرات کامل جمع‌آوری‌شده از مزارع، تعداد ۲۰-۱۵ حشره به‌طور تصادفی انتخاب و نقطه‌ی انجماد آن‌ها با روش Neven (1999) اندازه‌گیری شد. بدین‌منظور، سنسور جنس نیکل-کروم ثبت‌کننده‌ی دما (Testo, model 177-T4, Germany) در تماس با سطح شکمی حشرات کامل قرار گرفت و در محل خود تثبیت شد و سپس به دستگاه تست چمبر (Binder GmbH Bergstr, model MK53, Germany) منتقل گردید. دمای این دستگاه طوری برنامه‌ریزی شده بود که به‌تدریج با سرعت تقریبی ۰/۵ درجه‌ی سلسیوس در دقیقه سرد می‌شد و از دمای ۲۰+ به دمای ۲۵- درجه‌ی سلسیوس می‌رسید. طی این مدت در هر ۳۰ ثانیه دمای بدن حشره ثبت می‌شد. نقطه‌ای که پس از آن به‌خاطر آزاد شدن گرمای درونی، افزایش سریع دما رخ می‌داد، به‌عنوان نقطه‌ی انجماد تعیین شد (Lee, 1991).

اندازه‌گیری تحمل به سرما

تحمل حشرات کامل زمستان‌گذران به سرما در دماهای ۵-، ۷-، ۹-، ۱۱-، ۱۳- و ۱۵- درجه‌ی سلسیوس مورد آزمایش قرار گرفت. برای هر دما در هر ماه ٤٠ عدد حشره‌ی کامل (۱۰ حشره داخل لوله‌های آزمایشگاهی به حجم ۱۵ میلی‌لیتر در ٤ تکرار) در نظر گرفته شد (Powell & Bale, 2005; Worland *et al*., 2010). سپس، نمونه‌ها داخل دستگاه تست چمبر قرار داده شدند و دمای دستگاه از ۲۰+ درجه‌ی سلسیوس تا دمای مورد نظر به‌تدریج با سرعت ۰/۵ درجه‌ی



شکل ۱- بیشینه، میانگین و کمینه‌ی دمای ماهیانه طی ماه‌های مهر تا اسفند ۱۳۹۰ از ایستگاه هواشناسی کرج واقع در مزرعه‌ی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه تهران.

Fig. 1. Maximum, average and minimum of monthly temperature from Karaj Meteorological Station located in the field of Faculty of Agriculture, Tehran University, from October 2011 to March 2012.

سلسیوس در دقیقه سرد شد. نمونه‌ها ۲۱۰ دقیقه در دمای مورد نظر قرار گرفتند. پس از آن، دمای داخل دستگاه با همان سرعت قبلی به ۲۰+ درجه‌ی سلسیوس رسید و نمونه‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت نیز در دمای اخیر قرار داده شدند. سپس، مرده یا زنده بودن آن‌ها با قلم‌مو زیر استریومیکروسکوپ بررسی شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

اطلاعات به‌دست آمده به‌صورت میانگین ± خطای معیار (mean ± standard error) گزارش شدند. تجزیه‌ی داده‌ها به‌صورت تجزیه‌ی واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS (V.18) انجام شد و در صورت معنی‌دار بودن، آزمون توکی در سطح ۵ درصد برای مقایسه‌ی میانگین تیمارهای مختلف مورد استفاده قرار گرفت. براساس نتایج به‌دست آمده از تأثیر سرما در دماهای مورد مطالعه، مقادیر LT_{50} و LT_{80} با استفاده از مدل binary logistic محاسبه شدند. در معادله‌ی لجیستیک از فرمول $Y = e^{a+bx} / (1 + e^{a+bx})$ استفاده شد. در این فرمول، a عرض از مبدأ، b شیب خط، x مقدار دما و Y درصد مرگ و میر می‌باشد (Vittinghoff *et al.*, 2005). برای بررسی ارتباط میان نقطه‌ی انجماد با میزان تحمل در ماه‌های مختلف از رابطه‌ی همبستگی پیرسون استفاده شد.

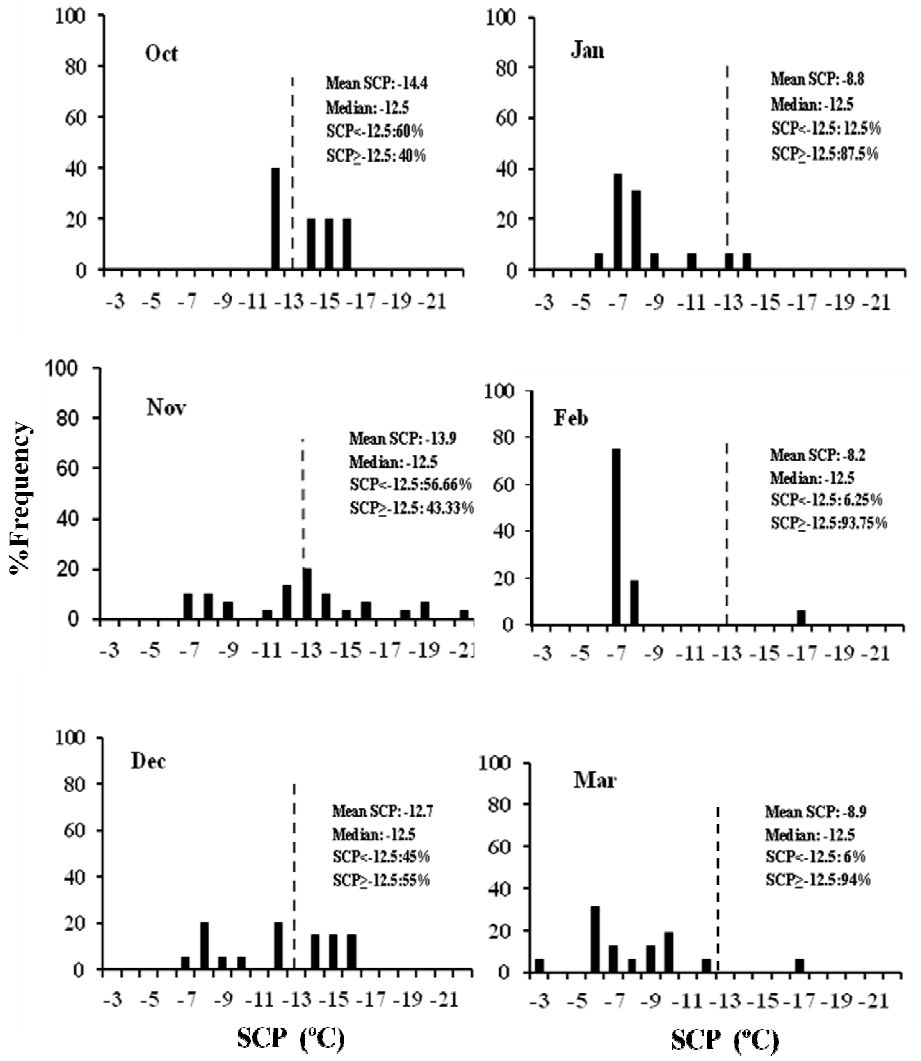
نتایج

نقطه‌ی انجماد

نقطه‌ی انجماد بدن حشرات کامل در مقایسه‌ی فصل پاییز با زمستان ۱۳۹۰ اختلاف معنی‌داری را از خود نشان داد ($df = ٤$ ،$t = ٨/٢٧$ ،$P = ٠/٠٠١$). میانگین نقطه‌ی انجماد حشرات کامل در طول ماه‌های پاییز (۱۳/٤ °C–) به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از ماه‌های زمستان (۸/٦ °C–) بود. میانگین نقطه‌ی انجماد حشرات کامل در مهر ماه ۰/٦۸ ± ۱٤/٤– درجه‌ی سلسیوس بود که این مقدار در آبان ماه افزایش ناچیزی داشت و به ۰/۷۳ ± ۱۳/٤– درجه‌ی سلسیوس رسید و تقریباً تا آذر ماه در ۰/۷۱ ± ۱۲/۵– ثابت ماند، اما در دی ماه افزایش چشم‌گیری داشته و به ۰/۵۵ ± ۸/۸– درجه‌ی سلسیوس رسید. این میزان در ماه‌های بهمن و اسفند به‌نسبت ثابت ماند، به‌طوری که اختلاف معنی‌داری بین ماه‌های دی، بهمن و اسفند وجود نداشت. علاوه‌براین، اختلاف معنی‌داری بین ماه‌های مهر، آبان و آذر دیده نشد. در واقع بین ماه‌های پاییز و زمستان اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. میانه‌ی نقطه‌ی انجماد افراد جمعیت ۱۲/۵– درجه‌ی سلسیوس بود و در ماه‌های مهر تا آذر حدود ٥٤ درصد از جمعیت دارای نقطه‌ی انجماد پایین‌تر از میانه بودند، درحالی‌که نقطه‌ی انجماد افراد جمعیت با نقطه‌ی انجمادی پایین‌تر از میانه از دی تا اسفند ماه به میانگین ۸ درصد تقلیل یافته بود. به بیان دیگر، طی ماه‌های زمستان، نقطه‌ی انجماد حدود ۹۲ درصد از جمعیت، در محدوده‌ی بالای میانه قرار گرفته است. در طول تمام تاریخ‌های نمونه‌برداری، پایین‌ترین نقطه‌ی انجماد به نمونه‌ای از آبان ماه با نقطه‌ی انجماد ۲۲/۱– و بالاترین آن به نمونه‌ای از اسفند ماه با نقطه‌ی انجماد ۳/٤– درجه‌ی سلسیوس تعلق داشت. تمامی حشرات کامل پس از اندازه‌گیری نقطه‌ی انجماد از بین رفتند. دامنه‌ی میانگین تغییرات نقطه‌ی انجماد از کم‌ترین نقطه‌ی انجماد (۱٤/٤–) تا بیش‌ترین نقطه‌ی انجماد (۸/۲–) حدود ٦ درجه‌ی سلسیوس بود (شکل ۲).

میزان تحمل به سرما

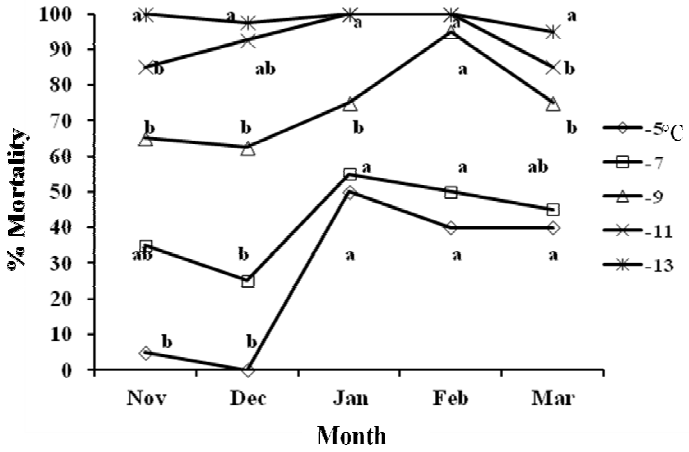
میزان تحمل افراد بالغ جمع‌آوری‌شده در ماه‌های مختلف در دمای ۵– درجه‌ی سلسیوس اختلاف



شکل۲- تغییرات میانگین نقطه‌ی انجماد (SCP) در حشرات کامل زمستان‌گذران *Hypera postica* طی ماه‌های مهر تا اسفند ۱۳۹۰.

Fig. 2. Changes of supercooling point (SCP) of overwintering adults of *Hypera postica* from October 2011 to March 2012.

معنی‌داری با هم داشت (P < ۰/۰۱، df = ٤, ١٥، F = ۲۹/۵۱). در دمای ۷- درجه‌ی سلسیوس نیز میزان تحمل افراد بالغ جمع‌آوری‌شده در ماه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری با هم داشت (P < ۰/۰۱، df = ٤, ١٥، F = ۵/٦۷). میزان تحمل افراد بالغ در دمای ۹- درجه‌ی سلسیوس در ماه‌های آبان، آذر، دی و اسفند اختلاف معنی‌داری از خود نشان نداد، اگرچه در دمای ۱۱- درجه‌ی سلسیوس میزان تحمل افراد بالغ جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و بهمن با ماه‌های آبان و اسفند اختلاف معنی‌داری داشت (P < ۰/۰۱، df = ٤, ١٥، F = ۱۱/۳۰). میزان تحمل افراد در دمای ۱۳- درجه‌ی سلسیوس اختلاف معنی‌داری از خود نشان نداد. تمام حشرات در دمای ۱۵- درجه‌ی سلسیوس از بین رفتند. حشرات کامل دمای ۵- درجه‌ی سلسیوس را تقریباً در تمام



شکل ۳- تغییرات درصد مرگ و میر در حشرات کامل زمستان‌گذران *Hypera postica* طی ماه‌های آبان تا اسفند ۱۳۹۰. حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف در سطح خطای ۵ درصد با استفاده از آزمون توکی می‌باشد.

Fig. 3. Mortality of overwintering adults of *Hypera postica* from November 2011 to March 2012. Mean with the same letters are not significantly different at the 5% level by Tukey´s test.

ماه‌ها تحمل کردند، اگرچه در دمای ۷- درجه‌ی سلسیوس نیز ماه دی با ۵۵ درصد، بالاترین میزان مرگ و میر را در بین سایر ماه‌ها از آن خود کرد. درصد مرگ و میر افراد بالغ تیمارشده در دمای ۹- درجه‌ی سلسیوس در بالاترین حد خود در بهمن ماه به ۹۵ درصد تنزل یافت. در دماهای ۱۱- و ۱۳- درجه‌ی سلسیوس درصد مرگ و میر افراد بالغ تیمارشده در بالاترین میزان خود در دی و بهمن ماه به ۱۰۰ درصد رسید (شکل ۳).

میزان LT_{50} و LT_{80} در ماه‌های مختلف تغییرات قابل توجهی را نشان دادند. میزان LT_{50} در آبان ماه ۸/٦- درجه‌ی سلسیوس به‌دست آمد که به ۸/٤- درجه‌ی سلسیوس در آذر ماه رسید ولی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. این میزان به‌تدریج افزایش یافت، به‌طوری‌که میزان آن در دی ماه به بالاترین حد خود یعنی ۵/۷- و در بهمن ماه به ٦- درجه‌ی سلسیوس رسید. در این دو ماه نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما در اسفند ماه میزان آن به ۷/۵- درجه‌ی سلسیوس کاهش پیداکرد. میزان LT_{80} در آبان ماه ۱۰- درجه‌ی سلسیوس به‌دست آمد که با میزان LT_{80} محاسبه شده در ماه‌های آذر و اسفند اختلاف معنی‌داری نشان نداد. مقادیر LT_{80} ماه‌های دی و بهمن نیز که در بالاترین میزان خود بودند، اختلاف معنی‌داری نداشتند. نتایج نشان می‌دهد که مقادیر LT_{50} بالاتر از نقطه‌ی انجماد حشرات کامل است (جدول ۱). همچنین، براساس نتایج LT_{80}، فقط ۲۰ درصد از جمعیت حشرات کامل در طی دوره‌ی زمستان می‌توانند دمای نزدیک به نقطه‌ی انجماد را تحمل کنند. در مطالعه‌ی حاضر رابطه‌ی همبستگی معنی‌داری میان نقطه‌ی انجماد با میزان تحمل حشره به سرما (LT_{50} و LT_{80}) در ماه‌های مختلف مشاهده نشد (LT_{50} : r = ۰/۷۸۳، P = ۰/۰۵۳؛ LT_{80} : r = ۰/۷۲٦، P =۰/۱٦۵).

بحث

یکی از عوامل اساسی مؤثر در زمستان‌گذرانی حشرات، توانایی آن‌ها برای ایجاد تغییرات متابولیکی در

جدول ۱- تغییرات نقطه‌ی انجماد، LT_{50}، LT_{80} و حدود اطمینان آن‌ها در حشرات کامل زمستان‌گذران *Hypera postica* طی ماه‌های مهر تا اسفند ۱۳۹۰.

Table 1. Changes of supercooling points, LT_{50}, LT_{80} and their confidence limits of overwintering adults of *Hypera postica* from October 2011 to March 2012.

Month	SCP (°C)	LT_{50} (°C)	95% CL (°C)	LT_{80} (°C)	95% CL (°C)
October	-14.4 ± 0.68 b	No data	No data	No data	No data
November	-13.4 ± 0.73 b	-8.6 c	(-8.5, -8.6)	-10.0 b	(-9.8, -10.5)
December	-12.5 ± 0.71 b	-8.4 c	(-8.4, -8.5)	-9.9 b	(-9.6, -10.3)
January	-8.8 ± 0.55 a	-5.7 a	(-4.6, -6.2)	-8.7 a	(-8.3, -9.6)
February	-8.2 ± 0.60 a	-6.0 a	(-5.7, -6.3)	-7.9 a	(-7.7, -8.4)
March	-8.8 ± 0.80 a	-7.5 b	(-7.2, -7.7)	-9.8 b	(-9.5, -10.3)

SCP = Supercooling point; CL = Confidence limits.

زمان‌های تنش است. دماهای پایین یکی از مشکلات اساسی حشرات برای زنده ماندن است که آن‌ها را مجبور به استفاده از مجموعه‌ای از ساز و کارهای رفتاری و فیزیولوژیکی می‌نماید که از آسیب دماهای پایین مصون بمانند (Lee *et al*., 1987). سرماسختی توانایی یک حشره برای افزایش سطح تحمل به سرما می‌باشد. سرماسختی یک سازگاری فیزیولوژیکی مهم در بندپایان است که آن‌ها را برای ورود به فصل زمستان آماده می کند (Michaud & Denlinger, 2007).

در پژوهش حاضر، میانگین نقطه‌ی انجماد در سه‌ماهه‌ی پاییز به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از سه‌ماهه‌ی زمستان بود. همچنین، درصد فراوانی افرادی که نقطه‌ی انجماد بالایی در پاییز داشتند بسیار کم‌تر از سه‌ماهه‌ی زمستان بود. مطالعات بسیاری نشان داده است که یکی از عوامل مؤثر در بالا رفتن نقطه‌ی انجماد در حشرات تغذیه می‌باشد. بنابراین، ذرات غذایی موجود در دستگاه گوارش می‌تواند جزء عوامل مولد هسته‌ی یخ خارجی محسوب شود و وجودشان سبب بالارفتن نقطه‌ی انجماد شود (Bale *et al*., 1989; Lee , 1991)، هرچند که این امر نیاز به پژوهش‌های بیش‌تری دارد. بنابر مطالعات Blickenstaff *et al*., (1970)، سرخرطومی یونجه دیاپوز تابستانه دارد و به‌طور معمول از خردادماه به مدت ۵-٤ ماه به حالت دیاپوز به‌سر می‌برد. این نتایج در نمونه‌برداری‌های حاضر نیز در کرج مشاهده شد (اطلاعات منتشرنشده). در نمونه‌برداری‌هایی که برای جمع‌آوری حشرات کامل جهت تعیین نقطه‌ی انجماد صورت گرفت، حشرات کامل در طول دوره‌ی تابستان به‌سختی مشاهده و جمع‌آوری شدند. به‌نظر می‌رسد این حشره به‌تدریج از مهر ماه وارد مزرعه می‌شود، ازاین‌رو حشراتی که در مهر ماه جمع‌آوری شدند در حدی نبودند که بتوان تحمل آن‌ها را در دماهای مختلف مورد بررسی قرار داد. از اوایل آبان ماه جمعیت حشرات کامل به‌تدریج رو به افزایش بود، به‌طوری‌که حشرات مورد نیاز برای مطالعات سرماسختی به‌راحتی جمع‌آوری شدند. وسیع بودن دامنه‌ی نوسان‌های نقطه‌ی انجماد در ماه‌های مهر، آبان و آذر حاکی از این مطلب است که حشراتی که در این ماه‌ها در فرآیند نمونه‌برداری به‌دست آمدند، یا در حال تغذیه در مزرعه بوده و یا تازه به مزرعه وارد شده بودند. بنابراین، به‌نظر می‌رسد حشراتی که نقطه‌ی انجماد آن‌ها پایین‌تر از ۱۲/۵- درجه‌ی سلسیوس (میانه) باشد، به‌طور عمده از نوع حشراتی هستند که در حال ورود به مزرعه می‌باشند.

دامنه‌های دمایی ۵/۷- تا ۸/٦- و ۷/۹- تا ۱۰- درجه‌ی سلسیوس به‌ترتیب موجب مرگ و میر ۵۰ و ۸۰ درصد جمعیت شد. باوجود پایین بودن نقطه‌ی

انجماد حشرات کامل سرخرطومی یونجه (از ۸/۲- تا ۱٤/٤- درجه‌ی سلسیوس)، این حشره نمی‌تواند دماهای نزدیک به نقطه‌ی انجماد را تحمل کند و درصورتی‌که سرما به نقطه‌ی انجماد حشره نزدیک شود، تلفات بالایی در جمعیت سرخرطومی یونجه رخ خواهد داد. در مطالعاتی که روی میزان تحمل به سرما در سایر سرخرطومی‌ها نظیر *Rhynchaenus fagi* (L.)، *Hypera punctata* L. و *Anthonomus grandis* Boheman صورت گرفته، مشاهده شده است که این سرخرطومی‌ها نیز نمی‌توانند دماهای نزدیک به نقطه‌ی انجماد را تحمل کنند و در دماهای بالاتر از نقطه‌ی انجماد تلفات دارند (Coulson & Bale, 1996; Watanabe & Tanaka, 1997; Suh *et al*., 2002). البته سرخرطومی‌های دیگری نظیر *Bothrometopus randi* L.، *Bothrometopus elangatus* L. و *Ectemnorhinus marioni* L. می‌توانند دماهای نزدیک به نقطه‌ی انجماد را تحمل کنند (Van der Merwe *et al*., 1997). این نکته حائز اهمیت است که سرخرطومی یونجه، برخلاف سرخرطومی‌هایی که در بالا به آن‌ها اشاره شد، دیاپوز زمستانه ندارد و دارای دیاپوز تابستانه است، ازاین‌رو قدرت تحمل این حشره نسبت به سرما باتوجه به اینکه در طول زمستان در مرحله‌ی غیردیاپوزی به تغذیه و تخم‌ریزی می‌پردازد، در نوع خود قابل توجه است.

براساس اطلاعات هواشناسی، حداقل دمای ماهانه در سال ۱۳۹۰، ۸/٦- درجه‌ی سلسیوس بود، درحالی‌که حشرات کامل سرخرطومی یونجه در طول دوران مطالعه در کرج حداقل دمای ۱۲- درجه‌ی سلسیوس را در بهمن ماه تجربه کردند. این در حالی است که براساس گزارش‌های هواشناسی، دمای خاک در عمق ۵ سانتی‌متری خاک در سردترین دمای ثبت‌شده در کرج به ۱/٦ درجه‌ی سلسیوس رسیده است. حشرات سرخرطومی یونجه به‌طور معمول در روزهای سرد به عمق ٤-۳ سانتی‌متری خاک نفوذ می‌کنند و شرایط خردزیستگاه، به‌طورکلی، با کمینه‌ی دمای کم‌تری نسبت به دمای هوا روبه‌رو می‌شود. بااین‌وجود، در ماه‌های سرد سال روی گونی‌های کنفی پهن‌شده‌ای که به‌عنوان تله برای جمع‌آوری حشرات کامل قرار داده شده بود، حشرات مرده‌ی ناشی از یخبندان مشاهده می‌شدند. بخشی از این تلفات ناشی از آن است که حشرات کامل در طول زمستان در مرحله‌ی غیردیاپوزی به‌سر می‌برند و در حال تغذیه و تخم‌ریزی می‌باشند. جالب توجه است که حشرات کامل گرایش قابل توجهی نسبت به گونی‌های کنفی، حتی با رطوبت ملایم، نشان می‌دادند. با این روش، ماهانه جمعیتی بالغ بر ۲۵۰ حشره‌ی کامل برای آزمایش‌ها جمع‌آوری می‌شدند. بنابراین، شاید پهن کردن گونی‌های کنفی به‌صورت لکه‌ای در سطح مزرعه در طول پاییز و زمستان، به‌عنوان تله برای جمع‌آوری و انهدام این حشرات، در کاهش جمعیت لاروها در اواخر زمستان مؤثر باشد. بااین‌حال، به‌علت وجود دشمنان طبیعی در لابلای گونی، این روش پیشنهادی کنترل فیزیکی باید مورد توجه بیش‌تری قرار گیرد. قابل توجه است که ایده‌ی استفاده از گونی‌های کنفی برای اولین‌بار در این پژوهش ابداع و مورد استفاده قرار گرفت. طبیعی است که بیش‌تر حشرات در رویارویی با دماهای پایین، مکان‌های حفاظت‌شده‌ای در درون خاک نسبت به برف و یخ انتخاب می‌کنند. این پناهگاه‌ها، به‌ویژه هنگام محبوس شدن هوا در درونشان، عایق مناسبی در برابر دماهای پایین خواهند بود. به‌این‌ترتیب، در زیر برف دما به‌ندرت به پایین‌تر از نقطه‌ی انجماد می رسد (Danks, 2004). ازاین‌رو، انتخاب زیستگاه مناسب جهت زمستان‌گذرانی بسیار حائز اهمیت است و اثر واقعی دماهای پایین روی حشرات تا حد زیادی به خردزیستگاه و پناهگاه حشره بستگی دارد (Denlinger, 1991; Danks, 2004; Kostal, 2006; Khani *et al*., 2007;

(Lee, 2010). بنابراین، خردزیستگاه‌ها نقش بسیار مهمی را برای این حشرات ایفا می‌کنند.

به‌طورکلی، حشرات سرخرطومی یونجه قادرند با شرایط آب و هوایی کرج به‌خوبی خود را سازگار کرده و جمعیت قابل توجهی را روی یونجه ایجاد کنند و با مساعد شدن شرایط آب و هوایی تخم‌ریزی خود را آغاز کرده و در اواخر زمستان خسارت بالایی به مزارع یونجه وارد نمایند. بنابراین، پیش‌بینی می‌شود که خسارت سرخرطومی یونجه در زمستان‌های ملایم به‌طور قابل توجهی افزایش یابد. ازاین‌رو، باتوجه به گرم شدن اقلیم کرج، انتظار می‌رود خسارت سرخرطومی یونجه زودتر از زمان پیش‌بینی‌شده به‌وقوع بپیوندد و کشاورزان با خسارت بیش‌تری مواجه شوند. بنابراین، اقدام‌های پیش‌گیرانه برای کنترل خسارت سرخرطومی در چین اول یونجه حتی می‌تواند قبل از اسفند ماه در کرج صورت گیرد.

منابع

Bale, J. S., Hansen, T. N. & Baust, J. G. (1989) Nucleators and sites of nucleation in the freeze tolerant of the gall fly *Eurosta solidaginis*. *Journal of Insect Physiology* 35, 291-295.

Berbrret, R. C. & McNew, R. W. (1986) Reduction in yield and quality of leaf and stem components of alfalfa forage due to damage by larvae of *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 79, 212-218.

Blickenstaff, C., Huggans, J. L. & Schroder, R. W. (1970) Biology and ecology of the alfalfa weevil (*Hypera postica*) in Maryland and New Jersey 1961-1967. *Annals of the Entomological Society of America* 65, 336-344.

Campbell, W. V., Busbice, T. H., Falter, J. M. & Glover, J. W. (1975) Alfalfa weevil and its management in north Carolina. *Technical Bulletin / North Carolina Agricultural Experiment Station*, No. 234.

Coulson, S. J. & Bale, J. S. (1996) Supercooling and survival of the beech leaf mining weevil *Rhynchaenus fagi* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Insect Physiology* 42, 617-623.

Danks, H. V. (2004) Seasonal adaptations in Arctic insects. *Integration and Comparative Biology* 44, 85-94.

Denlinger, D. L. (1991) Relationship between cold hardiness and diapauses. pp. 174-198 in Lee, R. E. & Denlinger, D. L. (Eds) *Insect at low temperature*. 513 pp. Chapman and Hall, New York.

DeWitt, J. R., Armbrust, E. J., Roberts, S. J. & White, C. E. (1969) Preliminary study of the bionomics of the alfalfa weevil on soybean. *Journal of Economic Entomology* 62, 1233-1234.

Hao, S. & Kang, L. (2004) Supercooling capacity and cold hardiness of the eggs of the grasshopper *Chorthippus fallax* (Orthoptera: Acrididae). *European Journal of Entomology* 101, 231-236.

Hutchins, S. H., Buntin, G. D. & Pedigo, L. P. (1990) Impact of insect feeding on alfalfa re growth: a review of physiological responses and economic consequences. *Agronomy Journal* 82, 1035-1044.

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.

Kostal, V. (2006) Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of Insect Physiology* 52, 113-127.

Lee, R. E., Chen, C. P. & Denlingeer, D. L. (1987) A rapid cold-hardening process in insects. *Science* 238, 1415-1417.

Lee, R. E. (1991) Principles of insect low temperature tolerance. pp. 17-46 in Lee, R. E. & Denlinger, D. L. (Eds) *Insects at low temperature*. 513 pp. Chapman Hall, New York.

Lee, R. E. (2010) A primer on insect cold tolerance. pp. 3-34 in Denlinger, D. L. & Lee, R. E. (Eds). *Low temperature biology of insects*. 390 pp. Cambridge University Press, Cambridge.

Michaud, M. R. & Denlinger, D. L. (2007) Shifts in the carbohydrates, polyol, and amino acid pools during rapid cold-hardening and diapauses-associated cold-hardening in flesh flies (*Sarcophaga crasipalpis*): a metabolomic comparison. *Journal of Comparative Physiology B*: *Biochemical*, *Systemic*, *and Environmental Physiology* 177, 753-763.

Nedved, O. (2000) Chill tolerance in the tropical beetle *Stenotarsus rotundus*. *CryoLetters* 21, 25-30.

Neven, L. G. (1999) Cold hardiness adaptation of codling moth, *Cydia pomonella*. *Cryobiology* 38, 43-50.

Powell, S. J. & Bale, J. S. (2005) Low temperature acclimated populations of the grain aphid *Sitobiona avenae* retain ability to rapidly cold harden with enhanced fitness. *Journal of Experimental Biology* 208, 2615-2620.

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.

Seraj, A. A. (1988) Life study of *Hypera postica* and preventive methods from its damage. M.Sc. Thesis. Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University.

Soudi, Sh. & Moharramipour, S. (2011) Cold tolerance and supercooling capacity in overwintering adults of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology* 40(6), 1546-1553.

Suh, C. P., Spurgeon, D. W. & Westbrook, J. K. (2002) Influence of feeding status and physiological condition on supercooling points of adult boll weevil (Colleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology* 31, 754-758.

Summers, C. G. (1989) Effects of selected pests and multiple pest complexes on alfalfa productivity and stand persistence. *Journal of Economic Entomology* 82, 1782-1791.

Turnock, W. J. & Fields, P. G. (2005) Winter climates and cold hardiness in terrestrial insects. *European Journal of Entomology* 102, 561-576.

Van der Merwe, M., Chown, S. L. & Smith, V, R. (1997) Thermal tolerance limits in six weevil species (Coleoptera: Curculionidae) from sub-Antarctic Marion Island. *Polar Biology* 18, 331-336.

Vittinghoff, E., Glidden, D., V., Shiboski, S., C. & McCulloch, C. E. (2005) Regression methods in biostatistics: linear, logistic, survival and repeated measures models. 337 pp. Springer Science and Business Media, New York.

Vojdani, S. & Daftari, A. (1963) *Hypera postica* in Karaj. Bulletin of Crop Protection, Faculty of Agriculture, Tehran University. 32 pp. [In Persian].

Watanabe, M. & Tanaka, K. (1997) Overwintering status and cold hardiness of *Hypera punctata* (Coleoptera: Curculionidae). *Cryobiology* 35, 270-276.

Wilson, H. K. & Quisenberry, S. S. (1986) Impact of feeding by alfalfa weevil larvae (Coleoptera: Curculionidae) and pea aphid (Homoptera: Aphididae) on yield and quality of first and second cuttings on alfalfa. *Journal of Economic Entomology* 79, 785- 789.

Worland, M. R., Janion, C. H., Treasure, A. M. & Chown, S. L. (2010) Pre-freeze mortality in three species of aphids from sub-Antarctic Marion Island. *Journal of Thermal Biology* 35, 255-262.