نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۶، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۱، ص. ۳۴۲-۳۳۴

Journal of Plant Protection
Vol. 26, No. 3, Fall 2012, P. 334-342

بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی، مولکولی و زیست‌شناسی شته *Cinara pini* (Linnaeus, 1758) (Hem: Lachnidae) در شرایط گلخانه

امیرحسین ناظمی[۱]- غلامحسین مروج[۲*]- جواد کریمی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۸/۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱/۲۹

چکیده

طی بررسی های انجام شده در فروردین ۱۳۸۹ روی آفات درختان کاج *Pinus* Turra *Mugo* در شهرستان مشهد، یک کلنی شته از روی نهال های جوان در جمعیت فراوان مشاهده گردید که تحت عنوان *Cinara pini* شناسایی گردید. این شته متعلق به زیر خانواده‌ی Cinarinae و خانواده Lachnidae است. بعد از مقایسه توالی *C. pini* با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن با ابزار جستجوی Blast در بانک ژن مشخص شد که بیشترین شباهت را به گونه *C. atlantica* با ۹۳ درصد داشت. میانگین طول بدن شته به ۲/۶۹ میلیمتر می‌رسد. پایه بند آخر شاخکها کمتر از ۴ عدد مو دارد. بند آخر خرطوم بلندتر از قطر پایه کورنیکول و اندکی بلندتر از طول بند دوم پنجه پای عقبی است. نتایج بررسی زیست شناسی در شرایط دمای ۲۵±۲°C، رطوبت نسبی ۴۵±۵٪ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در طی چهل تکرار نشان داد که این آفت دارای سه سن پورگی بود که به طور متوسط ۱۰ روز طول کشید. نرخ ذاتی افزایش جمعیت ۰/۱۹۷ شته به ازای هر فرد ماده در روز و نرخ خالص تولید مثل ۳۰/۶۷ شته به ازای هر فرد ماده در هر نسل بود. دوره‌ی تولیدمثلی این شته به طور متوسط ۱۲/۶۱ روز طول کشید که در این مدت به طور متوسط ۳۶/۷۵ عدد پوره به ازای هر ماده ثبت گردید. در مجموع دوره‌ی یک نسل شته ۲۶/۲۰ روز طول کشید.

واژه‌های کلیدی: شته *Cinara pini*، نرخ ذاتی افزایش جمعیت، پارامترهای رشد جمعیت، کاج

مقدمه

اهمیت درختان و درختچه های غیر مثمر فضاهای سبز شهری از جنبه‌های مختلف زیست محیطی (کاهش آلودگی هوا، کاهش دما و تلطیف آن و غیره) و همچنین در سلامت روح و بهداشت روانی مردم بر کسی پوشیده نیست (۱). در سال‌های اخیر کاشت گونه های سوزنی برگ به دو دلیل عمده مورد توجه بوده است: نرمش اکولوژیکی و آسانی کاشت این گونه‌ها (۲) و ارزش اقتصادی درختان سوزنی برگ با رشد سریع (۳).

جنس *Cinara* متعلق به زیر خانواده‌ی Cinarinae است. این زیرخانواده دارای ۳۶۵ گونه‌ی جهانی است که بیش از ۲۰۰ گونه آن متعلق به جنس *Cinara* می‌باشد (۴۴). حدود ۱۵۰ گونه این جنس بومی آمریکای جنوبی، ۳۸ گونه از اروپا و مناطق دریای مدیترانه و ۲۰ گونه از شرق خاورمیانه گزارش شده است (۴۴). کلیه گونه‌های این جنس دارای دامنه‌ی میزبانی محدود می‌باشند که بیشتر اوقات گیاهانی با جنس مشابه هستند. فقط گونه‌هایی که در روی Cupressaceae زندگی می‌کنند دامنه‌ی میزبانی وسیع‌تری دارند و ممکن است روی گیاهانی با جنس‌های متفاوت نیز زندگی کنند (۴۴). گونه‌های جنس *Cinara* با حمله به درختان و درختچه‌ها باعث تاخیر در رشد و توسعه درخت، ریزش سوزن‌ها و پیچش شاخه‌ها می‌شوند. علاوه بر این، با تولید عسلک فراوان باعث رشد قارچ‌های دوده‌ای شده و فتوسنتز گیاه را با مشکل مواجه می‌کنند (۳۷). از جنس *Cinara* تا به حال ۸ گونه از ایران گزارش شده است که عبارتند از: *C. costata* (Zettersted)، *C. cupressi* (Buckton)، *C. pruinosa* (Hartig)، *C. cedri* (Mimeur)، *C. palaestinensis* (Lambers)، *C. pilinornis* (Hartig)، *C. tujafilina* (Del Guercio) (۴۱، ۴۲) و *C. bagdanovi* (Mordwilko) (۳۹، ۴۰). گونه *C. pini* (Linnaeus) تا به حال از کشورهای مختلف اسپانیا، آلمان، لهستان، لیتوانی و ژاپن از روی میزبان‌های *Pinus sylvestris* L.، *Pinus nigra* Arnold و *Pinus mugo* Turra گزارش شده

۱، ۲ و ۳-به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیاران گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: Moravej@um.ac.ir)

است (۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۳۱، ۳۶، ۳۸).

ساختار قطعات دهان در جنس *Cinara* به طور وسیع در طبقه‌بندی استفاده می‌شود. طول خرطوم، مشخصات بعضی از بندهای آن، شکل و تعداد موها در بند چهارم خرطوم و شکل بندهای چهارم و پنجم که با یکدیگر ترکیب شده به طور وسیع در طبقه‌بندی‌های کلیدی استفاده می‌شود (۹، ۱۰، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۴۳). جنس *Cinara* مونوفیلتیک[1] است (۲۳، ۳۵) و گونه‌های آن از نظر ریخت‌شناسی و بیولوژیکی مشابه‌اند. بنابراین به علت شباهت بین گونه‌ها متمایز کردن آنها ممکن است گیج کننده باشد (۱۹، ۴۵). شناسایی دقیق گونه‌های موجود در یک منطقه، جهت مدیریت یکپارچه آفت، اساسی و ضروری است. این شناسایی، همچنین برای کشف اولیه و زود هنگام و تحلیل خطر گونه‌های معرفی شده‌ی جدید در منطقه مفید است (۳۴). دیدگاه‌های رده‌بندی مولکولی، ویژگی‌های با ارزشی را فراهم می‌آورند که با توجه به آنها تحلیل دقیق مشکلات رده‌بندی و کشف گونه‌های جدید درون خانواده Aphididae امکان پذیر می‌گردد (۲۰). بارکدگذاری DNA به عنوان دیدگاه و روش استاندارد پیشنهاد شده که اشکال زندگی در گروه‌های متعدد موجودات زنده (۲۱) از جمله حشرات را توصیف و مشخص می‌نماید (۱۷).

از لحاظ زیست‌شناسی، نرخ ذاتی افزایش یک جمعیت اطلاعات مفیدی را از مشخصات چرخه زندگی در اختیار ما قرار می‌دهد. اطلاعات مورد نیاز برای محاسبه r_m روی جمعیت افراد ماده پایه گذاری می شود و شامل یک گروه از افراد تحت شرایط ویژه برای تعیین سن ویژه تولید مثل و زنده مانی است و بیشتر توسط اکولوژیست‌ها و محققان مبارزه بیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۱). هدف از تحقیق حاضر، مطالعه گونه *C. pini* از نظر رده‌بندی مولکولی با استفاده از توالی سیتوکروم اکسیداز، مشخصات ریخت‌شناسی و زیست‌شناسی آن در شرایط آزمایشگاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش شته

شته *C. pini* روی نهال‌های چهار تا پنج ساله کاج *Pinus mugo* که در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۲۵ و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر، در مخلوطی از خاک و خاک‌برگ قرار داشتند، در گلخانه پرورش داده شد. برای ایجاد کلنی، شته‌های اولیه با تعدادی شاخه که روی آن فعالیت داشتند از درختان کاج پردیس دانشگاه فردوسی مشهد بریده شد و روی نهال‌های موجود در گلخانه مستقر گردید. این کلنی‌ها در شرایط گلخانه در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵±۴۵ درصد و دوره ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند. پس از مدتی جمعیت شته‌های موجود در گلخانه افزایش یافت و برای انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

روش بررسی مشخصات ریخت‌شناسی

برای بررسی مشخصات ریخت‌شناسی، شته‌ها توسط قلم موئی ظریف داخل الکل اتلیک ۷۵ درصد منتقل گردید. سپس با قرار دادن نمونه زیر میکروسکوپ دیجیتال[2]، طول بند دوم پنجه‌ی پای عقب، طول شاخک، طول خرطوم، طول مفصل آخر خرطوم، طول موهای روی شاخک و قطر پایه‌ی کورنیکول در شته‌های کامل اندازه‌گیری شد. همچنین برای بررسی دقیق‌تر، از شته‌های کامل اسلاید میکروسکوپی تهیه گردید. تعداد نمونه برای بررسی ده شته کامل بی‌بال بود.

روش مطالعه مولکولی

الف- استخراج DNA

استخراج DNA ژنومی شته با استفاده از کیت بایونیر (http://bioneer.com) با شماره کاتالوگ K3032 صورت گرفت. به این منظور سه عدد شته ماده بالغ داخل میکروتیوب خرد شد و سپس ۱۸۰ میکرولیتر بافر لیزکننده و ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K به تیوب حاوی نمونه اضافه گردید. ترکیب حاصل به مدت چهار ساعت در بن‌ماری در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد نگاه داری شد. در نهایت DNA به دست آمده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

ب- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ناحیه سیتوکروم اکسیداز یک (COI)

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. نسبت هر یک از اجزای مورد استفاده به ترتیب زیر بود: ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۳ میکرولیتر بافر 10X، یک میکرولیتر $MgCl_2$، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs، ۰/۳ میکرولیتر *Taq* پلی مراز و یک میکرولیتر از هر یک از پرایمرها (با غلظت ۱۰ پیکومول). پرایمرهایی مورد استفاده در این مطالعه (۱۸) عبارت بودند از:

LCO1490(5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') و HCO2198(5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3').

شرایط واکنش PCR برای ۳۰ سیکل شامل واسرشت (۹۴ درجه سانتی‌گراد برای شصت ثانیه)، اتصال (۵۲ درجه سانتی‌گراد برای نود ثانیه) و گسترش (۷۲ درجه سانتی‌گراد برای نود ثانیه) بود. در این واکنش واسرشت اولیه با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای یک دقیقه و گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت هشت دقیقه

1- Monophyletic

2- Digital microscope Dino-lite Am-313T (ANMO Electronics Corporation. Made in Taiwan)

انجام شد. برای تعیین صحت تکثیر ناحیه ژنی مورد نظر چهار میکرولیتر از محصول PCR به دست آمده روی ژل آگارز ۱٪ به مدت یک ساعت با ولتاژ ۹۰ الکتروفورز گردید و با استفاده از اتیدیوم برماید به مدت بیست دقیقه رنگ آمیزی گردید. در نهایت تصویر ناحیه مورد نظر ذخیره شد. محتوای حاصل از PCR پس از خالص‌سازی جهت تعیین توالی به شرکت ماکروژن در کره جنوبی[1] ارسال گردید.

روش بررسی پارامترهای زیستی

برای انجام این کار تعدادی شته‌ی ماده بالغ بر روی شاخه‌های نهال قرار گرفت. سپس این شاخه‌ها با توری محصور و دهانه توری جهت جلوگیری از فرار شته‌ها با نخ مسدود گردید. پس از ۲۴ ساعت ماده‌های بالغ برداشته شدند و تعداد ۴۰ عدد از پوره‌های سن یک تولید شده در زیر توری باقی ماندند. پس از ۲۴ ساعت هر یک از پوره‌ها با استفاده از قلم‌موی ظریف به روی شاخه‌های جدید داخل توری‌های جداگانه‌ای منتقل گردیدند. انتقال این پوره‌ها در ساعات اولیه انجام نشد زیرا امکان آسیب دیدن آنها وجود داشت. پوره‌ها هر ۱۲ ساعت یکبار ارزیابی شدند و زمان پوست اندازی و مرگ و میر آنها ثبت گردید. پس از بلوغ، دوره رشد و نمو محاسبه شده و تعداد پوره‌های تولیدی توسط هر شته بالغ تا انتهای عمر ثبت گردید. پوره‌هایی که هر ۱۲ ساعت تولید می‌شد توسط قلم مو از زیر توری حذف می‌شد و این عمل تا زمان مرگ آخرین شته انجام گرفت.

در زیست شناسی، طول دوره رشدی (از بدو تولد پوره‌ها تا ظهور حشرات کامل)، طول دوره پوره‌زایی شته‌های بالغ، طول دوره قبل و پس از پوره‌زایی، طول کل دوره زندگی (از بدو تولد تا زمان مرگ) و میزان کل پوره‌زایی (توسط یک شته ماده در طول عمر خود) محاسبه گردید.

اطلاعات لازم جهت ایجاد جدول زندگی باروری شامل تعداد شته‌های زنده مانده در هر روز و تعداد پوره‌های تولید شده توسط هر شته در روز می‌باشد. با استفاده از این داده‌ها احتمال زنده ماندن از تولد تا شروع سن x (l_x) و تعداد ماده‌های حاصل از تولید مثل یک ماده در روز x (m_x) تعیین و توسط فرمول $\sum l_x m_x e^{-rmx} = 1$ (۷) نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m) محاسبه گردید. علاوه بر این r_m از طریق فرمول $r_m = ۰/۷۳۸(\ln Md)/d$ نیز محاسبه شد (۴۶). در فرمول اخیر (Md) تعداد نتاج تولید شده در فاصله ای برابر با d (طول دوران رشدی قبل از بلوغ یا فاصله بین تولد تا شروع تولید مثل) است. مقدار ۰/۷۳۸ به عنوان ضریب تصحیح است. نرخ ناخالص تولیدمثل (GRR) از رابطه $\sum m_x$ و نرخ خالص تولیدمثل (R_o) که میانگین تعداد نتاج تولید شده توسط هر حشره ماده در طول یک نسل می‌باشد از فرمول $R_o = \sum l_x . m_x$ محاسبه شد (۵). میانگین طول مدت یک نسل (T)، زمان دو برابر شدن جمعیت (DT) و نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) (میزان افزایش جمعیت نسبت به روز قبل) به ترتیب با استفاده از فرمول‌های $T= \ln(R_o)/r_m$ ،$DT=(\ln 2)/r_m$ و $\lambda=e^{rm}$ برآورد گردیدند (۶، ۳۲).

آنالیز داده ها

کروماتوگرام توالی‌های به دست آمده توسط نرم افزار Bioedit (۲۲) بررسی و در صورت نیاز ویرایش شد. بعد از اطمینان از صحت توالی‌ها، از دو رشته توالی یابی شده مستقیم و معکوس توسط نرم افزار DNA Baser رشته واحدی به دست آمد. توالی‌ها توسط نرم افزار Clustal هم ردیف شد و توالی به دست آمده با سایر داده‌های بانک ژنی از طریق برنامه nblast در پایگاه (www.ncbi.nlm.nih.gov) مقایسه گردید. به منظور ارزیابی فیلوژنیک از نرم افزار MEGA4 (۳۰) استفاده شد و روابط تبار-شناختی با روش Neighbour joining بررسی گردید. ارزیابی درجه اعتماد شجره هم با ۱۰۰۰ تکرار (۱۶) بوت استراپ انجام شد.

برای تعیین خطای استاندارد آماره‌های R_o، r_m، T، DT و λ از روش جک نایف استفاده شد (۳۳). برای انجام روش جک نایف ابتدا مقدار دقیق R_o از مجموعه کل داده‌ها (n) با روش معمول محاسبه گردید (R_o^{all})، سپس یکی از n تکرار حشرات از مجموعه داده‌های اصلی حذف شد و با استفاده از داده‌های باقیمانده n-1 حشره، نرخ خالص تولید مثل ($R_o^{(i)}$) محاسبه گردید، سپس مقدار کاذب جک نایف ($psvR_o^{(i)}$) برای این زیر مجموعه از داده‌های اصلی توسط فرمول $psvR_o^{(i)} = n.R_o^{all} - (n-1) R_o^{(i)}$ محاسبه شد. این فرایند تا زمان محاسبه تمام مقادیر کاذب جک نایف برای تمام nهای حذف شده از مجموعه داده‌های اصلی تکرار شد. سرانجام مقدار میانگین (R_o^J یا $R_o^{Jacknife}$)، واریانس ($Var(R_o^J)$) و خطای استاندارد ($SE(R_o^J)$) برای n مقدار کاذب جک نایف با استفاده از فرمول‌های ذیل محاسبه گردید.

$$SE(R_o^J)= \sqrt{\frac{var(Ro}{n}}$$

$$Var(R_o^J)= \frac{\sum_{i=1}^{n}(psvRo(i)-Ro(}{n-1}$$

$$R_o^J= \frac{\sum_{i=1}^{n} psvR}{n}$$

مشابه این روش برای سایر آماره‌ها نیز استفاده شد.

نتایج و بحث

ریخت‌شناسی شته کامل بی‌بال *Cinara pini*

در مطالعه حاضر، گونه‌ی شته *Cinara pini* برای اولین بار از ایران گزارش شد (شکل ۱- الف). طول بدن به طور متوسط

1- 908 World meridian venture center # 60-24, gasan-dogn, geumchun-gu, Seoul 153-781, South Korea

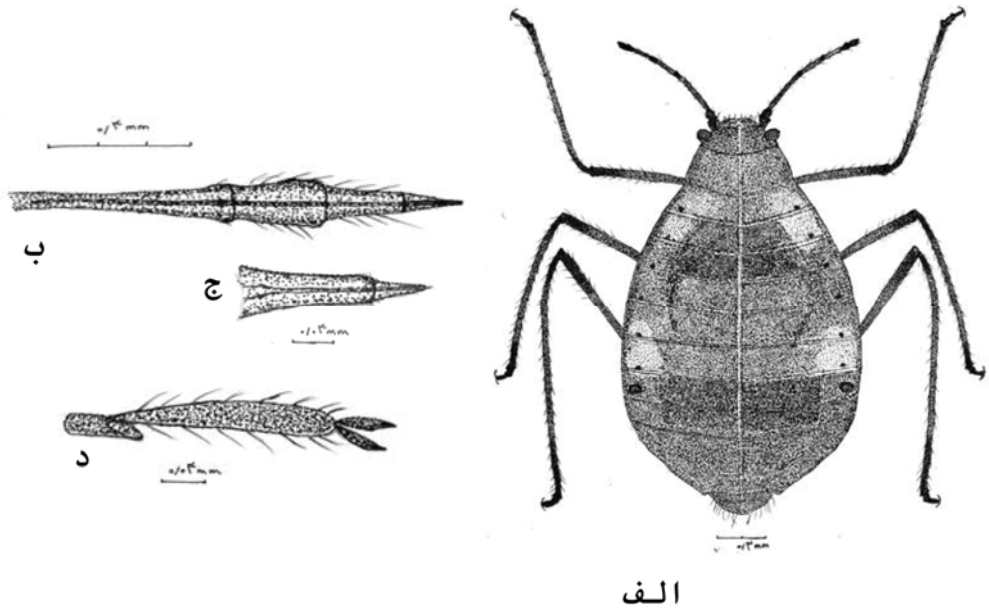
۲/۶۹±۰/۰۶ میلیمتر بود. رنگ آن قهوه‌ای تیره است. بخش زیرین بدن از گرد سفید مومی پوشیده شده است. پایه بند آخر شاخک‌ها کمتر از ۴ عدد مو دارد ولی در گونه‌ی *C. cupressi* پایه‌ی بند آخر شاخک‌ها ۴-۱۲ عدد و در گونه‌ی *C. tujafilina* ۸-۱۰ عدد موی طویل دارد (۴۱).

در گونه *C. pini* مفصل آخر خرطوم بلندتر از قطر پایه کورنیکول و یا اندکی بلندتر از طول بند دوم پنجه پای عقبی است (شکل ۱- ب و ج). همچنین طول بند دوم پنجه پای عقبی کمی بیشتر از قطر پایه کورنیکول بود (شکل ۱- د). در حالی که در گونه *C. costota* بند دوم پنجه پای عقبی کمی کوتاهتر از قطر پایه کورنیکول است (۴۱). در گونه *C. pini* طول موهای روی شاخک‌ها اندکی بیشتر از قطر پایه بند سوم شاخک‌ها بود (جدول ۱) در حالی‌که طول موهای روی شاخک‌ها در گونه‌ی *C. palaestinensis* حداکثر به اندازه قطر پایه بند سوم شاخک‌ها است (۴۱). کورنیکول‌ها سیاه و پایه و نیمه دوم ساق پاهای عقبی تیره و قسمت میانی روشن هستند.

نتایج مولکولی

در این مطالعه ناحیه ژنی COI برای گونه *C. pini* تکثیر شد و طول قطعه به دست آمده bp ۶۲۹ بود (شکل ۲). با استفاده از ابزار جستجوی Blast موجود در بانک ژن و مقایسه توالی به‌دست آمده با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن، مشخص شد که بیشترین شباهت را به گونه *C. atlantica* با ۹۳ درصد داشت. تعداد تفاوت‌ها در ژن COI براساس مقایسه‌ی دوتایی نوکلئوتیدها در میان گونه‌های مختلف *Cinara* محاسبه شد که میزان تفاوت گونه *C. pini* با گونه *Cinara anelia*، ۰/۰۷۷ pb بود.

توالی به دست آمده در این گونه با چند گونه دیگر جنس *Cinara* مقایسه شد و توسط نرم فزار MEGA4 درخت فیلوژنیک این گونه‌ها، با استفاده از روش Neighbour joining ساخته شد (شکل ۳). با توجه به فقدان توالی COI از گونه‌ی *C. pini* در بانک ژن امکان مقایسه‌ی جمعیت ایرانی این گونه با سایر جمعیت‌های این گونه میسر نگردید.



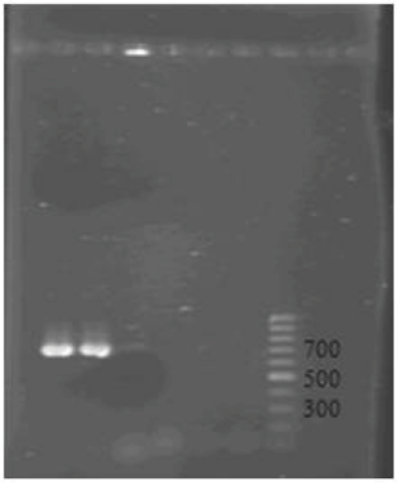
شکل ۱-(الف) نمای کلی شته کامل بی‌بال گونه *C. pini*، (ب) خرطوم، (ج) بند آخر خرطوم و (د) پنجه پای عقبی

جدول ۱- مشخصات مرفومتریک (n=۱۰ ,خطای معیار± میانگین)[¥] حشرات کامل بی‌بال شته *Cinara pini* روی کاج در مشهد

طول شاخک	طول موهای روی شاخک	طول خرطوم	طول مفصل آخر خرطوم	طول بند دوم پنجه‌ی پای عقب	قطر پایه‌ی کورنیکول
۰/۹۹۶±۰/۰۲۴	۰/۰۳۴±۰/۰۰۱	۱/۱۹۴±۰/۰۳۰	۰/۱۹۰±۰/۰۰۳	۰/۱۷۵±۰/۰۰۴	۰/۱۱۰±۰/۰۰۳

[¥]واحد اندازه‌گیری میلی‌متر می‌باشد.

این جمعیت بیشترین شباهت را به دو گونه‌ی خرطوم مفصلی با شماره‌های دسترسی Gu668794 و Gu668795 (ثبت شده بدون نام علمی در بانک DNA بارکد موسوم به سیستم Bold) داشت. بعد از این دو، گونه *C. atlantica* شباهت بیشتری به جمعیت *C. pini* مورد بررسی داشت.

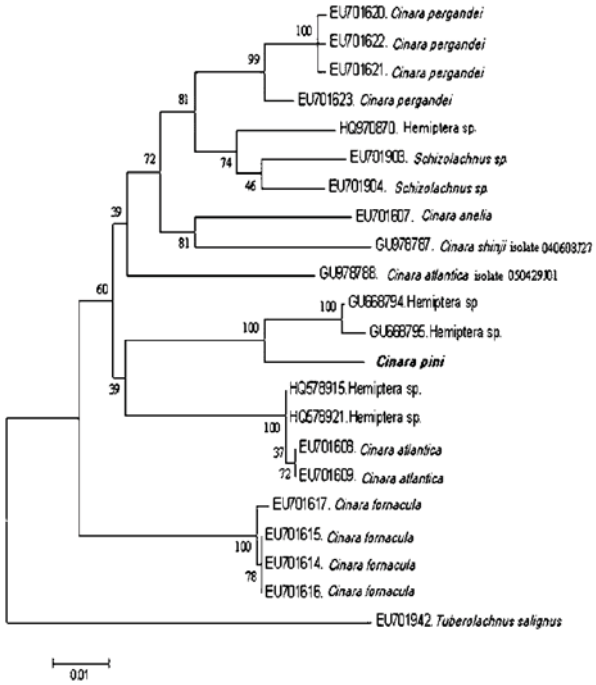


شکل ۲- پروفیل الکتروفورز محصول PCR ناحیه COI در گونه *Cinara pini*

زیست شناسی شته

مقادیر مربوط به ویژگی‌های زیستی شته *Cinara pini* بر روی کاج *Pinus mugo* در جدول ۲ درج شده است.

از آنجایی که در منابع علمی دنیا اطلاعاتی در مورد ویژگی‌های زیستی گونه شته *C. pini* وجود نداشت، نتایج مطالعه حاضر با مطالعات منتشر شده روی سایر گونه‌های جنس *Cinara* مورد مقایسه قرار گرفت. براساس نتایج بدست آمده میانگین تعداد کل نتاج تولید شده به ازای هر شته ماده ۳۶/۷۵ بود. دوره تولد تا ظهور شته کامل به طور میانگین ۱۰/۴۱ روز طول کشید و میانگین طول عمر حشرات کامل ۲۶/۲۰ روز بود. دوره تولد تا ظهور شته کامل *C. cupressi* از ۹/۳ روز در دمای ۲۵°C تا ۲۲/۳ روز در دمای ۱۰°C متفاوت بود (۲۹). در تحقیقات آگاروالا (۴) روی شته *C. atroitibialis*،دوره تولد تا ظهور حشرات کامل در دمای ۲۰±۲°C، ۱۳/۶ روز گزارش گردید. کایرو (۲۸) در آزمایشی دوره تولد تا ظهور شته کامل *C. juniperi* را در دمای ۲۱±۱°C، ۱۰/۷ روز گزارش کرد.



شکل ۳- رابطه فیلوژنی بین گونه های *Cinara* بر اساس توالی ناحیه COI با استفاده از روش NJ

آماره‌های اساسی جدول زندگی شته *C. pini* در دمای ۲۵±۲ سانتی گراد محاسبه شد. روند تولید مثل روزانه و نرخ بقا این شته در شرایط آزمایشگاهی در شکل ۴ نشان داده شده است. میزان پوره‌زایی با افزایش سن شته کاهش یافت، به طوری که در اواخر عمر، تعداد نتاج به صفر رسید.

جدول ۲- طول¥ دوره‌های مختلف رشدی (خطای معیار±میانگین)* شته *C. pini* روی کاج *P. mugo*

دوره تولد تا ظهور شته کامل	طول دوره پیش از پوره زایی	طول دوره پوره-زایی	طول دوره پس از پوره زایی	طول کل دوره زندگی	میزان پوره-زایی€
۱۰/۴۱±۰/۱۱	۲/۰۴±۰/۰۵	۱۲/۶۱±۰/۱۸	۱/۲۹±۰/۰۹	۲۶/۲۰±۰/۱۹	۳۶/۷۵±۰/۵۲
(۹-۱۲/۵)∂	(۱/۵-۲/۵)	(۱۱-۱۵)	(۰/۵-۲/۵)	(۲۴/۵-۲۸/۵)	(۳۱-۴۱)

¥ واحد طول دوره‌های مختلف برحسب روز می‌باشد.

* دقت آزمایش ۱۲ ساعت بود.

€ تعداد پوره به ازای هر شته مادر است.

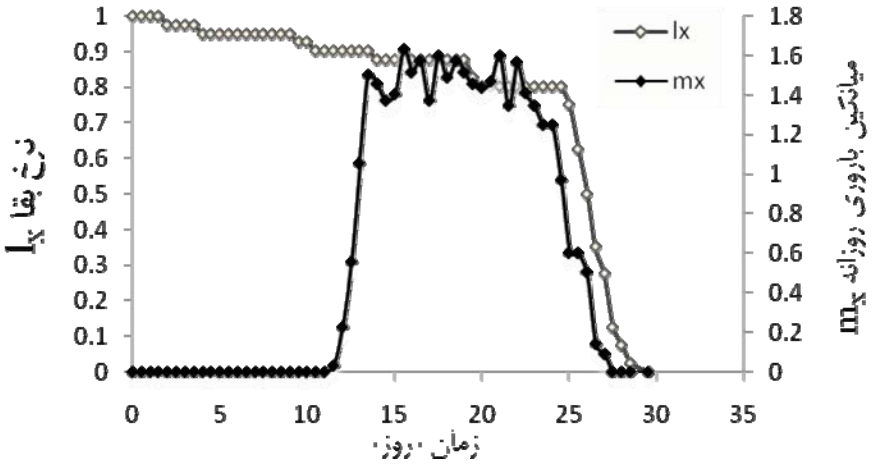
∂ اعداد داخل پرانتز دامنه تغییرات می‌باشد.

از روز دوازدهم به بعد میزان پوره‌زایی به شدت افزایش یافت و حداکثر پوره‌زایی بین روز ۱۴ تا ۲۳ متغیر بود و از روز ۲۳ به بعد میزان پوره‌زایی به شدت کاهش یافت، به طوری که در روز ۲۷ به صفر رسید. منحنی نرخ بقای شته نشان داد که زنده‌مانی شته‌ها تا سن ۲۵ روزه‌گی نزول تدریجی داشت، اما پس از آن با شدت بیشتر کاهش یافت. مرگ آخرین فرد از یک گروه ۴۰ عددی از شته‌ها در روز سی ام اتفاق افتاد.

شاخص‌های رشد جمعیت شته *C. pini* روی کاج در جدول ۳ ارایه شده است.

نرخ خالص تولید مثل، ۳۰/۶۷ به دست آمد که نشان دهنده تعداد نتاج ماده به ازای هر شته ماده در هر نسل می‌باشد. مقدار نرخ ذاتی افزایش جمعیت ۰/۱۹۷ بدست آمد (جدول ۳) که بسیار نزدیک به مقادیر بدست آمده از طریق فرمول وایت (۰/۰۰۵±۰/۱۹۶۷) بود. در گونه *C. cupressi* نرخ ذاتی افزایش جمعیت، نرخ خالص تولید مثل، متوسط مدت زمان یک نسل و نرخ متناهی افزایش جمعیت به ترتیب ۰/۰۹۶، ۵/۰۹، ۲۰/۰۹ و ۱/۰۸ روی کاج *Thuja occidentalis* گزارش شده است (۱۲). در شته *Tuberolachnus salignus* در روی *Salix* spp. در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نرخ ذاتی افزایش جمعیت ۰/۰۰۴± ۰/۲۲ و طول چهار مرحله‌ی پوره‌گی در همین دما ۰/۱±۱۰/۱ روز محاسبه شده است (۸). طول عمر کل شته *C. cupressi* روی *Cupressus macrocarpa* در دماهای ۲۰ و ۲۵ درجه به ترتیب ۱/۰۰±۲۶/۶۷ و ۰/۳۳±۲۰/۶۲ روز و همچنین نرخ ذاتی افزایش جمعیت در دماهای ذکر شده به ترتیب ۰/۱۰۰ و ۰/۱۱۷ گزارش شده است (۲۹).

در مطالعات قبلی توسط محققان ایرانی هشت گونه از جنس *Cinara* گزارش شده بود که در تحقیق حاضر گونه *C. pini* به عنوان نهمین گونه از جنس *Cinara* برای فون ایران گزارش گردید که بر همین اساس مطالعه این گونه از نظر رده‌بندی مولکولی با استفاده از توالی سیتوکروم اکسیداز، مشخصات ریخت‌شناسی و زیست‌شناسی آن در شرایط آزمایشگاه صورت گرفت. با توجه به جمعیت زیاد این شته روی درختان کاج فضای سبز شهری، مطالعات بیشتری جهت مدیریت کنترل آن از جمله استفاده از روش های بیولوژیک توصیه می شود.



شکل ٤- روند تغییرات مقادیر m_x و l_x شته *Cinara pini* روی کاج *Pinus mugo*

جدول ۳- شاخص‌های رشد جمعیت شته *Cinara pini* روی کاج *Pinus mugo*

شاخص های جمعیت	روش معمول	روش جک نایف
نرخ ناخالص تولید مثل (GRR)	۳۶/۸۶	۳۶/۸۶ ±۰/۶۱
نرخ خالص تولید مثل ($NRR=R_0$)	۳۰/۶۷	۳۱/۴۶ ±۲/۲۰
نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r)	۰/۱۹۷	۰/۱۹۹ ±۰/۰۰۴
نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ)	۱/۲۱	۱/۲۲ ±۰/۰۰۵
متوسط مدت زمان یک نسل (T)	۱۷/۳۷	۱۸/۵۰±۰/۱۵
مدت زمان دو برابر شدن جمعیت (DT)	۳/۵۱	۳/۴۸ ±۰/۰۷۵

سپاسگزاری

تحقیق حاضر بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می‌باشد که بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه به خاطر حمایت مالی سپاسگزاری می‌نماییم. از دکتر Olivera Petrovic-Obradovic از دانشگاه بلگراد به خاطر شناسایی گونه تشکر می‌نماییم. از کارشناس محترم آزمایشگاه حشره شناسی به خاطر همکاری در تهیه لوازم مورد نیاز و نیز مساعدت در انجام آزمایشات کمال تشکر را داریم.

منابع

۱- امانی م. ۱۳۸۳. درختان شهری و پیرامون شهری. مجله فضای سبز سازمان پارکها و فضای سبز تهران، جلد ۶، صفحات ۲۰ تا ۲۷.

۲- مصدق ا. ۱۳۷۸. جنگل کاری و نهالستانهای جنگلی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم. ۵۱۶ صفحه.

۳- همتی ا.، امان زاده ب. ا.، سیاهی پور ذ. ع.، خانجانی شیراز ب. و اکبرزاده ع. ۱۳۸۱. نتایج مقدماتی طرح سازگاری سوزنی برگان مهم جهان در جنگلهای اسالم (استان گیلان). تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، جلد ۸، صفحات ۸۷ تا ۱۲۴.

4- Agarwala B.K. 1988. Effect of temperature on nymphal development and fecundity of the pine aphid, *Cinara atrotibialis* David and Rajasingh (Homoptera: Aphididae). Journal of Aphidololgy, 2:62–65.

5- Aldyhim Y.N. and Khalil A.F. 1993. Influence of temperature and day length on population development of *Aphis gossypii* and *Cucurbita pepo*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 67:167–172.

6- Andrewartha H.G. and Birch L.C. 1954. The Distribution and Abundance of Animals. Univ. Chicago press, Chicago.

7- Birch L.C. 1948. The intrinsic rate of increase of an insect population. Journal of Animal Ecology, 17:15-26.

8- Collins C.M. and Leather S.R. 2001. Effect of temperature on fecundity and development of the giant willow aphid, *Tuberolachnus salignus* (Sternorryncha: Aphididae). European Journal of Entomology, 98:177-182.

9- Cook E.F. 1984. *Aphis* (Homoptera: Aphididae) recorded from the compositae in North America, with a key to the species east of the Rocky Mountains and comments on synonymy and redescription of some little known fauna. Annals of the Entomological Society of America, 77:442-449.

10- Corpuz-Raros L.A. and Cook E.F. 1974. A revision of North American *Capitophorus* Van Der Goot and *Pleotrichophorus* Borner (Homoptera: Aphididae). Smithsonian Contributions to Zoology, 156.

11- Dent D.R. 1997. Quantifying insect population: estimates and parameters. p. 57–99. In D.R. Dent et al. (ed.) Methods in Ecological and Agricultural Entomology. CAB International.

12- Durak R., Borowiak-Sobkowiak B. and Socha M. 2007. Bionomy and ecology of *Cinara cupressi* (Buckton, 1881) (Hemiptera, Aphidoidea). Polish Journal of Entomology, 76:107-113.

13- Eastop V.F. 1979. Key to the genera of the subtribe aphidian (Homoptera). Systematic Entomology, 4:379-388.

14- Eastop V.F. 1987. Key to the European species of *Ouatomyzus* Hille Ris Lambers (Aphididae:Hemiptera). Systematic Entomology, 12:433-436.

15- Farvret C. and Voegtlin D.J. 2004. Host-based morphometric differentiation in three *Cinara* species (Insecta: Hemiptera: Aphididae) feeding on *Pinus edulis* and *P. monophylla*. Western North American Naturalist, 64:364-375.

16- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution, 39:783-791.

17- Floyd R.M., Wilson J.J. and Hebert P.D.N. 2009. DNA barcodes and insect biodiversity. In R.G. Foottit et al. (ed.) Insect Biodiversity: Science and Society. Blackwell Publishing.

18- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R. and Viijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3:294-297.

19- Foottit R.G. 1992. The use of ordination methods to resolve problems of species discrimination in the

genus *Cinara* Curtis (Homoptera: Aphidoidea: Lachnidae). p. 193-221. In J.T. Sorenson et al. (eds.) Ordination in the Study of Morphology, Evolution and Systematics of Insects: Applications and Quantitative Genetic Rationales. Amsterdam, The Netherlands.

20- Foottit R.G. 1997. Recognition of parthenogenetic insect species. p. 291-307. In M.F. Claridge et al. (eds.) Species. the Units of Biodiversity, London.

21- Hajibabaei M., Singer G.A.C., Hebert P.D.N. and Hickey D.A. 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. Trends in Genetics, 23:167-172.

22- Hall T.A. 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Journal of Nucleic Acids., 41:95-98.

23- Heie O.E. 1988. Paleontology and phylogeny. p. 367-392. In I.A.K. Minks et al. (eds.) Aphids: Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 99. Amsterdam, The Netherlands.

24- Jaskiewicz B. 2007. Aphids on *Pinus mugo* Turra shrubs in the city of Lublin. Aphids and Other Hemipterous Insects, 13:99-106.

25- Jaskiewicz B. and Slawinska A. 2005 a. Aphids (Homoptera, Aphidodea) inhabiting the shrubs of *Pinus mugo* Turra in the green area of Lublin. Part II. Acta Agrobotanica 58, Z. 1:165-174.

26- Jaskiewicz B. and Slawinska A. 2005 b. Aphids (Homoptera, Aphidodea) inhabiting the shrubs of *Pinus mugo* Turra in the green areas of Lublin. Part I. The population dynamics. Acta Agrobotanica 58, Z. 1:153-164.

27- Jaskiewicz B. and Slawinska A. 2005 c. The complex of parasitic Hymenoptera (Hymenoptera: Parasitica) occurring in aphids colonies on decorative shrubs in the urban environment. Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, 15:127-135.

28- Kairo M.T.K. 1997. Ecology and biocontrol of Cupressaceae feeding *Cinara* with reference to a new invasive species in Africa. PhD Thesis University of London

29- Kairo M.T.K. and Murphy S.T. 1999. Temperature and plant nutrient effects on the development, survival and reproduction of *Cinara* sp. nov., an invasive pest of cypress trees in Africa. Entomologia Experimentalis et Applicata, 92:147-156.

30- Kumar S., Dudley J., Nei M. and Tamura K. 2008. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. Briefings in Bioinformatics, 9:299-306.

31- Lehr P.A. 1988. Keys to the Insects of the Far East of the USSR. Nauka Publishing House, Leningrad.

32- Medeiros R.S., Ramalho F.S., Lemos W.P. and Zanuncio J.C. 2000. Age-dependent fecundity and life-fertility tables for *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Het., Pentatomidae). Journal of Applied Entomology, 124:319-324.

33- Meyer J.S., Igersoll C.G., Macdonald L.L. and Boyce M.S. 1986. Estimating uncertainty in population growth rates: Jacknife vs. Bootstrap techniques. Ecology, 67:1156-1166.

34- Miller G.L. and Foottit R.G. 2009. The taxonomy of crop pests: The aphids. In R.G. Foottit et al. (eds.) Insect Biodiversity: Science and Society. Blackwell publishing.

35- Normark B.B. 2000. Molecular systematics and evolution of the aphid family Lachnidae. Molecular Phylogenetics, 14:131-140.

36- Osiadacz B. and Wojciechowski W. 2005. An annotated chek-list of aphids (Hemiptera: Sternorryncha: Aphidinea) of the Ojcowski National park (Southern Poland). Aphids and Other Hemipterous Insects, 13:51-66.

37- Penteado S.R.C., Trentini R.F., Iede E.T. and Filho W.R. 2000. Pulgao do Pinus: nova praga florestal. Serie Tecnica Instituto de Pesquisas e Estuds Florestais, 13:97-102.

38- Rakauskas R., Havelka J. and Basilova J. 2008. Contribution to the knowledge of the aphid (Hemiptera, Sternorrhyncha: Phylloxeroidea, Aphidoidea) fauna of the Curonian Spit, Lithuania. Acta Zoologica Lituanica, 18:90-107.

39- Rezwani A. 1993. Identification key to the species of the family Lachnidae (Homoptera: Aphidoidea) from Iran. Journal of the Entomological Society of Iran, 12:45-51.

40- Rezwani A., Termeh F. and Mousavi M. 1994. Aphids of Iran and Their Host Plants. Plant Pests and

Diseases Research Institute, Tehran.
41- Rezwani A. 2001. Key to the Aphids (Homoptera: Aphidinea) in Iran. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran.
42- Rezwani A. 2004. Aphids on Trees and Shrubs in Iran. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, 270 pp.
43- Richards W.R. 1972. The Chaitophorinae of Canada (Homoptera: Aphididae). Memoirs of the Entomological Society of Canada, 87.
44- Soika G. and Labanowski G.S. 2001. Aphids belonging to *Cinara* Curtis (Aphidodea, Lachnidae)- The pest of ornamental conifers in Poland. Aphids and Other Homopterous Insects, 8:175-183.
45- Watson G.W., Voegtlin D.J., Murphy S.T. and Foottit R.G. 1999. Biogeography of the *Cinara cupressi* complex (Hemiptera: Aphididae) on Cupressaceae, with description of a pest species introduced into Africa. Bulletin of Entomological Research, 89:271-283.
46- Wyatt I.J. and White P.F. 1977. Simple estimations of intrinsic increase rates for aphids and tetranychid mites. Journal of Applied Entomology, 14:757-766.