

## بررسی میزان تغذیه کفشدوزک *Cryptolaemus montrouzieri* از تخم‌های بالشتک معمولی و شپشک آردآلود مرکبات و طول دوره لاروی آن

امیرحسین طورانی<sup>۱</sup>؛ حبیب عباسی پور<sup>۲</sup>؛ بهنام امیری<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

۲. استاد گروه گیاه‌پزشکی دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

۳. استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۹/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۲۱)

### چکیده

کفشدوزک *Cryptolaemus montrouzieri* یکی از مهم‌ترین شکارگرهای شپشک‌هاست که در سنین مختلف لاروی و حشره بالغ از تخم‌های بالشتک معمولی، *Pulvinaria aurantii* و شپشک آردآلود مرکبات، *Planococcus citri* در شمال ایران تغذیه می‌کند. در این تحقیق، میزان تغذیه مراحل سنی کفشدوزک شامل لاروهای سن یک، دو، سه، چهار و حشره بالغ (نر و ماده) در دماهای ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $80 \pm 5$  درصد و دوره نوری ۱۶L:۸D ساعت، از تخم‌های آفات مذکور شمارش شد. همچنین طول دوره مراحل مختلف لاروی محاسبه شد. مقایسه میانگین نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین میزان تغذیه مراحل سنی مختلف و در دماهای متفاوت وجود دارد. بیشترین میزان تغذیه از تخم‌های بالشتک معمولی و شپشک آردآلود مربوط به حشره ماده کفشدوزک به ترتیب (۵۰۳/۲۲) و (۵۷۶۲/۴±) و (۳۱۳/۷۹ ± ۲۲۲۲/۱۷) بود. در بین دماها، بیشترین تغذیه از بالشتک معمولی در دمای سی درجه سلسیوس و از شپشک آردآلود در دمای ۲۵ درجه به ترتیب (۲۴۰/۱۹ ± ۳۶۹۶/۳۳) و (۱۲۶۵/۰۶ ± ۱۳۹/۲۶) مشاهده شد. کوتاه‌ترین طول دوره لاروی در دمای ۲۵ درجه مشاهده شد. نتایج نشان داد که میزان تغذیه کفشدوزک از تخم‌های آفات مذکور بالاست و می‌تواند به‌منظور کنترل بیولوژیک جمعیت آفت در باغات، استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: دما، کفشدوزک شکارگر، مراحل سنی، تغذیه، کنترل بیولوژیک.

## Study of feeding rate of *Cryptolaemus montrouzieri* on eggs of the citrus cushions and citrus mealybug and its larval developmental period

A. Toorani<sup>1</sup>, H. Abbasipour<sup>2</sup>, B. Amiri<sup>3</sup>

1, MSc student of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, 2, Professor of Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, 3, Assistant Professor, Department of Plant Protection, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

(Received December 16, 2016 - Accepted: March 12, 2018)

### ABSTRACT

The ladybird predator, *Cryptolaemus montrouzieri* is one of the most important predators of scale insects which in different larval instars and adult stage feed on eggs of the citrus cushions, *Pulvinaria aurantii* and the citrus mealybug, *Planococcus citri* in northern Iran. In this study, The feeding rate of different age stages of the predator including first, second, third and fourth larvae and adult stage (male and female) were calculated on the eggs of two pests at 20, 25, 30 and 35°C,  $80 \pm 5\%$  RH and 16L:8D h photoperiods. Also, different developmental periods of larvae were calculated. Results of mean comparison showed that there is a significant difference between the different age stages and in different temperatures. So that the highest feeding rate observed by adult ladybird on the eggs of *P. aurantii* ( $5762.4 \pm 503.22$ ) and *P. citri* ( $2222.15 \pm 313.79$ ), respectively. Among different temperatures, the highest feeding rate from the citrus cushions, *P. aurantii* was observed at 30°C ( $3696.33 \pm 240.19$ ) and from the citrus mealybug, *P. citri* ( $1265.06 \pm 139.26$ ) at 25°C, respectively. The lowest larval period was observed at 25°C. Results showed that feeding rate of the predator on eggs of the pest is high and can be used in orchards as an alternative for chemical pesticides.

**Keywords:** Temperature, predator ladybird, age stages, feeding, Biocontrol.

### تازه‌های تحقیق

با توجه به اینکه در زمان فعالیت کفشدوزک *Cryptolaemus montrouzieri* در باغ‌های مرکبات استان مازندران دمای هوا محیط بین ۲۰ تا ۳۵ درجه سلسیوس متغیر است و رطوبت هوا تقریباً  $5 \pm 80$  می‌باشد؛ لذا در این پژوهش برای اولین بار در شرایط آزمایشگاهی (دماهای ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $5 \pm 80$  درصد و دوره نوری ۸D:۱۶L ساعت)، تغذیه و طول دور لاروی کفشدوزک در تغذیه از تخم‌های بالشتک معمولی و شپشک آردآلود مرکبات انجام گرفت.

### مقدمه

کفشدوزک شکارگر *Cryptolaemus montrouzieri* (Muls. (Col.: Coccinellidae: Scymninae) به‌طور وسیع در برنامه‌های کنترل بیولوژیک گونه‌های مختلف شپشک‌ها و بالشتک‌ها در جهان استفاده می‌شود ((Kario et al. 2013, Clausen 1915). شپشک آردآلود مرکبات، *P. citri* آفتی بسیار چندخوار است و روی بیش از ۲۵ تیره گیاهی فعالیت می‌نماید و در حال حاضر در آسیا، اروپا و ایالات متحده آمریکا از آفات مهم انواع مرکبات به‌شمار می‌رود (Godfrey et al. 2002). بالشتک معمولی مرکبات، *P. aurantii* نیز یکی از مهم‌ترین آفات مرکبات در شمال کشور است که با تغذیه از شیره گیاهی موجب ضعف درخت شده و در شرایط طغیانی موجب خسارت شدید و ریزش برگ، میوه و خشک‌شدن گیاه می‌شود. علاوه بر آن، این آفت با ترشح زیاد عسلک سبب رشد قارچ فوماژین نیز می‌شود و در نتیجه، کیفیت و بازارپسندی میوه‌ها به‌شدت کاهش می‌یابد (Hallaji Sani 1999). مصرف بی‌رویه سموم به‌منظور کنترل این بالشتک تأثیرات جانبی نامطلوبی بر محیط‌زیست گذاشته و سبب ظهور ژنوتیپ‌های مقاوم به اغلب حشره‌کش‌ها می‌شود (Damavandian 2006). بنابراین به کارگیری روش‌های کنترل سالم مانند کنترل بیولوژیک باهدف کاهش تأثیرات مضر روی محیط‌زیست، ضروری به‌نظر می‌رسد (van

Driesche 1994). با توجه به اهمیت این کفشدوزک به‌عنوان دشمن طبیعی آفات مذکور در باغات مرکبات منطقه، این پژوهش با هدف بررسی میزان تغذیه مراحل مختلف سنی کفشدوزک شکارگر *C. montrouzieri* و تأثیر دماهای ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ روی میزان تغذیه کفشدوزک مذکور از تخم‌های بالشتک معمولی مرکبات و شپشک آردآلود مرکبات در شرایط رطوبت نسبی  $5 \pm 80$  درصد و دوره نوری ۸D:۱۶L ساعت انجام شد.

### مواد و روش‌ها

به‌منظور تغذیه کفشدوزک از تخم‌های بالشتک معمولی مرکبات *P. aurantii*، سرشاخه‌ها و برگ‌های مرکبات (پرتقال تامسون ناول) که حاوی کیسه‌های تخم بالشتک بودند، از باغات مرکبات شهرستان ساری جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. تخم‌ها به‌دقت زیر باینوکولر شمارش شدند و سپس برای تغذیه در اختیار مراحل مختلف سنی کفشدوزک‌ها قرار گرفتند. شپشک‌های آردآلود *P. citri* ماده جمع‌آوری‌شده از باغات مرکبات ساری پس از انتقال به اتاق پرورش روی میوه کدو تنبل (*Cucurbit maxima*) و جوانه سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*) قرار گرفتند و به آن‌ها اجازه افزایش جمعیت داده شد. شپشک آردآلود مرکبات، در آزمایشگاه و در داخل اتاق پرورش به ابعاد ۴×۴ متر (دمای  $2 \pm 26$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $5 \pm 80$  درصد و دوره نوری شانزده ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی) پرورش داده شد. سپس از تخم‌های تولیدشده به‌وسیله حشرات ماده برای تغذیه سنین مختلف کفشدوزک استفاده شد. کلنی اولیه کفشدوزک *C. montrouzieri* از باغات مرکبات ساری تهیه شد و پس از انتقال به اتاق پرورش، روی کدوها یا سیب‌زمینی‌های آلوده به شپشک آردآلود قرار گرفت. به‌ازای هر یک عدد کدو یا چند عدد غده سیب‌زمینی یک تا دو جفت کفشدوزک کامل نر و ماده رهاسازی شد و هر پنج تا شش روز یک بار یک تا دو عدد کدوی آلوده به شپشک یا تعداد کافی غده سیب‌زمینی با کدوها یا

به منظور به دست آوردن میزان تغذیه آن‌ها و مقایسه با سنین لاروی، فقط میزان تغذیه در پنج روز محاسبه شد. میزان تغذیه مراحل سنی مختلف کفشدوزک که شامل لاروهای سن یک، دو، سه، چهار و حشرات بالغ نر و ماده بود در دماهای ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $80 \pm 5$  درصد و دوره نوری شانزده ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی انجام شد. برای تفکیک حشرات نر و ماده از رنگ ساق و ران پاهای جلویی استفاده شد. در نرها به رنگ زرد تیره تا قهوه‌ای روشن دیده می‌شود در حالی که در ماده‌ها تیره و سیاه‌رنگ است. آنالیز آماری بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS Version 24 انجام شد و مقایسه میانگین از طریق آزمون چند دامنه توکی انجام شد.

### نتایج

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که میزان تغذیه کفشدوزک شکارگر *C. montrouzieri* از تخم‌های بالشتک معمولی مرکبات در تمام مراحل مختلف سنی بیشتر از تخم‌های شپشک آردآلود بود. بررسی تجزیه و تحلیل میانگین میزان تغذیه تمام مراحل سنی کفشدوزک از دو طعمه مختلف در دماهای متفاوت در جدول ۲ آورده شده است.

سبب زمینی‌های قبلی جایگزین شدند تا کفشدوزک‌ها با کمبود طعمه دچار نشوند. پرورش کفشدوزک‌ها تا سه نسل به منظور تثبیت کلنی ادامه یافت و از نسل سوم کفشدوزک‌ها برای انجام آزمایش‌های مورد نظر استفاده شد. به منظور بررسی میزان تغذیه سنین مختلف لاروی و حشرات بالغ نر و ماده کفشدوزک *C. montrouzieri* از تخم تیمارها (بالشتک معمولی و شپشک آردآلود مرکبات) در ده تکرار استفاده شد. در مجموع تعداد ده عدد لارو سن اول تازه تفریخ شده به صورت انفرادی در ظروف پتری دیش به قطر ۹ و ارتفاع ۱/۵ سانتی‌متر روی کاغذ صافی قرار داده شدند. برای هر دو میزان از یک بستر استفاده شد. با توجه به آزمایش‌های مقدماتی و آگاهی از میزان تقریبی تغذیه لاروهای کفشدوزک از تخم میزبان، هر روز تعداد کافی از تخم هر میزبان (دویست عدد تخم برای سنین یک و دو لاروی و هزار عدد تخم برای سنین سه و چهار لاروی و حشرات کامل نر و ماده) به طور روزانه در اختیار کفشدوزک قرار داده شدند. در پایان هر سن لاروی، ظروف پتری دیش جدید تهیه گردید و لاروهای تازه تغییر جلد داده کفشدوزک به این ظروف منتقل شدند طول دوره هر سن لاروی هم در فاصله دو پوست‌اندازی محاسبه شد. با شمارش روزانه تعداد تخم‌های سالم باقیمانده در ظروف قبلی، میزان تغذیه لاروها و حشرات بالغ در هر مرحله محاسبه و در جداول مربوط ثبت شد. با توجه به طولانی بودن دوره زندگی حشرات کامل نر و ماده،

جدول ۱- مقایسه میانگین ( $\pm$ SD) میزان تغذیه کل مراحل مختلف سنی کفشدوزک *Cryptolaemus montrouzieri* از تخم‌های بالشتک معمولی مرکبات، *Pulvinaria aurantii* و شپشک آردآلود مرکبات، *Planococcus citri* در همه دماها (۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس).

Table 1- Mean ( $\pm$ SD) comparison of the total predation of different age stages of *Cryptolaemus montrouzieri* ladybird on eggs of the citrus cushions, *Pulvinaria aurantii* and the citrus mealybug, *Planococcus citri* in all temperatures (20, 25, 30 and 35°C).

Life stages	Different hosts	
	<i>Pulvinaria aurantii</i>	<i>Planococcus citri</i>
1 <sup>st</sup> instar larva	529.58 $\pm$ 17.85 d	136.75 $\pm$ 21.34 e
2 <sup>nd</sup> instar larva	256.83 $\pm$ 17.83 d	153.50 $\pm$ 61.22 e
3 <sup>rd</sup> instar larva	2121.9 $\pm$ 139.78 c	548.92 $\pm$ 61.22 d
4 <sup>th</sup> instar larva	2431.3 $\pm$ 239.6 b	1657.25 $\pm$ 167.85 c
Female adult	5762.4 $\pm$ 503.22 a	2222.17 $\pm$ 313.79 a
Male adult	5447.58 $\pm$ 389.87 a	2037.50 $\pm$ 315.83 b

\*حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین ( $\pm$ SD) میزان تغذیه تمام مراحل سنی کفشدوزک *Cryptolaemus montrouzieri* از تخم‌های بالشتک معمولی مرکبات، *Pulvinaria aurantii* و شپشک آردآلود مرکبات، *Planococcus citri* در دماهای ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس.

Table 2- Mean ( $\pm$ SD) comparison of the predation of all age stages of *Cryptolaemus montrouzieri* on the eggs of the citrus cushions, *Pulvinaria aurantii* and the citrus mealybug, *Planococcus citri* at 20, 25, 30 and 35°C.

Temperature (°C)	Different hosts	
	<i>Pulvinaria aurantii</i>	<i>Planococcus citri</i>
20	2934.56 $\pm$ 221.60 b	1089.50 $\pm$ 139.93 b
25	3644.50 $\pm$ 221.24 a	1265.06 $\pm$ 139.26 a
30	3696.33 $\pm$ 240.19 a	1260.44 $\pm$ 178.44 a
35	1957.72 $\pm$ 191.97 c	889.06 $\pm$ 147.35 c

\*حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

سنی بین دمای بیست و سی درجه اختلاف معنی‌داری وجود داشت، ولی در سن دو این اختلاف مشاهده نشد. در دمای ۳۵ درجه میزان تغذیه از تخم‌های شپشک آردآلود همانند میزان تغذیه از تخم‌های بالشتک معمولی مرکبات کاهش معنی‌دار نیز وجود داشت. مراحل سنی مختلف لاروی با تغذیه از تخم‌های بالشتک معمولی مرکبات، در دمای ۲۰ و ۳۵ درجه سلسیوس دارای طول دوره بیشتری نسبت به دمای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس داشتند. نتایج نشان‌دهنده این بود که با افزایش دما از ۲۰ به ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس، طول دوره لاروی کمتر شده است ولی با افزایش دما تا ۳۵ درجه، فعالیت لارو کمتر شده و مجدداً همانند دمای بیست درجه طول دوری لاروی در تمام سنین افزایش می‌یابد. نتایج مقایسه میانگین طول دوره سنین مختلف لاروی کفشدوزک کریپتولاموس از تخم‌های شپشک آردآلود مرکبات نشان داد که در اکثر سنین لاروی، دمای ۳۵ درجه سلسیوس و در پی آن، دمای بیست درجه دارای طولانی‌ترین دوره لاروی می‌باشند که باهم اختلاف معنی‌داری نداشته و در یک گروه (a) قرار گرفتند در حالی که دمای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس دارای کمترین طول دوره لاروی بوده و باهم در گروه دوم (b) جای گرفتند. بر اساس نتایج این تحقیق، طول مجموع سنین مختلف لاروی در دمای ۲۵ درجه، کمترین (۰/۸۱  $\pm$  ۱۴/۶۸) و در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، بیشترین مقدار (۱/۹۳  $\pm$  ۳۴/۸۸) بوده است.

در آزمایشات دیگری که انجام شد، نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده مربوط به میزان تغذیه سنین مختلف لاروی و حشرات بالغ (نر و ماده) کفشدوزک *C. montrouzieri* از تخم‌های بالشتک معمولی مرکبات در دماهای مختلف، نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دماهای مختلف در سطح پنج درصد وجود دارد. طبق این نتایج، با افزایش سن کفشدوزک میزان تغذیه آن نیز افزایش می‌یابد، بجز سن دو لاروی که میزان تغذیه آن کمتر از سن یک بود. در ادامه، نتایج نشان داد که در همه سنین به‌استثنای سن سه لاروی، بیشترین میزان تغذیه از تخم‌ها در دمای سی درجه سلسیوس اتفاق افتاد، در حالی که کمترین میزان تغذیه در دمای ۳۵ درجه سلسیوس در بین تمام مراحل سنی وجود داشت. همچنین تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده مربوط به میزان تغذیه سنین مختلف لاروی و حشرات بالغ (نر و ماده) کفشدوزک *C. montrouzieri* از تخم‌های شپشک آردآلود مرکبات بیانگر آن بود که برخلاف میزان تغذیه کمتر لارو سن دو نسبت به لارو سن یک در دمای سی درجه سلسیوس، این میزان تغذیه از تخم‌های شپشک آردآلود در بقیه دماها بیشتر است. در همه مراحل سنی لاروی و همچنین حشرات بالغ نر و ماده کفشدوزک، با افزایش دما از ۲۰ به ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس، میزان تغذیه کفشدوزک از تخم نیز بیشتر شده است. با توجه به اینکه میزان تغذیه از تخم‌های شپشک آردآلود در اکثر مراحل مختلف

نوری چهارده ساعت روشنایی و ده ساعت تاریکی ثابت کردند که طول دوره نشو و نمای لاروی کفشدوزک با تغذیه از کیسه های تخم پرورش یافته روی نارنگی کلمانتین ( $0/07 \pm 12/07$ ) روز و روی نارنج ( $0/07 \pm 12/34$ ) روز بود (Bozorg-Amirkalae et al. 2015). در حالی که در پژوهش حاضر طول دوره مجموع مراحل نشو و نمای لاروی کفشدوزک در دمای ۲۵ درجه که نزدیک ترین دما به آزمایش های این محققان بود، ( $0/46 \pm 16/69$ ) روز به دست آمده است که این اختلاف می تواند به دلیل تفاوت در رطوبت های مختلف شرایط این دو آزمایش و یا اختلاف در میزبان های مرکباتی باشد که کیسه تخم های مربوط به بالشتک معمولی مرکبات از روی آن تهیه شده است چون در تحقیق حاضر، کیسه تخم ها از روی پرتقال تامسون ناول جمع آوری شد و در اختیار کفشدوزک ها قرار گرفته بود.

در تحقیق حاضر، نتایج نشان داد که کفشدوزک از تخم های بالشتک معمولی *C. montrouzieri* مرکبات، *P. aurantii* در مقایسه با تخم های شپشک آردآلود مرکبات، *P. citri* به مقدار بیشتری تغذیه می کند که مشابه با نتایج (Gharizadeh et al. 2004) می باشد و علت آن است که نوع و اندازه تخم ها در میزان تغذیه کفشدوزک *C. montrouzieri* تاثیرگذار بوده است. چون اندازه تخم های بالشتک معمولی مرکبات تقریباً نصف اندازه تخم های شپشک آردآلود می باشد، بنابراین میزان تغذیه آن از بالشتک نیز بیشتر است همچنین میزبانی گیاهی که شپشک آردآلود و بالشتک مرکبات روی آن پرورش داده شدند در تحقیق حاضر متفاوت بوده که این مورد هم تاثیر بسزایی در میزان تغذیه کفشدوزک از تخم های آنها می تواند گذاشته باشد. بزرگ امیرکلایی و همکاران در آزمایشاتی تحت شرایط کنترل شده در دمای  $26 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $70 \pm 5$  درصد و دوره

## REFERENCES

- Bozorg-Amirkalae M, Fathi AS, Golizadeh A, Mahdavian, SE** (2015) Performance of *Cryptolaemus montrouzieri* feeding on *Pulvinaria aurantii* ovisacs on citrus plants. *Biocontrol Science and Technology* 25(2): 207-222.
- Clausen CP** (1915) Mealybugs of citrus trees. *California Agriculture State Bulletin* 258: 19-48.
- Damavandian MR** (2006) Laboratory bioassay to estimate LC50 & LC 90 of mineral oil against second, third instars and adult female of *Pulvinaria aurantii* Cockerell. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 13(4): 55-61. (In Persian).
- Gharizadeh E, Hatami B, Seyedoleslami H** (2004) Comparison of biological characteristics of *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. (Col.: Coccinellidae) on *Planococcus citri* Risso (Hom.: Pseudococcidae) and *Pulvinaria aurantii* Cockerell (Hom.: Coccidae) in laboratory. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources* 8(2): 217-228. (In Persian).
- Godfrey K, Daane K, Bentley W, Gill R, Malakar-Kuenen R** (2002) Mealybugs in California vineyards. University of California Agricultural and Natural Resources Publication 21612, Oakland, CA.
- Hallaji-Sani MF** (1999) Investigation on the bioecology of *Pulvinaria aurantii* Ckll. (Hom.: Coccidae) in north of Iran. MSc. thesis. Guilan University, Iran. (In Persian).
- Kairo MTK, Paraiso O, Gautam RD, Peterkin DD** (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: 1-20.
- Van Driesche RG** (1994) Classical biological control of environmental pests. *Florida Entomologist* 77(1): 20-33.