

ارتباط سازش به سرما و القای تحمل یخ‌زدگی در کرم برگخوار

چغندر (*Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae)

Association of cold acclimation with freezing tolerance in the beet armyworm,

Spodoptera exigua (Lepidoptera: Noctuidae)

* مریم عطاپور و سعید محرومی پور*

دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه حشره‌شناسی کشاورزی

(تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۹، تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۰)

چکیده

کرم برگخوار چغندر، *Spodoptera exigua*، از مهم‌ترین آفات چغندر قند است که به صورت لاروهای کامل و یا شفیره در خاک زمستان گذرانی می‌کند. در این مطالعه امکان سازگار شدن لاروهای این آفت به سرما و تحمل در دماهای پایین‌تر از نقطه انجماد بدن و اثر رطوبت خاک در دمایی که حشره با آن مواجه می‌شود، مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور پس از انجام نشش تیمار دمایی مختلف روی لاروهای آزمایشگاهی، آزمایش تحمل به سرما تحت دو برنامه دمایی متفاوت به اجرا در آمد. در برنامه اول لاروها با سرعت $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ تا دمای -5 و -15 درجه سلسیوس سرد شدند و پس از ۲۴ ساعت به دمای $+25$ درجه سلسیوس رسانده شدند. در برنامه دوم لاروها با سرعت بسیار پایین‌تر ($0.01^{\circ}\text{C}/\text{min}$) تا دمای -15 درجه سلسیوس رسانده شدند. این دو برنامه دمایی بر روی خاک خشک، مرطوب و $+25$ درجه سلسیوس رسانده شدند. این دو برنامه دمایی نگهداری نمونه‌ها در آن، مجدد به دمای -15 درجه سلسیوس رسانده شدند. نتایج حاصله نشان داد لاروهای این آفت تنها در خاک مرطوب با یک لایه یخ نیز اجرا شد. نتایج حاصله نشان داد لاروهای این آفت تنها در صورتی قادر به تحمل دمای -15 درجه سلسیوس خواهند بود که از قبل تحت دماهای پایین

* Corresponding author: moharami@modares.ac.ir

عطابور و محرومیبور: ارتباط سازش به سرما و القای تحمل بیخ زدگی در کرم برگخوار چغندر

قرار گرفته و به صورت تدریجی و با سرعت بسیار کم با دماهای پایین‌تر از نقطه انجماد خود مواجه گردند. همچنین مشخص شد لاروها در خاک مرطوب به ویژه خاک مرطوب پوشیده شده با یک لایه یخ در مقایسه با خاک خشک در برابر کاهش دما مقاومت بیشتری نشان داده و در استراتژی سرماستختی آفت و میزان تلفات آن در دماهای پایین می‌تواند نقش به سزاگی ایفا کند.

واژه‌های کلیدی: کرم برگخوار چغندر، تحمل به سرما، سازش به سرما، تحمل به بیخ زدگی، نقطه انجماد.

Abstract

The beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner), is one of the most important pests of sugar beet that overwinter as mature larvae or pupae in the soil. In this research, the influence of cold acclimation in full-grown larvae and tolerance at temperatures below their body supercooling point (SCP) was studied. Moreover, the influence of soil humidity was investigated on temperature that pest may expose. After six different temperature treatments on lab-reared mature larvae, cold tolerance of the larvae was measured under two different programs executed on them. In the first program, larvae were acclimated by cooling rate of 1°C/min and reached to -5°C or -15 °C, for 24h then it was raised to +25°C. During second program the temperature was decreased with much lower cooling rate (0.01°C /min) to -15°C and kept for 2h then it was increased again to +25°C. These two temperature programs were also performed on different soil humidity (dry, humid and humid covered with an ice layer). The results showed that these pest larvae will only be able to tolerate -15°C when they were acclimated with slow cooling rate to reach below their SCP. These findings indicated that cold acclimation at sub-zero may induce expression of freezing tolerance in these larvae. It was shown that humid soils especially those covered with an ice layer, are more resistant against temperature decreasing rather than dry soils and could play an important role in the cold-hardiness strategy and mortality of this pest under low temperatures.

Key words: beet army worm, cold hardiness, cold acclimation, freezing tolerance, supercooling point

مقدمه

کرم برگخوار چغندر *Spodoptera exigua* (Hübner) یکی از مهم‌ترین آفات چغندر قند در

ایران است که به واسطه کاهش مستقیم محصول و افزایش هزینه‌های تولید با کاربرد مکرر حشره کش‌ها، خسارت اقتصادی قابل توجهی را متتحمل می‌سازد. این آفت نخستین بار توسط Afshar (1938) از ایران گزارش شد. میزان‌های این آفت طبق بررسی‌های Kheyri (1976) چغدر، سیب‌زمینی، پیاز، ذرت، گوجه‌فرنگی، کرچک، نخود، کنجد، لوبیا، سویا، یونجه، پنبه و بسیاری از علف‌های هرز مثل سلمه تره، تاج‌خرروس، پیچک و غیره می‌باشد ولی در بین گیاهان زراعی چغدر، یونجه و ذرت‌های جوان را ترجیح می‌دهد. این حشره آفته همه‌جاذی (Cosmopolitan) و با دامنه فعالیت وسیع می‌باشد. وجود این آفت به استثنای آمریکای جنوبی در بقیه کشورهای مختلف قاره‌های آسیا، آفریقا، اروپا، استرالیا، اقیانوسیه و آمریکای شمالی گزارش شده است و هم‌اکنون در سراسر جهان پراکنش دارد (Capinera, 2001). این حشره دارای توانایی مهاجرت بوده و در مناطق معتدل ۲ تا ۴ نسل در سال تولید می‌کند و زمستان گذرانی آن عموماً به صورت شفیره در محفظه‌های گلی در عمق چند سانتی‌متری خاک می‌باشد با این حال در مناطقی با زمستان‌های ملایم تر به سایر اشکال به ویژه لاروهای سن آخر نیز در طول زمستان مشاهده می‌شود (Kheyri, 1976, 1985, 1989; Tingle and Mitchell, 1990; Khanjani, 2005). اندک مطالعاتی که در زمینه زمستان گذرانی و تحمل به سرمای این آفت صورت گرفته است مختص مناطق گرمسیر و یا معتدل نظیر نواحی گرمسیری جنوب شرق آسیا بوده است و بر اساس تحقیقات انجام شده این حشره گونه‌ای حساس در برابر بیخ زدگی گزارش شده است (Kim and Kim, 1997; Song *et al.*, 1997). این در حالی است که در ایران مناطقی که تحت کشت چغدر قند هستند و این آفت در آنجا شیوع دارد عموماً دارای آب و هوای سرد و زمستان‌های سخت و طولانی می‌باشند و به همین دلیل چگونگی زمستان گذرانی آفت در چنین شرایطی نامشخص است. از سوی دیگر شدت و ضعف آفت در ابتدای هر سال زراعی مربوط به ذخیره‌های زمستانه لارو و یا شفیره‌هایی است که موفق به زمستان گذرانی شده‌اند. به طوری که هر چه تعداد این لاروها و یا شفیره‌ها بیشتر باشد جمعیت آفت در بهار سال بعد نیز بیشتر خواهد بود (Kheyri, 1976, 1985, 1989; Heppner, 1998; Khanjani, 2005). به این ترتیب مطالعه چگونگی زمستان گذرانی آفت و عواملی که در این فرآیند دخیل هستند بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

تحمل به سرما (cold hardness) به عنوان توانایی زنده ماندن در دماهای زیر صفر درجه سلسیوس در زمان‌های مشخص و یا مراحل معینی از سیکل زندگی حشره شناخته می‌شود (Bale *et al.*, 1989). حشرات بر اساس استراتژی تحمل به سرما به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند؛ گروه اول گونه‌های حساس به بخزدگی (Freeze intolerant or freeze avoidant) هستند که در صورت بخزدگی آب بین سلولی، از بین می‌رونند و به همین دلیل برای گریز از بخزدگی به طرق مختلف با شروع فصل سرما نقطه انجماد بدن آنها کاهش می‌یابد. این گروه از حشرات در دماهای پایین‌تر از نقطه انجماد بدن تلف خواهند شد. گروه دوم گونه‌های متتحمل به بخزدگی (Freeze tolerant) هستند که قادر هستند حتی در شرایطی که آب بین سلولی بخزدگی باشد زنده بمانند. این حشرات می‌توانند وجود بلورهای بخزدگی را تحمل کنند و بنابر این بر خلاف گروه قبلی، در طول زمستان نقطه انجماد خود نیز زنده بمانند ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد و قادرند در دماهای پایین‌تر از نقطه انجماد خود می‌مردند و توانایی زنده ماندن را نداشتند. تا کنون روند تغییرات نقطه انجماد حشرات جمع‌آوری شده از مزرعه طی ماههای مختلف فصول سرد مورد بررسی قرار نگرفته و به این جهت این اطلاعات جهت اظهار نظر قطعی در خصوص استراتژی سرما سختی این آفت ناکافی به نظر می‌رسد. در مطالعه Kim and Kim (1997) تمامی مراحل سنی در دماهای بالاتر از نقطه انجماد خود می‌مردند و توانایی زنده ماندن را نداشتند. تا کنون روند تغییرات نقطه انجماد حشرات جمع‌آوری شده از مزرعه طی ماههای مختلف فصول سرد مورد بررسی قرار نگرفته و به این جهت این اطلاعات جهت اظهار نظر قطعی در خصوص استراتژی سرما سختی این آفت ناکافی به نظر می‌رسد. در مطالعه Atapour and Moharrampour (2011) فرم لاروهای سن آخر از داخل برگ‌های خشکیده به جای مانده در مزرعه و یا خاک جمع‌آوری گردید و نقطه انجماد آنها اندازه‌گیری شد. در این ماهها نقطه انجماد بدن از ۱۲-۱۶ درجه سلسیوس در آبان ماه تا ۶-۷ درجه در اسفند ماه به تدریج افزایش یافت و این لاروها بر خلاف نمونه‌های آزمایشگاهی (نقطه انجماد به طور میانگین حدود ۹/۵-۹ درجه سلسیوس) در دمای پایین‌تر از نقطه انجماد خود زنده ماندند. نتیجه نهایی حاصل از این مطالعه با توجه به افزایش نقطه انجماد بدن، این بود که به احتمال زیاد این آفت از استراتژی تحمل به بخزدگی بهره می‌برد. از آنجا که به دلیل دشوار بودن جمع‌آوری لاروهای زمستان گذران از خاک و در نتیجه

کمبود نمونه، امکان بررسی بیشتر این فرضیه محدود نبود مطالعه حاضر بر روی نمونه‌های آزمایشگاهی انجام پذیرفت.

به این ترتیب هدف این مطالعه انجام تیمارهای مختلف دمایی و شبیه‌سازی شرایط طبیعی برای نمونه‌های پرورش یافته در آزمایشگاه و در نهایت مشخص ساختن استراتژی تحمل به سرمای این آفت و تعیین میزان تحمل آن به دماهای زیر صفر درجه در زمستان بود. ضمن این که در مطالعه حاضر سعی شد اختلاف بین دمای هوا و دمای انواع خاک‌ها (خاک خشک، خاک مرطوب و خاک مرطوب با یک لایه پوشش یخ) مشخص شود تا شرایط واقعی که حشره در خاک با آن مواجه است جهت درک بهتر چگونگی تحمل به سرما روشن گردد.

روش بررسی

پرورش آزمایشگاهی برگخوار چغندر: پرورش نمونه‌های آزمایشگاهی در اتفاق رشد در دمای 1 ± 25 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰ درصد و دوره نوری روز بلند (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) صورت پذیرفت. جهت تغذیه لاروها از برگ چغندر و جهت تغذیه حشرات کامل از محلول آب و عسل ۱۰ درصد استفاده شد.

تیمارهای دمایی: تیمارهای مختلف مورد آزمایش در این مطالعه به شرح زیر می‌باشد:

۱- شاهد: لاروهای سن پنجم که از مرحله تخم در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز بلند پرورش یافته بودند.

۲- تیمار اول: لاروهای سن پنجم که در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز بلند پرورش یافته بودند و ۷۲ ساعت به دمای ۱۵ درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز کوتاه (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) منتقل شدند.

۳- تیمار دوم: لاروهای سن پنجم که در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز بلند پرورش یافته بودند و ۷۲ ساعت به دمای ۵ درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز کوتاه منتقل شدند.

۴- تیمار سوم: لاروهای سن پنجم که در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز بلند پرورش یافته بودند و ۷۲ ساعت به دمای صفر درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز

کوتاه متنقل شدند.

۵- تیمار چهارم: لاروهای سن پنجم که از مرحله تخم در دمای ۱۵ درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز کوتاه پرورش یافته بودند.

۶- تیمار پنجم: لاروهای سن پنجم که در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز بلند پرورش یافته بودند آنگاه ۲۴ ساعت در دمای ۱۵ درجه سلسیوس، سپس ۲۴ ساعت در دمای ۵ درجه سلسیوس و نهایتاً ۲۴ ساعت در دمای صفر درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز کوتاه نگاه داشته شدند.

۷- تیمار ششم: لاروهای سن پنجم که از مرحله تخم در ۱۵ دمای درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز کوتاه پرورش یافته بودند و ۵ روز در دمای ۵ درجه سلسیوس و دوره روشنایی روز کوتاه نگاه داشته شدند

اندازه‌گیری میزان تحمل به سرما در لاروها: تحمل به سرما لاروها در دو دمای ۱۵-۵ (دمایی بالاتر از نقطه انجماد بدن لاروها) و ۱۵- درجه سلسیوس (دمایی پایین‌تر از نقطه انجماد بدن لاروها) مورد آزمایش گرفت. برای هر دما ۱۰ نمونه داخل لوله‌های آزمایشی به حجم ۱۵ میلی‌لیتر قرار داده شد. آنگاه نمونه‌ها داخل دستگاه سرد کننده قابل برنامه ریزی (Binder MK 53) گذاشته شدند و آزمایش تحمل به سرما تحت دو برنامه مختلف اجرا شد. در برنامه اول که هر دو دما در آن اجرا شدند، دمای دستگاه از +۲۵ درجه تا -۵ و یا -۱۵ درجه با سرعت ۱ درجه سلسیوس در دقیقه کاهش یافت. سپس نمونه‌ها ۲۴ ساعت در دمای مورد نظر نگه داشته شدند و پس از آن دمای داخل دستگاه با سرعت ۴ درجه سلسیوس در دقیقه به +۲۵ درجه سلسیوس رسانده شد. این برنامه، برنامه رایج در اکثر حشرات جهت بررسی تحمل به سرما می‌باشد که طی آن دما با سرعت ۱ تا ۲ درجه سلسیوس در دقیقه کاهش می‌یابد (Sinclair, 2001; Sinclair *et al.*, 2003). در برنامه دوم که تنها دمای -۱۵ درجه سلسیوس در آن اجرا شد سعی بر این بود که با کاهش سرعت سرد شدن، شرایطی مشابه شرایط طبیعی شبیه‌سازی گردد. به این ترتیب که دمای دستگاه از +۲۵ درجه سلسیوس تا دمای صفر درجه سلسیوس با سرعت ۰/۵ درجه سلسیوس در دقیقه کاهش یافت اما پس از آن دما با سرعت ۱ درجه سلسیوس در ساعت تا -۱۵ درجه سلسیوس کاهش یافت. سپس نمونه‌ها ۲ ساعت در

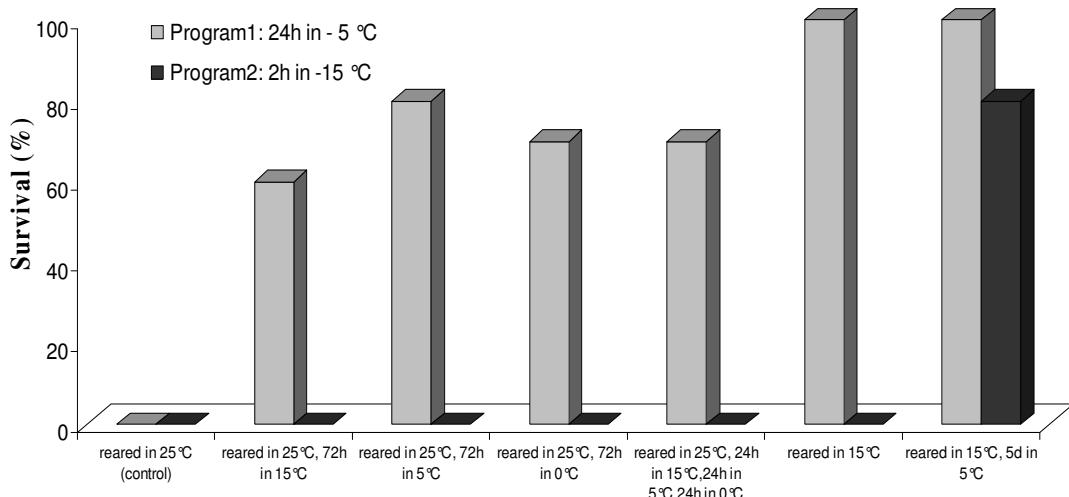
آن دما نگه داشته شدند و پس از آن با سرعت $0/2^{\circ}\text{C}$ درجه سلسیوس در دقیقه تا دمای $+25^{\circ}\text{C}$ درجه سلسیوس افزایش یافت. لازم به ذکر است که تعیین مرده و یا زنده بودن لاروها به این صورت انجام گرفت که پس از ۲ ساعت لاروهایی که دچار تغییر رنگ نشده بودند و دارای حرکت بودند به عنوان زنده و در غیر این صورت مرده به حساب آمدند (Goto *et al.*, 2001).

اثر نوع خاک: جهت تعیین چگونگی تغییر دمای خاک در زمان کاهش دمای هوا، سه نوع خاک شامل خاک خشک، خاک با رطوبت حدود 60°C درصد، و خاک مرطوبی با همان رطوبت نسبی 60°C درصد اما با یک لایه پوشش یخ حدوداً به قطر 2 cm سانتی‌متر در داخل ظروف استوانه ای ریخته شدند و حسگر از جنس نیکل - کرم ثبت کننده دما (Testo, model 177-T4) در داخل خاک در عمق 7 cm سانتی‌متری قرار داده شد. ظروف در داخل دستگاه سرد کننده قابل برنامه‌ریزی قرار داده شدند. یک حسگر هم جهت ثبت دمای محیط در داخل دستگاه قرار داده شد و دمای محیط و دمای سه نوع خاک تحت برنامه دمایی اول و برنامه دوم ثبت گردید.

نتیجه و بحث

در مطالعه قبلی انجام شده بر روی لاروهای جمع‌آوری شده از طبیعت، نقطه انجماد بدن لاروها از آبان تا اسفند ماه به تدریج افزایش یافت (از -12°C تا -6°C درجه سلسیوس) و نقطه انجماد لاروهای سن پنجم پرورش یافته در آزمایشگاه نیز حدود $-9/5^{\circ}\text{C}$ درجه سلسیوس بود (Atapour and Moharramipour, 2011). اما در صورتی که نقطه انجماد نمونه‌های آزمایشگاهی که تیمارهای سرمایی مشابه این مطالعه رویشان انجام شده بود، از $-9/5^{\circ}\text{C}$ به $-7/5^{\circ}\text{C}$ درجه سلسیوس رسید. به این ترتیب هم لاروهای جمع‌آوری شده از طبیعت و هم لاروهای آزمایشگاهی در رویارویی با دماهای پایین مشابه حشرات متتحمل به یخ زدگی نقطه انجماد خود را افزایش دادند. با توجه به میانگین نقطه انجماد بدن لاروهای آزمایشگاهی شاهد در مطالعه گذشته (Atapour and Moharramipour, 2011)، دمای -5°C درجه سلسیوس به عنوان دمایی بالاتر از نقطه انجماد و دمای -15°C درجه سلسیوس به عنوان دمایی کمتر از نقطه انجماد منظور گردید.

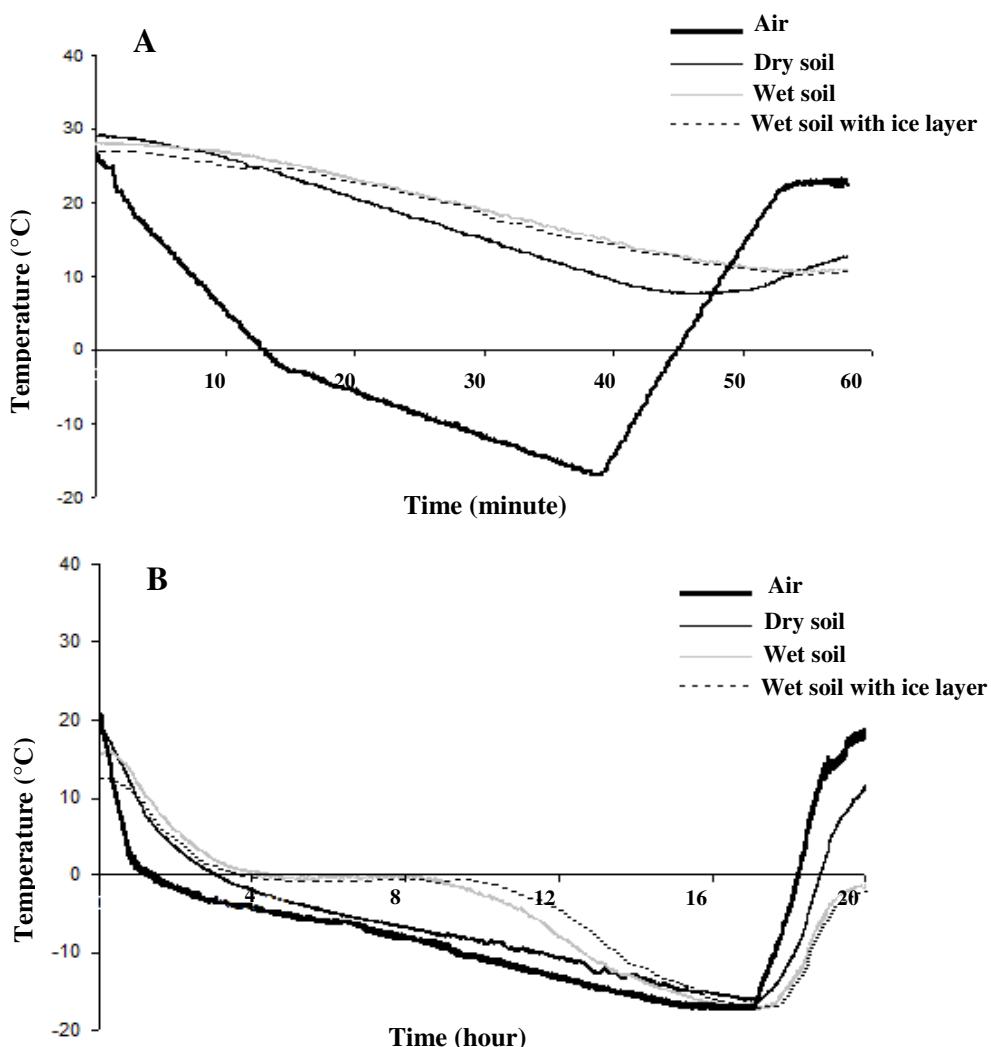
عطابور و محرومی بور: ارتباط سازش به سرما و لای تحمل بیخ زدگی در کرم برگخوار چغندر



شکل ۱- درصد بقاء لاروهای سن پنجم شاهد (control) و تیمار شده کرم برگخوار چغندر، در برنامه اول: سرعت کاهش دما $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ تا دمای -5°C /min درجه سلسیوس، و برنامه دوم: سرعت کاهش دما $0.01^{\circ}\text{C}/\text{min}$ تا دمای -15°C / درجه سلسیوس، ۲ ساعت در دمای 15°C - سپس افزایش به دمای $+25^{\circ}\text{C}$ / درجه سلسیوس و برنامه دوم: سرعت کاهش دما $0.01^{\circ}\text{C}/\text{min}$ تا دمای -15°C / درجه سلسیوس، ۲ ساعت در دمای 15°C - سپس افزایش به دمای $+25^{\circ}\text{C}$ / درجه سلسیوس. هیچیک از لاروها نتوانستند دمای -15°C / درجه سلسیوس را در برنامه ۱ تحمل کنند.

Fig. 1. Percent survival of control and treated 5th larvae of the beet army worm, *Spodoptera exigua* in program 1: cooling rate of $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to -5°C , remained in -5°C for 24 h then increased to $+25^{\circ}\text{C}$ and program 2: cooling rate of $0.01^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to -15°C , remained in -15°C for 2 h then increased to $+25^{\circ}\text{C}$. Any larvae could survive -15°C in program 1.

آزمایش تحمل به سرما در گام نخست تنها در غالب برنامه ۱ (سرمادهی حشره با سرعت $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ در دقیقه) به اجرا در آمد. لاروهای شاهد قادر به تحمل دمای -5°C و -15°C / درجه سلسیوس در مدت ۲۴ ساعت نبوده و همگی از بین رفند. به این ترتیب مشخص شد که لاروهای آزمایشگاهی نمی‌توانند دمای زیر صفر درجه، چه پایین تر و چه بالاتر از نقطه انجماد خود را به مدت ۲۴ ساعت تحمل کنند. در مورد سایر تیمارها، لاروهای متعلق به تیمار اول و تیمار ششم که هر دو شامل لاروهایی بودند که از سن اول در دمای 15°C / درجه و دوره روشنایی روز کوتاه پرورش یافته بودند، توانستند ۱۰۰ درصد دمای -5°C / درجه را تحمل کنند.



شکل ۲- مقایسه دمای خاک خشک، خاک مرطوب و همان خاک مرطوب با پوشش یخ در زمان کاهش دمای محیط تحت برنامه اول: سرعت کاهش دما $1\ ^{\circ}\text{C}/\text{min}$ تا دمای $-15\ ^{\circ}\text{C}$ درجه و سپس بلافاصله افزایش تا دمای $+25\ ^{\circ}\text{C}$ درجه سلسیوس (A) و برنامه دوم: سرعت کاهش دما $0.01\ ^{\circ}\text{C}/\text{min}$ تا دمای $-15\ ^{\circ}\text{C}$ درجه سلسیوس، ۲ ساعت در دمای $-15\ ^{\circ}\text{C}$ افزایش به دمای $+25\ ^{\circ}\text{C}$ درجه سلسیوس (B).

Fig. 2. Comparison between temperature of the dry soil, wet soil and same wet soil covered with an ice layer during decreasing of ambient temperature under program 1: cooling rate of $1\ ^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to $-15\ ^{\circ}\text{C}$, then immediately increased to $+25\ ^{\circ}\text{C}$ (A) and program 2: cooling rate of $0.01\ ^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to $-15\ ^{\circ}\text{C}$, remained in $-15\ ^{\circ}\text{C}$ for 2 h then increased to $+25\ ^{\circ}\text{C}$ (B).

اما هیچ یک از تیمارهای اول تا ششم نتوانستند دمای ۱۵- درجه سلسیوس را به مدت ۲۴ ساعت تحمل نمایند و همگی تلف شدند (شکل ۱). این دادهها نشان دادند که لاروهای سرما دیده به ویژه آنهایی که در دمای ۱۵ درجه سلسیوس پرورش یافته بودند قادرند در دمای بالاتر از نقطه انجماد بدن (دمای ۵- درجه سلسیوس) زنده بمانند اما هیچ یک نمی‌توانند دمای پایین تر از نقطه انجماد (دمای ۱۵- درجه سلسیوس) را تحمل کنند. با این وجود اطلاعات و آمار سازمان هواسناسی کشور مشخص کرد که استان‌ها و شهرهای تحت کشت چغدر به ویژه آنها که در نواحی شمالی، غربی، و شمال شرقی و غربی قرار گرفته‌اند و این آفت در آنجا شیوع بیشتری دارد، همه ساله با دماهای بسیار پایینی در زمستان مواجه هستند. به عنوان مثال پنج استان خراسان، آذربایجان غربی، قزوین، اردبیل و آذربایجان شرقی استان‌هایی هستند که تقریباً بیشترین کشت چغدر در آنها صورت می‌گیرد و این مناطق حدوداً ۳۵ تا ۷۰ روز از سال با دماهای ۴- درجه سلسیوس و یا کمتر مواجه هستند (IMO, 2010). همچنین با توجه به حداقل دمای ثبت شده در این استان‌ها نیز مشخص می‌شود که لاروهای این آفت در طبیعت با دماهای پایین تر از نقطه انجماد خود بارها و بارها مواجه می‌شوند و می‌توانند این شرایط را با موفقیت پشت سر بگذارند به طوریکه همه ساله در حدود اردیبهشت ماه نسل اول را ایجاد می‌کنند. در نتیجه جهت رفع این ابهام برنامه ۲ طراحی شد که در آن روند کاهش دما کندر و تا حدودی مشابه شرایط طبیعی بود. تحت این برنامه نیز لاروهای شاهد و لاروهای مربوط به تیمارهای اول تا پنجم از بین رفته و فقط ۸۰ درصد لاروهای متعلق به تیمار ششم‌توانستند زنده بمانند. این نتایج به خوبی نشان دهنده این واقعیت بود که سرعت کاهش دما و مدت زمان مواجه شدن با دماهای پایین تر از نقطه انجماد بدن در میزان زنده ماندن لاروهای برگخوار چغدر نقش بسیار تعیین کننده‌ای را دارد و چنانچه دما با سرعت بالایی کاهش یابد و لاروها برای مدت زمان طولانی با دماهای پایین تر از نقطه انجماد بدن مواجه باشند تلف خواهند شد. نکته دومی که این آزمایش روش ساخت این بود که حتی در صورت کاهش تدریجی دما باز هم تنها آن دسته از لاروها قادر به تحمل این شرایط هستند که در طول پرورش به طور تدریجی با دماهای پایین (۱۵ و ۵ درجه سلسیوس) مواجه و سازگار شده باشند. به عبارت دیگر فرایند تحمل به سرما در این لاروها یک پدیده تدریجی و طولانی مدت

است که ساز و کارهای لازم برای روبارویی حشره با دمای پایین را فراهم می‌کند. باید توجه داشت که تعیین نوع و سطح تحمل به سرما در یک حشره به دلایل مختلف کار دشواری است (Zachariassen, 1985; Baust and Rojas, 1985; Bale, 1987; Lee, 1991, Danks, 2005). عوامل بیولوژیکی گوناگونی نظری مرحله رشدی، وضعیت دیاپوز، سن و وضعیت تطبیقی گونه در این مساله اثرگذار هستند. از طرفی میزان بقاء در دمای پایین، به دمایی که حشره در معرض آن قرار می‌گیرد و همچنین مدت زمان مواجه شدن با آن دما، بستگی دارد (Denlinger, 1991). سرعت و نرخ سرماده‌ی نیز در میزان بقاء بسیار تأثیرگذار است. به عنوان مثال در حشرات کامل (*Upis cerambooides* L.) چنانچه نرخ سرماده‌ی از ۰/۳۵ درجه سلسیوس بر دقیقه به ۰/۱۷ درجه سلسیوس بر دقیقه کاهش یابد، میزان بقاء از صفر درصد به صد درصد افزایش می‌یابد. به این ترتیب مشخص می‌شود که در مطالعات میزان تحمل به سرما توجه به سرعت کاهش دما در آن گونه خاص بسیار حائز اهمیت است (Miller, 1978). در این مطالعه نیز تأثیر مدت زمان قرار گیری در دمای پایین و نیز سرعت سرماده‌ی و کاهش دما در بقاء کرم برگخوار چغناور مشخص گردید.

بر اساس نتایج به دست آمده از اندازه گیری دمای خاک‌های خشک، مرطوب و خاک مرطوب با پوشش یخ و مقایسه آن با دمای هوا در غالب دو برنامه دمایی، زمانی که دمای محیط بر طبق برنامه ۱ با سرعت ۱ درجه سلسیوس در دقیقه سرد شده و پس از آن به طور معکوس به +۲۵ درجه سلسیوس رسانده شود (بدون اینکه ۲۴ ساعت در دمای -۱۵ درجه نگاه داشته شود) دمای خاک‌ها حتی به نزدیک صفر درجه هم نرسیدند به طوریکه کمترین دمای مربوط به خاک خشک حدود ۹ درجه و کمترین دمای دو نوع خاک دیگر حدود ۱۳ درجه سلسیوس بود (شکل ۲-A). به عبارت دیگر با چنین سرعت کاهش دما، خاک‌ها زمان کافی برای کاهش دمای خود را نداشتند. البته در طبیعت نیز روند کاهش دما تدریجی و بیشتر مشابه برنامه دوم است. همانطور که در شکل ۲-B مشخص است زمانی که دمای محیط به تدریج کاهش یافت دمای خاک خشک نیز با اختلاف حدود ۲ تا ۳ درجه سلسیوس به همان ترتیب کم شد، اما وضعیت خاک‌های مرطوب به کلی متفاوت بود. خاک مرطوب و به ویژه خاک مرطوب دارای پوشش حدود ۲ سانتی متری یخ مقاومت قابل ملاحظه‌ای را در برابر

کاهش دما از خود نشان دادند به طوری که وقتی دمای محیط -10°C درجه سلسیوس بود دمای این دو نوع خاک در حدود دمای صفر درجه سلسیوس باقی ماند. در زمانی که دمای محیط و اندکی بعد از آن دمای خاک خشک به -15°C درجه رسید و حدود ۲ ساعت در آن دما ماند، دمای دو نوع خاک مرطوب به ویژه خاک دارای پوشش یخ مدت زمان کمتری با این دما مواجه بود و البته از طرف دیگر زمانی که دمای هوا و به طبع آن دمای خاک خشک نرخ صعودی به خود گرفت دمای خاک مرطوب و خاک مرطوب دارای پوشش یخ به سرعت کمتری افزایش یافت. با وجود آنکه علت این اختلاف از دید علمی کاملاً مشخص است ولی از نظر بررسی اثر آن در زمستان گذرانی آفتی نظیر کرم برگخوار چغندر کاملاً قابل توجه و جالب است. از دیدگاه علم خاکشناسی به دلیل بالا بودن ظرفیت حرارتی خاک، تغییرات سریع درجه حرارت در خاک بی اثر خواهد شد و تغییرات تدریجی در آن اثر خواهد کرد. از طرف دیگر حرارت مخصوص خاک - میزان حرارت لازم جهت بالا بردن یک درجه سلسیوس از یک سانتی متر مکعب از آن خاک - بسیار تحت تاثیر رطوبت خاک قرار می‌گیرد به طوریکه خاک‌های مزرعه که دارای ترکیبات هوموسی و بافت ریز هستند به علت قدرت بالای نگه داری آب، ظرفیت حرارتی بیشتری نسبت به خاک‌های خشک و معمولی دارند. به عبارت دیگر تغییرات دما در خاک‌های مرطوب مزرعه کمتر از خاک‌های خشک است (Alizadeh and Kouchaki, 1989). بنابراین علیرغم کاهش دمای محیط حتی پایین تر از نقطه انجماد بدن، این امکان وجود دارد که لاروها در خاک اصلًا با چنین دماهایی مواجه نشوند و این نکته بسیار مهمی است که می‌باشد در مقوله چگونگی زمستان گذرانی حشراتی که در خاک این دوره را سپری می‌کنند مد نظر داشت. با توجه به نتایج مطالعات قبلی و به ویژه نتایج حاصل از این مطالعه سئوالی که مطرح می‌شود این است که به راستی این حشره در دسته بندی مربوط به استراتژی‌های تحمل به سرما جزء کدام گروه قرار می‌گیرد؟ از طرفی از آنجا که نقطه انجماد بدن نمونه‌های زمستان گذران (و همچنین نمونه‌های آزمایشگاهی سرمادیده) نسبتاً بالاست (به طور متوسط -10°C درجه سلسیوس) و این حشرات در صورت سازگار شدن با سرما قادرند در دمای زیر این نقطه نیز زنده بمانند پس نمی‌توان آنها را جزء حشرات حساس به یخ زدگی به حساب آورد و از طرف دیگر این لاروهای این آفت نمی‌توانند دماهای

پایین تر از نقطه انجماد را به مدت ۲۴ ساعت تحمل کنند و یا به عبارت دیگر تحمل به دماهای پاییتر از نقطه انجماد در این حشره آن چنان بالا و مشابه بعضی دیگر از گونه‌های متحمل به یخ زدگی نیست (Atapour and Moharrampour, 2009). مساله قابل تأمل این است زمانی که به شکل کلی در مورد استراتژی سرما سختی حشرات بحث می‌شود عده‌ای از حشرات در گروه‌های بینایین قرار می‌گیرند. در نتیجه تمام حشرات از نظر پاسخ به دماهای زیر صفر نمی‌توانند در این تقسیم‌بندی‌ها جای داده شوند (Baust and Rojas, 1985; Lee, 1991; Turnock and Bodnaryk, 1991). به این ترتیب شاید نتوان کرم برگخوار چغnder را با قاطعیت در یک گروه جای داد اما می‌توان در مورد این گونه مطمئن بود که می‌تواند در دماهای پایین تر از نقطه انجماد خود زنده بماند مشروط بر اینکه تدریجیاً با دماهای پایین مواجه گردد و زمان کافی جهت تطابق با شرایط محیطی به آن داده شود. طی مطالعه دیگری که در کشور کره جنوبی بر روی نمونه‌های آزمایشگاهی این آفت صورت گرفت این حشره جزء حشرات حساس به یخ زدگی گزارش شده است (Kim and Kim, 1997). در حالی که آنها توجهی به سرعت کاهش دما نداشته اند و آزمایشات بر روی حشرات آزمایشگاهی معمولی و یا حشرات آزمایشگاهی که تنها ۲ ساعت در دمای صفر و یا ۵ درجه سلسیوس قرار گرفته بودند صورت پذیرفت و با توجه به اینکه این حشرات نتوانستند دمای ۱۰- درجه سلسیوس را تحمل کنند در گروه حساس به یخ زدگی قرار داده شدند. صرف نظر از اینکه حقیقتاً از روی چنین آزمایشی نمی‌توان استراتژی تحمل به سرما یک گونه را مشخص ساخت. شرایط آب و هوایی نیز در میزان تحمل یک گونه به سرما اثر گذار است. این شرایط در مناطقی از کشور کره جنوبی که کرم برگخوار چغnder در آن فعالیت دارد به گونه‌ای گرم و معتل است که این حشره تقریباً در تمام طول سال فعال است. اما در ایران به ویژه در اکثر نواحی زیر کشت چغnder، حشره با سرما و یخبدان در طول ماههای زمستان مواجه است و دچار رکود متابولیسمی شده و رشد آن تا مساعد شدن شرایط محیطی به تعویق می‌افتد. (Denlinger, 1991) معتقد است که تنوع جغرافیایی در زمینه تحمل به سرما در میان جمعیت‌های مختلف یک گونه می‌تواند وجود داشته باشد و حتی در مناطق معتل جمعیت‌هایی که در عرض‌های جغرافیایی پاییتری قرار دارند نسبت به آنها که در عرض‌های بالاتر ساکن هستند تحمل سرمایی کمتری

را دارا هستند. مشخص است که در ایران کرم برگخوار چندر در مسیر تکاملی به خوبی توانسته خود را با شرایط آب و هوایی موجود وفق داده و با کمک ساز و کارهای مختلف این توانایی را کسب نموده است که دماهای پایین زمستان را پشت سر گذارد و نسل بعدی را در بهار تولید نماید. بر اساس مطالعات (Kheyri, 1985, 1976) یکی از عوامل افزایش جمعیت و بروز طغیان کرم برگخوار چندر، زمستان‌های سرد و سخت و طولانی بدون نوسانات دمایی زیاد است، چرا که مانع ظهور مراحل بعدی که تحمل سرمایی خاصی ندارند شده و آفت حتی المقدور به عمق بیشتری از خاک نفوذ می‌کند. نتایج حاصل از این مطالعه نیز تایید و تکمیل کننده مطالعات گذشته بود. در این مطالعه روشن شد که این آفت در صورت مواجه شدن تدریجی با دماهایی که به آرامی کاهش می‌یابند، قادر است حتی دماهایی پایین‌تر از نقطه انجماد خود را تحمل نماید و به این ترتیب می‌تواند شرایط عادی زمستان را، هر چند که بسیار سخت و همراه با یخبندان باشد، با موفقیت پشت سر بگذارد، اما می‌توان انتظار داشت چنانچه این لاروها در ابتدا و یا انتهای فاز زمستان گذرانی خود، زمانی که هنوز فرصت کافی جهت تطابق با شرایط جدید محیطی را پیدا نکرده‌اند، به طور ناگهانی با دماهای پایین مواجه گردند احتمال بروز مرگ و میر در آنها نسبت به اواسط زمستان بالا خواهد بود. در واقع برخلاف آنچه که شاید در گام نخست به نظر برسد که زمستان‌های سرد و سخت سبب کاهش جمعیت این آفت خواهد شد، چنین شرایطی در زمستان موجب حفظ رکود متابولیسمی لاروها و یا شفیره‌هایی شده که در پاییز نیز به دلیل سردو بودن نسبی هوا به اعماق بیشتری از خاک نفوذ کرده‌اند. از آنجا که خاک، به ویژه خاک مرطوبی که پوششی از برف و یخ نیز داشته باشد، عایق بسیار مناسبی بوده و نتایج این مطالعه نیز مشخص ساخت که می‌تواند از رسیدن دمای خیلی پایین‌تر از صفر درجه سلسیوس به حشره جلوگیری نماید، ظهور حشرات کامل در بهار تا فرا رسیدن شرایط مساعد به تعویق افتاده و این مساله سبب تطابق و همزمانی (synchrony) کامل بین گیاه میزبان و برگخوار چندر گردیده و بر جمعیت آن خواهد افزود.*.

* نشانی نگارندگان: دکتر مریم عطابور و دکتر سعید محرومی‌پور، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه حشره‌شناسی کشاورزی، تهران. صندوق پستی ۱۴۱۱۵-۳۳۶

منابع

- AFSHAR, J. 1938. Pests of summer crops, vegetables, industrial plants and forages in Iran and their control. Ministry of Agriculture, Tehran. 124 pp.
- ALIZADEH, A. and E. KOUCHAKI, 1989. Climate and agriculture. Javid Publication, pp. 139- 159.
- ATAPOUR, M. and S. MOHARRAMPOUR, 2011. Changes in supercooling point and glycogen reserves in overwintering and lab-reared samples of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Nuctoidae) to determining of cold hardiness strategy. *Appl. Entomol. Phytopathol.* 78(2): 199-216. [In Persian with English abstract].
- ATAPOUR, M. and S. MOHARRAMPOUR, 2009. Changes of Cold hardiness, Supercooling Capacity and Major Cryoprotectants in Overwintering Larvae of the Rice Stem Borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Environ. Entomol.* 38 (1): 260-265.
- BALE, J. S. 1987. Insect cold hardiness: Freezing and supercooling- An ecophysiological perspective. *J. Insect Physiol.* 35: 291-298.
- BALE, J. S. 2002. Insects and low temperatures: from molecular biology to distributions and abundance. *Philos. T. Roy. Soc.* 357 (B): 849– 862.
- BALE, J. S., T. N. HANSEN and J. G. BAUST, 1989. Nucleators and sites of nucleation in the freeze tolerant of the gall fly *Eurosta solidaginis*. *J. Insect Physiol.* 35: 291-295.
- BAUST, J. G. and R. R. ROJAS, 1985. Review - insect cold hardiness: Facts and fancy. *J. Insect Physiol.* 31: 755- 759.
- BUTLER, J. G. and T. HENNEBERRY, 1990. Cottonseed oil and safer insecticide soap: effects on cotton and vegetable pests and phytotoxicity. *Southwest. Entomol.* 15: 257- 264.
- CAPINERA, J. L. 2001. Handbook of vegetable pests. Academic Press, San Diego. 729pp.
- DANKS, H. V. 2005. Key themes in the study of seasonal adaptations in insects. *Appl. Entomol. Zool.* 40(2): 199-211.
- DENLINGER, D. L. 1991. Relationship between cold hardiness and diapause, pp. 174- 198. In: R. E. Lee and D. L. Denlinger (eds), *Insect at low temperature*, Chapman and Hall, New York.

عطابور و محرومی بور: ارتباط سازش به سرما و القای تحمل بیخ زدگی در کرم برگخوار چند در

- GOTO, M., Y. LI, S. KAYABA, S. OUTANI and K. SUZUKI, 2001. Cold hardiness in summer and winter diapause and post-diapause pupae of the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae* L. under temperature acclimation. J. Insect Physiol. 47: 709-714.
- HEPPNER, J. B. 1998. *Spodoptera* Armyworm in Florida (Lepidoptera: Noctuidae). Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry Entomological Circular. 390 pp.
- IMO. 2010. Iran Meteorological Organization, available on: <http://www.weather.ir>.
- KHANJANI, M. 2005. Pests of Field Crops in Iran. Buali Sina University Press, Hamadan. pp. 400-407.
- KHEYRI, M. 1976. Investigation on outbreak on the beet armyworm *Spodoptera exigua* Hb. (Lep. Noctuidae). Appl. Entomol. Phytopathol. 42: 1-15. [In Persian with English abstract].
- KHEYRI, M. 1985. Investigation in the biology and population fluctuation of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hb) in Karaj, Iran. A thesis submitted in partial fulfillment of the Doctorate degree. Tehran University. [In Persian with English summary]
- KHEYRI, M. 1989. An inventory of pests attacking sugar beet in Iran. Appl. Entomol. Phytopathol. 56 (1&2): 75-91. [In Persian with English abstract].
- KIM, Y. and N. KIM, 1997. Cold hardiness in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). Physiol. Chem. Ecol. 26 (5): 1117-1123.
- LEE, R. E. 1991. Principles of insect low temperature tolerance, In: Insect at Low Temperature, eds. Lee, R. E. and Denlinger, D. L. pp. 17-46. New York, Chapman and Hall.
- LEE, R. E. and D. L. DENLINGER, 1991. Insects at Low Temperature. Chapman and Hall, New York. 513 pp.
- MILLER, L. K. 1978. Freezing tolerance in relation to cooling rate in an adult insect. Cryobiology 15: 345-349.
- SINCLAIR, B. J. 2001. Field ecology of freeze tolerance: interannual variation in cooling rates, freeze-thaw and thermal stress in the microhabitat of the alpine cockroach *Celatoblatta quinquemaculata*. Oikos, 93: 286-293.
- SINCLAIR, B. J., A. ADDO-BEDIAKO and S. L. CHOWN, 2003. Climatic variability and the evolution of insect freeze tolerance. Biological Reviews, 78: 181-195.

- SONG, W. R., Y. KIM, J. R. CHO, H. S. KIM and J. O. LEE, 1997. Physiological factors affecting rapid cold hardening of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner). Korean J. Appl. Entomol. 36: 249-255.
- TINGLE, F. C. and E. R. MITCHELL, 1977. Seasonal populations of armyworms and loopers at Hastings, Florida. Fla. Entomol. 60: 115- 122.
- TURNOCK, W. J. and R. P. BODNARYK 1991. Latent cold injury and its conditional expression in the bertha armyworm, *Mamestra configurata* (Noctuidae: Lepidoptera). Cryo- Letters, 12: 377- 384.
- ZACHARIASSEN, K. E. 1985. Physiology of cold tolerance in insects. Physiol. Rev. 65: 799– 832.

Address of the authors: Dr. M. ATAPOUR and Dr. S. MOHARRAMPOUR,
Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, P. O. Box:
14115-336, Tehran, Iran.