نامه انجمن حشره‌شناسی ایران
۱۳۹۳ - ۳۴(۱): ۲۳-۳۴

تغییرات ترکیبات ضدیخ با وزن مولکولی پایین در حشرات کامل زمستان‌گذران سن گندم، *Eurygaster integriceps* (Hem.: Scutelleridae)

فرناز عراقیه فراهانی، سعید محرمی‌پور* و یعقوب فتحی‌پور
دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه حشره‌شناسی کشاورزی، تهران، صندوق پستی ۳۳۶- ۱۴۱۱۵.
*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: moharami@modares.ac.ir

Changes of low molecular weight compounds of cryoprotectants in overwintering adults of *Eurygaster integriceps* (Hem.: Scutelleridae)

F. Araghieh Farahani, S. Moharramipour* and Y. Fathipour
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

سن گندم، *Eurygaster integriceps* Puton، حشره‌ای تک‌نسلی و یکی از مهم‌ترین آفات گندم و جو است. حشرات کامل این آفت برای گذران تابستان و زمستان، به‌مدت حدود نه ماه به کوهستان‌های مرتفع مهاجرت می‌کنند. بنابراین، برای تعیین ترکیبات ضدیخ در حشرات کامل زمستان‌گذران سن گندم، ماهانه از مرداد ۸۸ تا اردیبهشت ۸۹ حشرات کامل از پناهگاه‌های سن گندم واقع در ارتفاعات حدود ۲۰۰۰ متری از سطح دریا و همچنین از مزارع گندم منطقه کبودرآهنگ استان همدان جمع‌آوری شدند. ترکیبات شناسایی‌شده توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، به‌طور عمده شامل ترهالوز، گلیسرول، گلوکز، مایواینوزیتول، ریبیتول و سوربیتول بود. اما به‌نظر می‌رسد که ترهالوز و گلیسرول ترکیبات اصلی ضدیخ در این حشره را تشکیل می‌دهند. مقدار ترهالوز در شهریور ماه از ۱/۳۶ میکرومول بر هر گرم وزن تر به‌طور معنی‌داری به ۸/۲۶ میکرومول بر هر گرم وزن تر در آذر ماه افزایش یافت. گلیسرول با ۲۲/۳۶ میکرومول بر هر گرم وزن تر در بهمن ماه و گلوکز با ۸/۹۷ میکرومول بر هرگرم وزن تر در دی ماه دارای بیش‌ترین مقدار بودند. مجموع ترکیبات ضدیخ از ۱۲/۲۸ میکرومول بر هر گرم وزن تر در شهریور ماه به‌طور معنی‌داری به ۴۴/۰۷ میکرومول بر گرم وزن تر در بهمن ماه افزایش یافت. نتایج نشان می‌دهد که سن گندم قابلیت سنتز ترکیبات ضدیخ متنوعی را دارا می‌باشد.

واژگان کلیدی: سن گندم، *Eurygaster integriceps*، ترکیبات ضدیخ، ترهالوز، گلیسرول، دیاپوز

Abstract

The Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton, is a univoltine insect and considered as one of the most important pests of wheat and barley. The adults of *E. integriceps* migrate to higher altitude in mountains for about nine months to complete their aestivation and hibernation period. To measure the cryoprotectants compounds, the insects were collected monthly between August 2009 and May 2010 in an altitude of 2000 meters and from wheat fields on the outskirts of Kabudarahang in the province of Hamadan. The level of cryoprotectants was determined using high performance liquid chromatography (HPLC). The identified compounds were trehalose, glycerol, glucose, myo-inositol, ribitol and sorbitol. It appears that trehalose and glycerol are the major cryoprotectants. The amount of trehalose significantly increased from 1.36 µmol/g fresh weight (f. w.) in September to 8.26 µmol/g f. w. in December. The amount of glycerol (22.36 µmol/g f. w.) and glucose (8.97 µmol/g f. w.) were at their highest levels in February and December, respectively. The amount of total cryoprotectants significantly increased from 12.28 µmol/g f. w. in September to 44.07 µmol/g f. w. in February. Results show that the Sunn pest has a great capacity to synthesize various cryoprotectants.
Key words: Sunn pest, *Eurygaster integriceps*, cryoprotectants, trehalose, glycerol, diapause

مقدمه

حشرات ساکن مناطق معتدل، در طول دوره زندگی خود با تغییرات فصلی و محیطی زیادی مواجه هستند. ازجمله شرایط سخت محیطی، روبرو شدن با دماهای پایین در طول دوره زمستان‌گذرانی می‌باشد. حشرات برای مصون ماندن از دماهای پایین از راهکارهای فیزیولوژیکی و رفتاری استفاده می‌کنند. ازجمله راهکارهای رفتاری می‌توان انتخاب پناهگاه مناسب و مهاجرت را نام برد (Danks, 1991). راهکارهای فیزیولوژیکی برای به حداقل رساندن صدمات دماهای پایین در دوره دیاپوز می‌تواند شامل

دریافت: ۱۳۹۲/۴/۲۶، پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۲۸.

Archive of SID
www.SID.ir

تجمع قندها و پلی‌ال‌ها (ترکیبات الکلی با چندین گروه هیدروکسیل) (Storey & Storey, 1991) و پروتئین‌ها (Rinehart *et al*., 2007) باشد. بسیاری از حشرات جهت مقابله با دماهای پایین از مکانیسم دیاپوز بهره‌مند می‌شوند. درحقیقت، دیاپوز نوعی رکود و وقفه رشدی است که با تغییرات بیوشیمیایی و هورمونی همراه است (Kostal, 2006). افزایش ترکیبات ضدیخ شامل قندهای الکلی با وزن مولکولی پایین و پلی‌ال‌ها، ازجمله تغییرات به‌وقوع‌پیوسته در طول دوره دیاپوز و زمستان‌گذرانی حشرات می‌باشد که سبب افزایش بقا آن‌ها در دماهای پایین می‌شود. پلی‌ال‌ها در سایر موجودات، اعم از گیاهان (Levitt, 1980)، کرم‌ها (Holmstrup,1995; Qiu & Bedding, 1999)، کنه‌ها و عنکبوت‌ها (Kirchner, 1973; Somme, 1979)، بسیاری از پادمان‌ها و حشرات (Somme, 1982; Storey & Storey, 1991) و حتی خزندگان (Costanzo *et al*., 1995) گزارش شده‌اند. انواع ترکیبات ضدیخ، مانند سوربیتول، مانیتول، ترهالوز و پرولین، در حشرات شناسایی شده است (Chen & Denlinger, 1990; Lee, 1991; Misener *et al*., 2001)، اما گلیسرول شناخته‌شده‌ترین ترکیب ضدیخ در حشرات به‌حساب می‌آید (Storey & Storey, 1991; Atapour & Moharramipour, 2009).

در حشرات حساس به یخ‌زدگی، که درصورتِ یخ زدنِ مایعاتِ بین‌سلولی زنده نمی‌مانند، ترکیبات ضدیخ با غلظت‌های بالا ساخته می‌شوند. در بسیاری از این حشرات ممکن است چندین ترکیب ضدیخ (multicomponent cryoprotectant)، ازقبیل گلیسرول، مانیتول و یا ترهالوز ساخته شوند. این ترکیبات، افزایش ظرفیت سرد شدن فوق‌العاده در حشره، کاهش نقطه انجماد بدن (supercooling point) (Duman *et al*., 1995) و پایداری ساختار غشای سلولی را سبب می‌شوند (Williams, 1990). بنابراین، شرایط فیزیولوژیکی موجود زنده به‌نحوی تغییر می‌یابد که می‌تواند از یخ‌زدگی این گروه از حشرات محافظت کند.

حشرات متحمل به یخ‌زدگی، که درصورتِ یخ زدنِ مایعاتِ خارج سلولی زنده می‌مانند، از ترکیبات ضدیخ با وزن مولکولی پایین برای کاهش استرس اسمزی در زمان انجماد سلول و تنظیم میزان از دست دادن آب سلولی در زمان یخ زدن مایعاتِ خارج سلولی، بهره می‌برند (Baust, 1982). همچنین، این ترکیبات ساختار پروتئین و غشای سلول را در زمان از دست رفتن آب سلول تثبیت می‌کنند (Crowe *et al*., 1987)؛ به‌عبارتی، از تشکیل یخ در داخل سلول جلوگیری کرده و بدین‌ترتیب صدمات ناشی از یخ‌زدگی را کاهش می‌دهند.

سن گندم، *Eurygaster integriceps* Puton، همه‌ساله خسارت سنگینی به محصول گندم و جو وارد می‌کند، تاآنجاکه آن را مهم‌ترین مشکل گیاه‌پزشکی می‌دانند. این آفت، حشره‌ای تک‌نسلی و دارای دیاپوز تابستانه و زمستانه است که بیش از نه ماه از سال را به‌صورت حشرات کامل در زیر بوته‌های گون و درمنه و در ارتفاعات سپری می‌کند (Radjabi, 2000). حشرات کامل زمستان‌گذران سن گندم پس از پایان دیاپوز و پشت سر گذاشتن دوره سرما از ارتفاعات به مزارع سبز گندم مهاجرت می‌کنند.

در مطالعات Baghdadi *et al*. (2001)، نقطه انجماد و وزن حشرات کامل سن گندم در ارتفاعات آتشکده کرج بررسی شد و استراتژی تحمل به سرما در سن گندم از نوع استراتژی دوگانه گزارش گردید. از نظر عوامل متابولیکی مؤثر در تحمل حشرات کامل زمستان‌گذران سن گندم به سرما، میزان ذخایر چربی (Bashan *et al*., 2002) و وجود پروتئین‌های ضدیخ (Baghdadi *et al*., 2002) مورد مطالعه قرار قرار گرفته‌اند. به‌نظر می‌رسد که پروتئین ضدیخ در حشرات با راهکار

Archive of SID

www.SID.ir

متحمل به یخ‌زدگی سبب جلوگیری از تشکیل دوباره کریستال‌های یخ در داخل سلول می‌شود و در حشرات با راهکار حساس به یخ‌زدگی سبب افزایش ظرفیت سرد شدن موجود زنده و در نهایت محافظت در برابر سرما می‌گردد (Duman, 2001). بااین‌حال، تاکنون مطالعه‌ای روی ترکیبات ضدیخ با وزن مولکولی پایین در سن‌های زمستان‌گذران انجام نشده است. ازاین‌رو، مطالعه حاضر با هدف شناسایی و بررسی تغییرات اجزای ترکیبات ضدیخ و ارتباط آن با تغییرات دمای ماهانه در سن‌های جمع‌آوری‌شده از پناهگاه‌های زمستانه انجام شد. بی‌شک، بررسی تغییرات ترکیبات ضدیخ و تغییرات آن در طول دوران دیاپوز، در درک مراحل مختلف دیاپوز و سازوکارهای تحمل حشره به سرما مؤثر خواهد بود.

مواد و روش‌ها

داده‌های هواشناسی

برای این منظور، از اطلاعات دریافتی از ایستگاه هواشناسی نوژه (حدود ۲۰ کیلومتری روستای قلی‌آباد) در شهرستان کبودرآهنگ همدان استفاده شد.

جمع‌آوری حشرات کامل سن گندم

حشرات کامل سن گندم به‌صورت ماهانه از مرداد ۱۳۸۸ تا فروردین ۱۳۸۹ از ارتفاعات کوه‌های قلی‌آباد (عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ٢٤ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ٤٨ درجه و ۸۳ دقیقه شرقی، ارتفاع حدود ۲۰۰۰ متر از سطح دریا) و در اردیبهشت ماه از مزارع گندم مشرف به اماکن زمستان‌گذران سن گندم واقع در روستای قلی‌آباد شهرستان کبودرآهنگ جمع‌آوری شدند. حشرات جمع‌آوری‌شده از ارتفاعات، در ظروف پلاستیکی داخل یخدان و در دمایی شبیه به شرایط طبیعی و با همان گیاهی که از زیر آن جمع‌آوری شده بودند به آزمایشگاه انتقال یافتند. حشرات کامل پس از اندازه‌گیری وزن بدن در میکروتیوب قرار گرفتند و به فریزر ۲۵- درجه سلسیوس منتقل شدند.

اندازه‌گیری ترکیبات ضدیخ

تعداد تکرارها در هر ماه حداقل سه تکرار (Khani *et al*., 2007) و هر تکرار شامل یک حشره کامل بود که پس از همگن شدن در ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد (ساخته‌شده با آب دوبار تقطیر)، به‌مدت ۱۵ دقیقه با دور g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول رویی در آون تحت خلا در دمای ۳۵ درجه سلسیوس تبخیر گردید. پس از تبخیر کامل حلال، ۱۵۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر (HPLC grade) به هر نمونه اضافه و بعد با فیلتر سلولزاستات صاف شد. برای جداسازی و شناسایی ترکیبات ضدیخ از دستگاه HPLC (Waters, USA) و ستون ۷/۸ × ۳۰۰ میلی‌متر (Supelco, USA) استفاده شد. آشکارساز مورد استفاده، از نوع ضریب شکست (RI) بود. دمای ستون ۸۰ و دمای آشکارساز ۳۰ درجه سلسیوس بود (Khani *et al*., 2007; Atapour & Moharramipour, 2009). فاز متحرک شامل آب دوبار تقطیر (HPLC grade) و جریان حلال (flow rate) ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

تجزیه آماری

اطلاعات به‌دست‌آمده به‌صورت میانگین ± خطای معیار گزارش می‌شوند. تجزیه داده‌ها با کمک تجزیه واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) انجام شد و درصورت معنی‌دار شدن، مقایسه میانگین داده‌های مختلف با آزمون توکی در سطح ۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16.0 صورت گرفت. به‌منظور تعیین رابطه همبستگی بین دو متغیر، از آزمون روابط همبستگی پیرسون استفاده شد.

Archive of SID

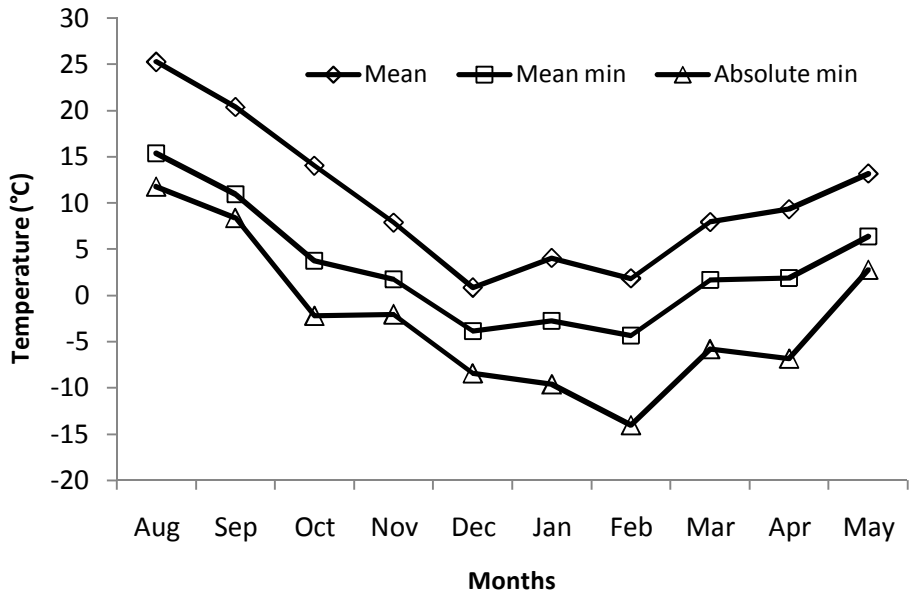
www.SID.ir

نتایج و بحث

براساس داده‌های ایستگاه هواشناسی نوژه، بالاترین میانگین دمای ماهانه در مرداد ماه (۲۵/۳ درجه سلسیوس) مشاهده شد. پس از آن دما سیر نزولی داشت و در ماه‌های آذر تا بهمن به حداقل (۰/۸۵ تا ۱/۸۵ درجه سلسیوس) رسید. اما میانگین دما از اسفند ماه به بعد افزایش نشان داد و در اردیبهشت ماه به ۱۳/۲ درجه سلسیوس رسید. همچنین، میانگین حداقل دمای ماهانه در سردترین ماه‌های سال شامل آذر، دی و بهمن به‌ترتیب ۳/۸-، ۲/۷- و ٤/۳- درجه سلسیوس و حداقل دمای مطلق در این سه ماه به‌ترتیب ۸/٤-، ۹/٦- و ١٤- درجه سلسیوس بود (شکل ۱).

ترکیبات ترهالوز، گلیسرول، گلوکز، مایواینوزیتول، سوربیتول و ریبیتول در حشرات کامل سن گندم شناسایی شدند (شکل ۲). ترهالوز و گلیسرول می‌توانند به‌عنوان مهم‌ترین ترکیبات ضدیخ در این حشره به‌حساب آیند. غلظت ترهالوز در ماه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نشان داد ($F = ۱۰/۱٦۲$؛ $df = ۹, ٤٦$؛ $P < ۰/۰۰۱$) و میزان آن در شهریور ماه، ۰/۱۸ ± ۱/۳٦ میکرومول بر هر گرم وزن تر حشره به‌دست آمد. اما غلظت این ترکیب در ماه‌های سرد سال حدود شش‌برابر افزایش یافت، به‌طوری‌که در آذر ماه به بیش‌ترین مقدار، یعنی ۲/۲٦ ± ۸/۲٦ میکرومول بر هر گرم وزن تر حشره رسید (شکل۳). ترهالوز همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح یک درصد با میانگین دمای ماهانه نشان داد ($r = -۰/۷٤۹$ ،$P = ۰/۰۱۳$).

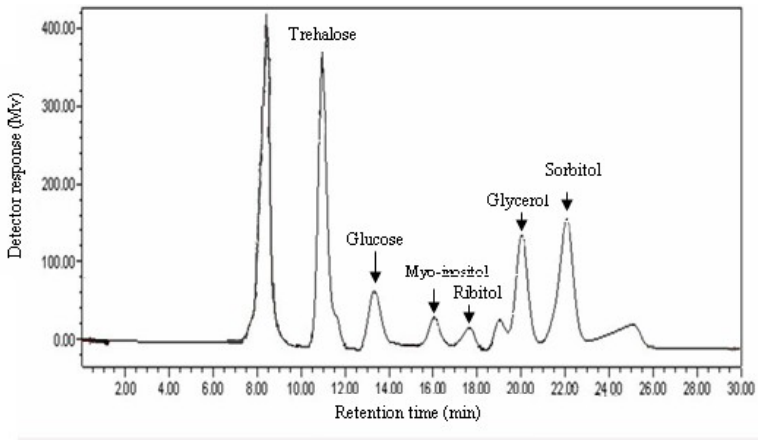
گلیسرول نیز در بهمن ماه به بیش‌ترین مقدار، یعنی ٦/۵۰ ± ۲۲/۳٦ میکرومول بر هر گرم وزن تر حشره رسید و میزان آن با ماه‌های دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ($F = ۵/۰۱۷$؛ $df = ۹, ٤٤$؛ $P < ۰/۰۰۱$) (شکل ٤).



شکل ۱- میانگین دمای ماهانه، میانگین حداقل دمای ماهانه و حداقل مطلق ماهانه طی ماه‌های مرداد ۱۳۸۸ تا اردیبهشت ۱۳۸۹ از ایستگاه هواشناسی نوژه.

Fig. 1. Monthly mean temperature, monthly mean of minimum temperature and absolute minimum temperature from Nojeh Meteorological Station during August 2009 to May 2010.

www.SID.ir



شکل ۲- کروماتوگرام HPLC مربوط به جداسازی ترکیبات ضدیخ موجود در یک نمونه از حشرات کامل زمستان‌گذران سن گندم جمع‌آوری‌شده در مرداد ماه ۱۳۸۸. برای اطلاعات مربوط به شرایط HPLC به "مواد و روش‌ها" رجوع کنید.

Fig. 2. HPLC chromatogram of cryoprotectants separation in a sample of overwintering adult of sunn pest collected in August 2009. See "Materials and methods" for HPLC conditions.

گلیسرول با میانگین دمای ماهانه همبستگی معنی‌داری نشان نداد (P = ۰/۱۲٤، r = −۰/۵۲۰)، اما با حداقل دمای مطلق ماهانه همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح پنج درصد داشت (P = ۰/۰۲۷، r = −۰/٦۹۰).

گلوکز در دی ماه با ۱/۱۷ ± ۸/۹۷ میکرومول بر هر گرم وزن تر حشره دارای بیش‌ترین مقدار بود (F = ٤/۳۱۷؛ df = ۹, ٤٤؛ P < ۰/۰۰۱) (شکل ۳). سوربیتول نیز روند افزایشی داشت و در ماه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نشان داد (F = ٤/۵۳۰؛ df = ۹, ۳٦؛ P < ۰/۰۰۱). کم‌ترین و بیش‌ترین مقدار به‌ترتیب در ماه‌های شهریور (۰/۰٤ ± ۰/۳۳ میکرومول بر هر گرم وزن تر حشره) و آذر (۱/۱۸ ± ۳/۹۷ میکرومول بر هر گرم وزن تر حشره) مشاهده شد (شکل ۵). سوربیتول همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح یک درصد با میانگین دمای ماهانه نشان داد (P = ۰/۰۱٤، r = −۰/۷٤۲). مقادیر ریبیتول و مایواینوزیتول در ماه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نشان ندادند، اگرچه در طول دوره دیاپوز مقدار بیش‌تری از آن‌ها مشاهده شد (شکل ۵).

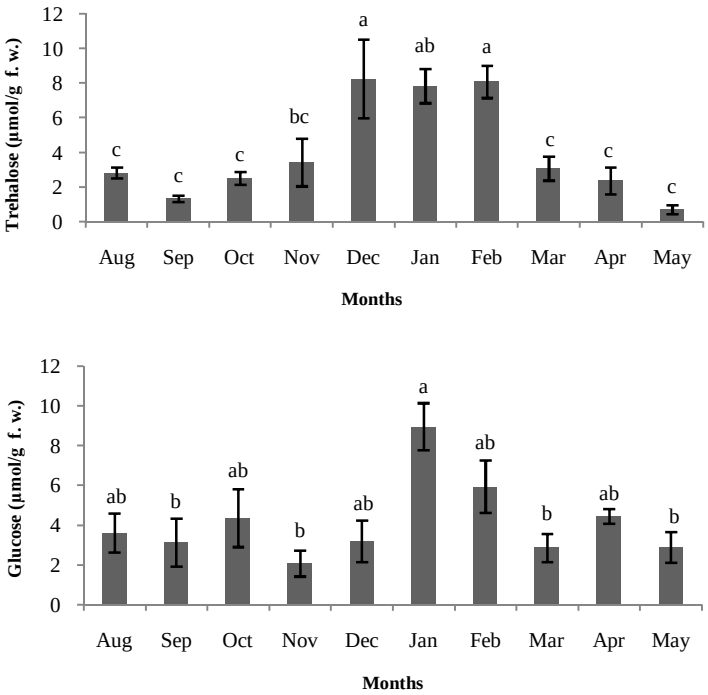
ریبیتول (P = ۰/۰٤٦، r = −۰/٦٤۰) و مایواینوزیتول (P = ۰/۰٤۲، r = −۰/٦٤۹) همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح پنج درصد با میانگین دمای ماهانه نشان دادند.

مجموع کل مقدار ترکیبات ضدیخ شناسایی‌شده در حشرات کامل سن گندم در شهریور ماه، به‌طور معنی‌داری، از ۱/۵۸ ± ۱۲/۲۸ به ۸/۰۸ ± ٤٤/۰۷ میکرومول بر هر گرم وزن تر حشره در بهمن ماه افزایش یافت (F = ۷/۷۹۱؛ df = ۹, ٤۵؛ P < ۰/۰۰۱) (شکل ٦). همچنین، مجموع کل مقدار ترکیبات ضدیخ، همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح پنج درصد با میانگین دمای ماهانه داشت (P = ۰/۰۲۲، r = −۰/۷۰۷).

تجمع قندها و پلی‌ال‌ها، در تعداد زیادی از حشرات در حال دیاپوز و یا در حال زمستان‌گذرانی گزارش شده است (Zachariassen, 1985; Storey & Storey, 1991; Somme, 1999). سنتز ترهالوز همراه با گلیسرول از رایج‌ترین پاسخ‌های حشرات به دماهای پایین است. این واکنش در نماتدها و مخمرها نیز مشاهده شده است (Doucet *et al*., 2009).

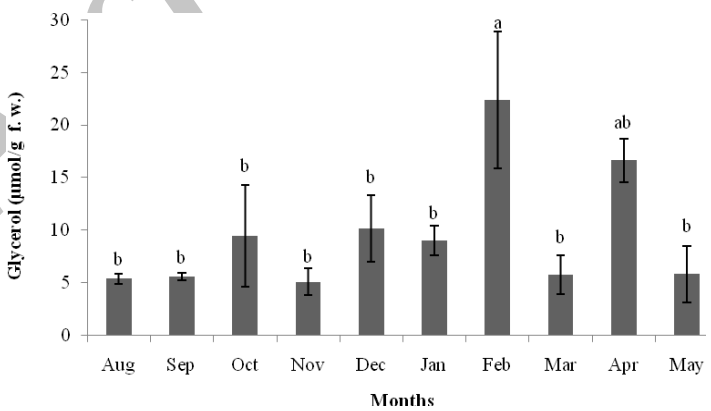
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳- تغییرات میانگین ترهالوز و گلوکز در حشرات کامل زمستان‌گذران سن گندم طی ماه‌های مرداد ۱۳۸۸ تا اردیبهشت ۱۳۸۹. مقادیر مشخص‌شده با حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح خطای ۵٪ با استفاده از آزمون توکی می‌باشد.

Fig. 3. Trehalose and glucose changes in overwintering adults of sunn pest collected from August 2009 to May 2010. Values labeled with the same letters are not significantly different at the 5% level by Tukey's test.

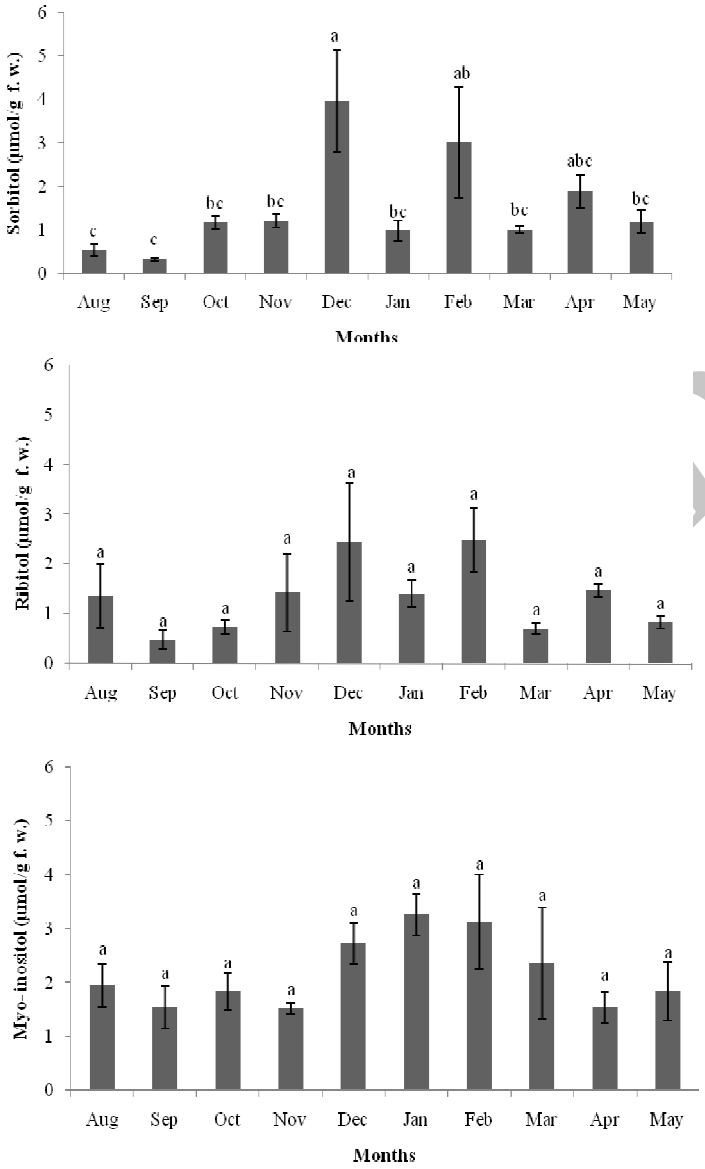


شکل ٤- تغییرات میانگین گلیسرول در حشرات کامل زمستان‌گذران سن گندم طی ماه‌های مرداد ۱۳۸۸ تا اردیبهشت ۱۳۸۹. مقادیر مشخص‌شده با حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح خطای ۵٪ با استفاده از آزمون توکی می‌باشد.

Fig. 4. Glycerol changes in overwintering adults of sunn pest collected from August 2009 to May 2010. Values labeled with the same letters are not significantly different at the 5% level by Tukey's test.

Archive of SID

www.SID.ir

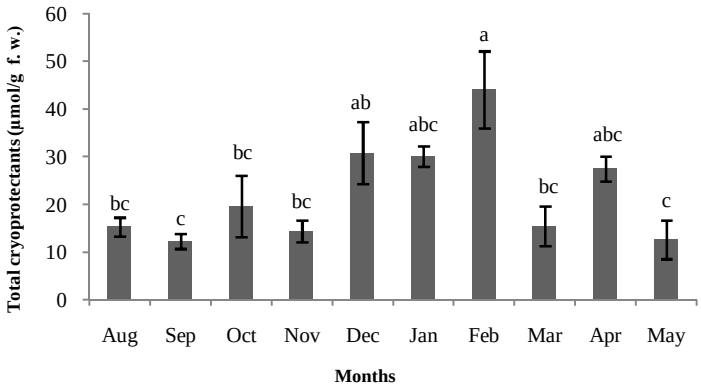


شکل ۵- تغییرات میانگین سوربیتول، ریبیتول و مایواینوزیتول در حشرات کامل زمستان‌گذران سن گندم طی ماه‌های مرداد ۱۳۸۸ تا اردیبهشت ۱۳۸۹. مقادیر مشخص‌شده با حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح خطای ۵٪ با استفاده از آزمون توکی می‌باشد.

Fig. 5. Sorbitol, ribitol and myo-inositol changes in overwintering adults of sunn pest collected from August 2009 to May 2010. Values labeled with the same letters are not significantly different at the 5% level by Tukey's test.

مقدار ترهالوز در حشرات زمستان‌گذران سن گندم در سردترین ماه‌های سال نسبت به حشرات تابستان‌گذران و حشرات فعال جمع‌آوری‌شده از مزارع افزایش معنی‌داری داشت. ازاین‌رو، و مشابه با تعداد زیادی از حشرات، افزایش غلظت ترهالوز در اثر کاهش دما سبب می‌شود که ترهالوز در سن گندم به‌عنوان ترکیب ضدیخ شناخته شود (Storey & Storey, 1991; Khani *et al*., 2007). درضمن، این ترکیب می‌تواند

www.SID.ir



شکل ٦- تغییرات میانگین کل ترکیبات ضدیخ در حشرات کامل زمستان‌گذران سن گندم طی ماه‌های مرداد ۱۳۸۸ تا اردیبهشت ۱۳۸۹. مقادیر مشخص‌شده با حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح خطای ۵٪ با استفاده از آزمون توکی می‌باشد.

Fig. 6. Total cryoprotectants changes in overwintering adults of sunn pest collected from August 2009 to May 2010. Values labeled with the same letters are not significantly different at the 5% level by Tukey's test after ANOVA.

حشرات را در برابر شوک‌های سرمایی محافظت کند. در برخی حشرات، نظیر شفیره‌های زمستانه شب‌پره *Mamestra brassicae* L.، همانند حشرات کامل سن گندم میزان ترهالوز با شوک سرما افزایش می‌یابد (Goto *et al*., 2001b). ترهالوز در سایر حشرات، مانند لاروهای زمستان‌گذران کرم سیب، *Cydia pomonella* L.، (Khani *et al*., 2007)؛ شفیره‌های زمستانه شب‌پره *M. brassicae*، (Goto *et al*., 2001b)؛ حشرات کامل زمستان‌گذران در حال دیاپوز سن *Graphosaboma lineatum* L.، (Slachta *et al*., 2002)؛ شفیره‌های دارای دیاپوز زمستانه مگس پیاز، *Delia antiqua* Meigen، (Nomura & Ishikawa, 2001)؛ لاروهای دارای دیاپوز شب‌پره *Dendrolimus tabulaeformis* Tsai et Liu، (Zeng *et al*., 2008)؛ و حشرات کامل زمستان‌گذران *Anthonomus pomorum* L.، (Kostal & Simek, 1996) نیز به‌عنوان مهم‌ترین ترکیب ضدیخ گزارش شده است. به‌طورکلی، ترهالوز دی‌ساکاریدی است که از پیوند دو آلفاگلوکز تشکیل شده و به‌عنوان قند اصلی خون و مهم‌ترین منبع انرژی پرواز حشرات عمل می‌کند (Becker *et al*., 1996). میزان کاهش ترهالوز و گلوکز در فروردین ماه ممکن است ناشی از مصرف آن‌ها به‌عنوان انرژی پرواز باشد، چنانچه غلظت این ترکیبات در این ماه تقریباً برابر با مرداد ماه می‌باشد.

گلیسرول در بسیاری ماه‌ها مقدار بالایی داشت و به‌عنوان مهم‌ترین پلی‌ال شناسایی شد. مولکول‌های گلیسرول اندازه کوچک‌تر و تعداد ذرات بالاتری در واحد حجم نسبت به ترهالوز دارند. هرچه ترکیبات ضدیخ دارای مولکول‌های کوچک‌تری باشند و تعداد آن‌ها هم بیش‌تر باشد، عملکرد ضدیخی آن‌ها افزایش می‌یابد (Danks, 2006). مقدار گلیسرول در بهمن ماه که پایین‌ترین دمای مطلق ماهانه نیز در این ماه گزارش شد، افزایش معنی‌داری نشان داد. گلیسرول به‌عنوان رایج‌ترین ترکیب ضدیخ در عده‌ای از حشرات شناسایی شده است (Storey & Storey, 1991). مطالعات نشان داده است که گلیسرول در زمان شوک‌های سرمایی سنتز می‌شود و بیش‌ترین مقدار آن در دماهای بین صفر تا

Archive of SID

www.SID.ir

۵- درجه سلسیوس ساخته می‌شوند (Doucet *et al*., 2009). کم‌ترین دما مربوط به ماه‌های بهمن و فروردین، و به‌ترتیب ۱۴- و ۶/۸- درجه سلسیوس بود (شکل ۱). شاید گلیسرول در فروردین ماه به‌دلیل سرد شدن غیرمنتظره هوا افزایش یافته باشد. بنابراین، می‌توان انتظار داشت که غلظت گلیسرول در دوره پس‌دیاپوز درصورت سرد شدن هوا افزایش یابد. گلیسرول در حشرات کامل زمستان گذران سن *G. lineatum*، (Slachta *et al*., 2002) و کرم ساقه‌خوار برنج، *Chilo suppressalis* Walker، (Goto *et al*., 2001a; Atapour & Moharramipour, 2009) جز مهم‌ترین ترکیبات ضدیخ گزارش شده است. در شب‌پره *Ostrinia furnacalis* Guenee نیز مقدار گلیسرول در دوره پس‌دیاپوز و با دمای محیط نزدیک به صفر درجه سلسیوس، بیش‌تر از زمانی بوده که حشره در حالت دیاپوز به‌سر می‌برده است (Goto *et al*., 2001c).

غلظت گلوکز هم‌زمان با غلظت ترهالوز در ماه‌های سرد سال افزایش یافت. در مطالعه‌ای که برای بررسی ارتباط تغییرات گلوکز و ترهالوز با تغییرات میزان گلیکوژن انجام گرفت ارتباط معنی‌داری میان آن‌ها مشاهده نشد (Araghieh Farahani, 2011). بنابراین، این تغییرات شاید با میزان مصرف چربی قابل توجیه باشد که البته نیاز به آزمایش‌های جداگانه دارد. گلوکز در لاروهای کرم ساقه خوار برنج، (Atapour & Moharramipour, 2009) و شب‌پره *D. tabulaeformis*، (Zeng *et al*., 2008) به‌عنوان ترکیب ضدیخ مهم گزارش شده است. در برخی گونه‌های حشرات، افزایش میزان گلوکز و ترهالوز حتی درصورتی‌که غلظت گلیسرول بدون تغییر باشد نیز سبب افزایشِ تحملِ سرما می‌شود (Overgaard *et al*., 2007).

مایواینوزیتول نیز در سردترین ماه‌های سال به بیش‌ترین مقدار خود رسید، هرچند غلظت آن پایین بود. این ترکیب نیز در حشرات کامل زمستان‌گذران کفشدوزک *Ceratomegilla undecimnotata* (Schneider)، (Kostal *et al*., 1996) و شفیره‌های مگس ریشه، *Delia radicum* L.، (Kostal & Simek, 1995) جز مهم‌ترین ترکیبات ضدیخ گزارش شده است. سوربیتول و ریبیتول نیز در سردترین ماه‌های سال به بیش‌ترین مقدار خود رسیدند. این دو ترکیب نیز به‌عنوان مهم‌ترین ترکیبات ضدیخ در حشرات کامل زمستان‌گذران سن *Pyrrhocoris apterus* L.، (Kostal & Simek, 2000) مورد شناسایی قرار گرفته است.

در بیش‌تر حشرات، تعداد ترکیبات ضدیخ تولیدشده بسیار محدود است. بااین‌وجود، در بعضی از حشرات تولید چند ترکیب ضدیخ به‌طور هم‌زمان گزارش شده است. به‌طور مثال، در حشرات کامل سن *P. apterus*، (Kostal & Simek, 2000) ریبیتول، سوربیتول، آرابیتول و مانیتول، و در سوسک *Ips typographus* L.، (Kostal *et al*., 2007) گلوکز، ترهالوز، سوربیتول، مانیتول و اریتریتول هم‌زمان به‌عنوان ترکیب ضدیخ عمل می‌کنند. در تحقیق حاضر، در سن گندم نیز طیف متنوعی از ترکیبات ضدیخ مشاهده شد. این احتمال وجود دارد که تولید یک ترکیب با غلظت بالا سبب سمیت سلولی شود؛ بنابراین، حشرات برای جلوگیری از این سمیت ممکن است به‌جای یک ترکیب، چندین ترکیب با غلظت‌های پائین تولید کنند (Baust, 1973). علاوه‌براین، ترکیبات مختلف ممکن است عملکردهای متفاوت داشته باشند و نقش ضدیخیِ بهتری ایفا کنند (Zachariassen, 1985). سنتز ترکیبات ضدیخ ممکن است به دما (Pullin, 1996)، دیاپوز (Pullin, 1992) و یا هردو وابسته باشد (Han & Bauce, 1995). در سن گندم نیز سنتز ترکیبات ضدیخ با تغییرات دما رابطه داشت.

سن گندم زمستان را در ارتفاعات سپری می‌کند و دیاپوز آن در دی ماه پایان می‌یابد (Radjabi, 2000). پس

Archive of SID

www.SID.ir

از آن، سن گندم وارد دوره پس‌دیاپوز شده و در این دوره همواره با دماهای زیر صفر درجه سلسیوس مواجه می‌شود. همان‌طورکه انتظار می‌رود، مقدار ترکیبات در دوره پس‌دیاپوز افزایش می‌یابد. چنین روند افزایشیِ ترکیبات ضدیخ در لاروهای زمستان‌گذران کرم ساقه‌خوار برنج، (Goto *et al*., 2001a) و شفیره‌های دیاپوزی *M. brassicae*، (Goto *et al*., 2001b) در زمان پس‌دیاپوز مشاهده شده است. بنابراین، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مواجهه با سرما تأثیر زیادی در افزایش غلظت ترکیبات ضدیخ دارد و می‌تواند نقش مهمی در افزایش تحمل حشره به سرما داشته باشد. هرچند غلظت برخی ترکیبات ضدیخ در سن گندم پایین است، اما به‌نظر می‌رسد ترکیبات مختلف پلی‌ال‌ها حتی در غلظت‌های پایین نیز حشرات را در برابر دماهای پایین محافظت کنند (Kostal *et al*., 2007). به‌طورکلی، نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که سن‌های گندم زمستان‌گذران، علاوه‌بر وجود پروتئین ضدیخ (Baghdadi *et al*., 2002) و نیز وجود ذخایر چربی (Bashan *et al*., 2002)، از قابلیت بالایی برای سنتز طیف بسیار متنوعی از ترکیبات ضدیخ برخوردارند.

منابع

Araghieh Farahani, F. (2011) Physiology of diapause and cold hardiness in overwintering adults of sunn pest *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). M. Sc Thesis. Tarbiat Modares University. Tehran, Iran, 130 PP.

Atapour, M. & Moharramipour, S. (2009) Changes of cold hardiness, supercooling capacity and major cryoprotectants in overwintering larvae of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology* 38(1), 260-265.

Baghdadi, A., Moharramipour, S., Rabbani, A. & Abdollahi, A. (2001) Cold hardiness strategies and it's seasonal variation in sunn pest *Eurygaster integriceps* (Put). *Applied Entomology and Phytopathology* 69(1), 51-59.

Baghdadi, A., Rabbani, A., Abdollahi, A. & Moharramipour, S. (2002) Purification and characterization of antifreeze protein from sunn pest *Eurygaster integriceps* Put. *Applied Entomology and Phytopathology* 69(2), 1-4.

Bashan, M., Akbas., H. & Yurdakoc, K. (2002) Phospholipid and triacylgycerol fatty acid composition of major life stages of sunn pest, *Eurygaster integriceps* (Heterpotera: Scutelleridae). *Comparative Biochemistry and Physiology* 132, 375-380.

Baust, J. G. (1973) Mechanisms of cryoprotection in freezing tolerant animal systems. *Cryobiology* 10, 197-205.

Baust, J. G. (1982) Environmental triggers to cold hardening. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73(A), 563-570.

Becker, A., Schlcder, P., Steele, J. E. & Wegener, G. (1996) The regulation of trehalose metabolism insects. *Experientia* 52, 433-439.

Chen, C. P. & Denlinger, D. L. (1990) Activation of phosphorylase in response to cold and heat stress in flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Journal of Insect Physiology* 36, 549-553.

Costanzo, J. P., Grenot, C. & Lee, R. E. (1995) Supercooling, ice inoculation and freeze tolerance in the European common lizard, *Lacerta vivipara*. *Journal of Comparative Physiology* 165(B), 238-244.

Crowe, J. H., Ceowe, L. M., Carpenter, J. F. & Aurell Wistrom, C. (1987) Stabilization of dry phospholipids bilayers and proteins by sugars. *Biochemical Journal* 242, 1-10.

Danks, H. V. (1991) Winter habitats and ecological adaptions for winter survival. pp. 231-259 in Lee, R. E. & Denlinger, D. L. (Eds) *Insects at low temperature*. 513 pp. Hapman & Hall, New York.

Archive of SID

www.SID.ir

Danks, H. V. (2006) Insect adoptions to cold and changing environments. *Canadian Entomologist* 138, 1-23.

Doucet, D., Walker, V. K. & Qin, W. (2009) The bugs that came in from the cold: molecular adoptions to low temperatures in insects. *Cellular and Molecular Life Science* 66, 1404-1418.

Duman, J. G. (2001) Antifreeze and ice nucleator proteins in terrestrial arthropods. *Annual Review of Physiology* 63, 327-357.

Duman, J. G., Olsen, T. M., Yeung, K. L. & Jerva, F. (1995) The roles of ice nucleators in cold tolerant invertebrates. pp. 201-219 in Lee, R. E., Warren, G. J. & Gusta, L. V. (Eds) *Biological ice nucleation and its applications*. 370 pp. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.

Goto, M., Li, Y. P. & Honma, T. (2001a) Changes of diapause and cold hardiness in the Shonai ecotype larvae of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) during overwintering. *Applied Entomology and Zoology* 36(3), 323-328.

Goto, M., Li, Y. P., Kayaba, S., Outani, S. & Suzuki, K. (2001b) Cold hardiness in summer and winter diapause and post-diapause pupae of the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae* L. under temperature acclimation. *Journal of Insect Physiology* 47, 709-714.

Goto, M., Sekin, Y., Outa, H., Hujikura, M. & Suzuki, K. (2001c) Relationships between cold hardiness and diapause, and between glycerol and free amino acid contents in overwintering larvae of the oriental corn borer, *Ostrinia furnacalis*. *Journal of Insect Physiology* 41, 627-634.

Han, E. N. & Bauce, E. (1995) Glycerol synthesis by diapause larvae in response to the timing of low temperature exposure, and implications for overwintering survival of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Journal of Insect Physiology* 41, 981-985.

Holmstrup, M. (1995) Polyol accumulation in earthworm cocoons induced by dehydration. *Comparative Biochemistry and Physiology* 111(A), 251-255.

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.

Kirchner, W. (1973) Ecological aspects of cold resistance in spiders (a comparative study). pp. 271-279 in Weiser, W. (Ed.) *Effects of temperature on ectothermic organisms*. 298 pp. Springer Verlag, New York.

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

Kostal, V., Nedved, O. & Simek, P. (1996) Accumulation of high concentrations of myo-inositol in the overwintering ladybird beetle *Ceratomegilla undecimnotata*. *Cryo-Letters* 17, 267-272.

Kostal, V. & Simek, P. (1995) Dynamics of cold hardiness, supercooling and cryoprotectants in diapausing and non-diapausing pupae of the cabbage root fly, *Delia radicum* L. *Journal of Insect Physiology* 41,627-634.

Kostal, V. & Simek, P. (1996) Biochemistry and physiology of aestivation hibernation in the adult apple blossom weevil, *Anthonomus pomorum* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Insect Physiology* 42, 727-733.

Kostal, V. & Simek, P. (2000) Overwintering strategy in *Pyrrhocoris apterus* L. (Heteroptera): the relations between life-cycle, chill tolerance and physiological adjustment. *Journal of Insect Physiology* 46, 1321-1329.

Kostal, V., Zahradnickova, H., Simek, P. & Zeleny, J. (2007) Multiple component system of sugars and polyols in the overwintering spruce bark beetle, *Ips typographus*. *Journal of Insect Physiology* 53, 580-586.

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. Hapman & Hall, New York

Levitt, J. (1980) *Responses of plants to environmental stresses*: *chilling, freezing and high temperature stresses*. 497 pp. New York, Academic Press.

Archive of SID

www.SID.ir

Misener, S. R., Chen, C. P. & Walker, V. K. (2001) Cold tolerance and proline metabolic gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology* 47, 393-400.

Nomura, M. & Ishikawa, Y. (2001) Dynamic changes in cold hardiness, high-temperature tolerance and trehalose content in the onion maggot, *Delia antique* (Diptera: Anthomyiidae), associated with the summer and winter diapause. *Applied Entomology and Zoology* 36(4), 443-449.

Overgaard, J., Melmendel, A., Srensen, J. G., Bundy, J. G., Loeschcke, V., Nielsen, N. C., & Holmstrup, M. (2007) Metabolomic profiling of rapid cold hardening and cold shock in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology* 53, 1218-1232.

Pullin, A. S. (1992) Diapause metabolism and changes in carbohydrate related to cryoprotection in *Pieris brassicae*. *Journal of Insect Physiology* 38, 319-327.

Pullin, A. S. (1996) Physiological relationships between insect diapause and cold tolerance: coevolution or coincidence? *European Journal of Entomology* 93, 121-129.

Qiu, L. & Bedding, R. (1999) Low temperature induced cryoprotectant synthesis by the infective juveniles of *Stenernema carpocapsae*: biological significance and mechanism involved. *Cryo-Letters* 20, 393-404.

Radjabi, Gh. (2000) *Ecology of cereal's sunn pests in Iran*. 1st ed. 343 pp. Agriculture Research, Education and Extension Organization. [In Persian].

Rinehart, J. P., Li, A., Yocum, G., Robich, R. M., Hayward, S. S. L. & Denlinger, D. L. (2007) Up-regulation of heat shock proteins is essential for cold survival during insect diapause. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 11130-11137.

Slachta, M. S., Vambera, J., Zahradnickova, H. & Kostal, V. (2002) Entering diapause is a prerequisite for successful cold-acclimation in adult *Graphosoma lineatum* (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Insect Physiology* 48, 1031-1039.

Somme, L. (1979) Overwintering ecology of alpine Collembola and oribatid mites from the Austrian Alps. *Ecological Entomology* 4, 175-180.

Somme, L. (1982) Supercooling and winter survival in terrestrial arthropods. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73(A), 519-543.

Somme, L. (1999) The physiology of cold hardiness in terrestrial arthropods. *European Journal of Entomology* 96, 1-10.

Storey, K. B. & Storey, J. M. (1991) Biochemistry of cryoprotectants. pp. 64-93 in Lee, R. E. & Denlinger, D. L. (Eds) *Insects at low temperature*. 513 pp. Hapman & Hall, New York.

Williams, W. P. (1990) Cold-induced lipid phase transitions. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London* 326(B), 555-570.

Zachariassen, K. E. (1985) Physiology of cold tolerance in insects. *Physiological Reviews* 65, 799-832.

Zeng, J. P., Ge, F., Su, J. W. & Wang, Y. (2008) The effect of temperature on the diapause and cold hardiness of *Dendrolimus tabulaeformis* (Lepidoptera: Lasiocampidae). *European Journal of Entomology* 105, 599-606.

Archive of SID

www.SID.ir