علـوم محـیـطی سال چهارم، شماره چهارم ، تابستان ۱۳۸٦
ENVIRONMENTAL SCIENCES Vol.4, No.4 , Summer 2007
۹۱-۱۰۰

استراتژی مقاومت به سرما در لاروهای دیاپوزی ساقه خوار برنج

Chilo suppressalis Walker (Lepidoptera: Pyralidae) در ایران

مریم عطاپور[۱]، سعید محرمی پور[۱] [*]، جعفر کامبوزیا[۲]

۱- گروه حشره شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- گروه کشاورزی اکولوژیک، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی

چکیده

کرم ساقه خوار مهمترین آفت برنج در شمال کشور بوده که به صورت لاروهای کامل در داخل ساقه‌های به جا مانده برنج و علف های هرز زمستان را سپری می‌کند. به منظور تعیین استراتژی زمستان گذرانی این آفت و تغییرات مقاومت به سرما در آن، لاروهای زمستان گذران از مزارع برنج موسسه تحقیقات برنج کشور در رشت طی ماه های مهر تا اسفند ۱۳۸۳ جمع آوری شدند. به دلیل ریزش حدوداً دو متر برف در اواخر بهمن نمونه برداری از لاروهای زمستان گذران در این ماه امکان پذیر نبود. میانگین نقطه انجماد بدن لاروهای جمع آوری شده در مهر ماه ۱۸/۸- درجه سانتی گراد بود اما از آبان این دما به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافت و به ۱۲/۴°C- رسید و تا قبل از ریزش برف در بهمن تغییر چندانی نکرد. نقطه انجماد لاروهای جمع آوری شده در اسفند ماه باز هم افزایش یافت و به ۸/۲°C- رسید. بیش از ۹۰ درصد از لارو های جمع آوری شده در ماه های مختلف پس از ۲۴ ساعت تیمار در دمای ۱۰- و نیز ۱۵- درجه سانتی گراد زنده ماندند ولی درصد بقاء در مورد لارو هایی که ۲۴ ساعت در دمای۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شده بودند، از ۳۰ درصد در مهر ماه به ۸۰ درصد در آبان و ماه های بعد از آن افزایش یافت. به دلیل افزایش قابل توجه نقطه انجماد بدن لاروها در زمستان و زنده ماندن نمونه ها پایین تر از این دما، به نظر می رسد که لاروهای زمستان گذران کرم ساقه خوار برنج در ایران جزء حشرات مقاوم به سرما و یخ زدگی باشند. از آنجا که از اواخر آبان ماه نقطه انجماد و تحمل حشره به سرما تغییرات قابل ملاحظه ای یافته است، می توان انتظار داشت که لاروهای حشره در این ماه وارد مرحله اصلی دیاپوز شده اند.

کلید واژه‌ها: کرم ساقه خوار برنج، زمستان گذرانی، مقاومت به سرما، نقطه انجماد

Cold Hardiness Strategy in Overwintering Larvae of Rice Stem Borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) in Iran

Maryam Atapour[1], Saeid Moharramipour[1*], Jafar Kambouzia[2]

1- *Faculty of Agriculture, Department of Entomology, Tarbiat Modarres University*
2- *Department of Agroecology, Environmental Sciences Research Institute, Shahid Beheshti University*

Abstract

The rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker, is the most important rice pest in north parts of Iran and survives the winter as diapausing mature larvae in rice stubble and weeds. To determine the strategy of hibernation and changes of cold hardiness, overwintering larvae were collected from a paddy field at Rice Research Institute in Rasht from October 2004 to March 2005. Because of hard winter in 2004 and snowfall about 2m on February no sampling was done on this month. The supercooling points (SCPs) of whole body of the larvae collected on October was -18.8°C but it significantly increased to -12.4°C on November and did not change until snowfall on February. Thereafter, SCPs was raised to -8.2°C on March. There was more than 90% survival in the larvae collected from October to March, 24h after exposure to -10 and -15°C but the survival was increased from 30% on October to 80% on November and the following months, 24h after exposure at –20°C. Because of the increase of supercooling point in winter and endurance of temperaure below this point it is suggested that this pest to be a freezing tolerant insect in Iran and entered diapause from late November in the year of study.

Keywords: rice stem borer, overwintering, cold hardiness, supercooling point

* Corresponding author. *Email Address: Moharami@modares.ac.ir*

مقدمه

گیاه برنج میزبان متجاوز از ۱۰۰ گونه آفت است که بسیاری از آنها دارای اهمیت جهانی می‌باشند. از مهمترین این آفات کرم های ساقه خوار هستند. از آسیا پنج گونه مهم ساقه خوار گزارش شده است که از بین آنها کرم ساقه خوار نواری برنج Chilo Suppressalis Walker مهمترین گونه به حساب می آید(Chaudhary *et al.*, 1984; Dale, 1994).

کرم ساقه خوار برنج در ایران مهمترین آفت برنج محسوب می شود و دارای ۳-۲ نسل در سال و ۶ سن لاروی در شمال کشور می باشد. این آفت به شکل لاروهای سن آخر داخل ساقه ها و بقایای برنج و علف‌های هرز حاشیه مزارع زمستان گذرانی می‌کند (Rezwany & Schahosseini, 1977) بسیاری از حشرات ساکن مناطق معتدل در طول دوره زندگی خود با تغییرات محیطی متنوعی مواجه هستند. این حشرات جهت مصون ماندن از این شرایط که می تواند بقاء آنها را تهدید کند، روش های تطابقی بسیاری را به کار می بندند. مواجه شدن با دماهای پایین طی ماه های سرد زمستان یکی از متداول ترین این شرایط است که اکثر حشرات زمستان گذران با وارد شدن به دیاپوز و افزایش مقاومت به سرمای خود، آنرا پشت سرمی گذارند(Denlinger, 1991; Leather *et al.*, 1993; Kostal *et al.*, 2001).

دیاپوز نوعی وقفه رشدی (dormancy) است که نسبت به رکود (quiescence) عمیق تر بوده و در اثر یک سری تغییرات هورمونی و فیزیولوژیک در دوره ای خاص از زندگی حشره رخ می دهد. دیاپوز فرآیندی است که دارای مراحل مختلفی می باشد. بر اساس آخرین تقسیم بندی در این زمینه، دیاپوز به سه مرحله پیش دیاپوز، دیاپوز و پس دیاپوز تقسیم می شود. در مرحله پیش دیاپوز حشره هنوز دچار وقفه رشدی نشده است اما یک سری محرک های محیطی سبب می شود که حشره جهت شروع دیاپوز آمادگی پیدا کند. پس از آن و در مرحله اصلی دیاپوز، وقفه رشدی شروع شده و متابولیسم بدن کاهش می یابد و حشره متحمل یک سری تغییر و تحولات رفتاری و فیزیولوژیک می شود. آنگاه پس از زمانی مشخص متابولیسم بدن مجدداً افزایش یافته و حشره از دیاپوز خارج و وارد مرحله پس دیاپوز می شود. در این مرحله که به آن رکود پس دیاپوز (post diapause quiescence) گویند مانع داخلی جهت ادامه رشد وجود ندارد و تنها عوامل نامساعد خارجی سبب توقف رشد گردیده اند و بنابراین با رفع این موانع و مساعد شدن شرایط در بهار، حشره از این مرحله خارج و رشد خود را از سر می گیرد (Kostal, 2006). مطالعه حشرات در دماهای پایین زمینه نسبتاً جدیدی است که طی سالهای اخیر تحقیقات زیادی روی آن صورت گرفته است. حشرات دیاپوزی بر اساس استراتژی های مقاومت به سرما (cold hardiness) و توانایی زنده ماندن در برابر یخ زدن آب بدن به دو گروه تقسیم می‌شوند:

گروه اول گونه هایی هستند که از استراتژی اجتناب از یخ زدگی بهره می برند و در صورت یخ زدن آب بین سلولی، از بین می روند و به همین دلیل برای گریز از یخ زدگی به طرق مختلف با شروع فصل سرما نقطه انجماد بدن آنها کاهش می یابد. نقطه انجماد یا دمای تبلور (supercooling point or crystallization temperature) دمایی است که در آن بلورهای یخ شروع به شکل‌گیری می‌نمایند و در اثر آزاد شدن گرمای درونی ناشی از تشکیل این بلورها، دمای بدن که به دنبال کاهش دمای محیط در حال کاهش است ناگهان افزایش می یابد.

گروه دوم گونه های مقاوم به یخ زدگی هستند که قادرند حتی در شرایطی که آب بین سلولی یخ زده باشد

زنده بمانند. این حشرات می توانند وجود بلورهای یخ در بدن‌شان را تحمل کنند و بنابر این بر خلاف گروه قبلی، درطول زمستان نقطه انجماد آنها به طور قابل ملاحظه ای افزایش می یابد (Sømme, 1982; Bausnt & Rojas, 1985; Bale, 1987, 2002; Lee, 1989,1991). علاوه براین دو گروه، برخی گونه ها نیز قابلیت استفاده از هر دو استراتژی را دارند(Jonston & Lee, 1990; Baghdadi, *et al.*, 2001,2002). تاکنون در خصوص زمستان گذرانی و استراتژی مقاومت به سرمای کرم ساقه خوار برنج در کشور مطالعه ای صورت نگرفته است. این در حالی است که با پرداختن به استراتژی مقاومت به سرما و زمستان گذرانی این آفت می توان اطلاعات با ارزشی را در خصوص نقاط ضعف و قوت این حشره به دست آورد و جهت کنترل آفت از آنها بهره جست. این مطالعه به منظور بررسی استراتژی مقاومت به سرما و میزان تحمل حشره به دماهای زیر صفر درجه سانتی گراد صورت گرفته است.

مواد و روش ها

جمع آوری حشرات و اطلاعات هواشناسی

به منظور بررسی چگونگی زمستان گذرانی و مقاومت به سرما در این آفت طی ماه های مهر تا اسفند سال ۱۳۸۳، در پایان هر ماه تعدادی لارو از شالیزارهای موسسه تحقیقات برنج کشور واقع در شهر رشت به طور تصادفی جمع آوری و بلافاصله به آزمایشگاه فیزیولوژی گروه حشره شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در تهران منتقل گردید؛ البته به دلیل بارش بسیار سنگین و بی سابقه برف در بهمن نمونه برداری در این ماه امکان پذیر نبود. به دلیل استقرار دستگاه‌های هواشناسی سازمان هواشناسی گیلان در جوار همین شالیزارها از اطلاعات کسب شده از این سازمان جهت بررسی نوسانات دما و اندازه گیری متوسط دمای ماهیانه استفاده گردید.

اندازه گیری نقطه انجماد لاروها

در هر ماه از میان لاروهای جمع آوری شده از شالیزارها تعداد ۸ تا ۱۲ لارو به طور تصادفی انتخاب و نقطه انجماد آنها (supercooling point) با روش Neven (1999) اندازه گیری شد. بدین ترتیب که حسگر (sensor) جنس نیکل-کرم ثبت کننده دما (Testo, model 177-T4, Germany) در تماس با بدن لارو قرار داده شد و در محل خود تثبیت و سپس به دستگاه سرد کننده قابل برنامه‌ریزی (programmable refrigerated test chamber, Binder GmbH Bergstr., model MK 53, Germany) منتقل گردید.

دستگاه به گونه ای برنامه ریزی شد که از دمای ۲۰+ تا ۲۵- درجه سانتی گراد با سرعت تقریبی ۰/۴ درجه سانتی گراد در دقیقه به تدریج سرد شده و طی این مدت هر ۳۰ ثانیه دمای بدن حشره ثبت گردید. نقطه ای که پس از آن، افزایش سریع دما به خاطر آزاد شدن گرمای درونی رخ می دهد، به عنوان نقطه انجماد منظور شد. سپس دستگاه به شکل معکوس دما را به ۲۰+ درجه سانتی‌گراد رسانده و لاروها از آن خارج گردیدند و البته وضعیت زنده ماندن لاروها پس از اندازه گیری نقطه انجماد نیز مورد بررسی قرار گرفت. تعیین مرده و یا زنده بودن لاروها در وهله اول با کمک تغییر رنگ در لاروهای مرده مشخص می شد. به این ترتیب که لاروهای مرده رنگشان تیره می شد و بدنشان حالت آبکی پیدا می کرد. لاروهایی که از خود تغییر رنگی نشان نمی دادند زیر استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفته و در صورت مشاهده هر گونه علائم آشکار

حیاتی زنده و در غیر این صورت مرده به حساب می‌آمدند.

تعیین میزان تحمل لاروهای زمستان گذران به سرما:

تحمل لاروهای زمستان گذران به سرما در دماهای ۱۰ـ ، ۱۵ـ و ۲۰- درجه سانتی گراد مورد آزمایش قرار گرفت. برای هر دما ۱۰ عدد از لاروهای جمع آوری شده در هر ماه به طور تصادفی داخل لوله های آزمایشی به حجم ۱۵ میلی لیتر قرار داده شدند. آنگاه نمونه ها داخل دستگاه سردکننده گذاشته شدند و دمای داخل دستگاه از ۲۰+ درجه سانتی گراد تا دمای مورد نظر به تدریج با سرعت ۰/۵ درجه سانتیگراد در دقیقه سرد شد. نمونه ها ۲۴ ساعت در دمای مورد نظر نگه داشته شدند و پس از آن دمای داخل دستگاه با همان سرعت قبلی به ۲۰+ درجه سانتی گراد رسانیده شد(Goto, *et al.*, 2001). نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۴+ درجه سانتی گراد نگه داشته شده آنگاه میزان مرگ و میر آنها محاسبه گردید. (Cho, *et al.*, 2005).

تجزیه های آماری

اطلاعات به دست آمده به صورت میانگین ± خطای معیار (mean ± standard error) گزارش شدند. تجزیه داده‌ها با کمک تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و مقایسه های میانگین تیمارهای مختلف با کمک آزمون توکی در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم افزار SPSS (v. 13.0) انجام پذیرفت.

نتایج

نقطه انجماد بدن لاروها طی ماه‌های پاییز و زمستان ۱۳۸۳ اختلاف معنی دار آماری را از خود نشان داد ($F = 13.66$; $df = 4, 35$; $P<0.01$ ، شکل ۱). کمترین میانگین نقطه انجماد مربوط به لاروهای مهر ماه (۰/۳۱ ± ۱۸/۸- درجه سانتی گراد) بود اما این مقدار در آبان ماه افزایش چشمگیری داشته و به ۱/۲۵± ۱۲/۴- درجه سانتی گراد رسید و تقریبا تا دی ماه (۰/۶۳ ± ۱۱/۲- درجه سانتی گراد) ثابت ماند اما در اسفند ماه باز هم افزایش یافته و به ۰/۳۶ ± ۸/۲ – درجه سانتی‌گراد رسید. در طول تمام تاریخ‌های نمونه‌برداری پایینترین نقطه انجماد به نمونه‌ای از مهر ماه (۲۰- درجه سانتی‌گراد) و بالاترین آن به نمونه‌ای از اسفند ماه (۷/۲- درجه سانتی‌گراد) تعلق داشت. نکته قابل توجه این بود که اکثر لاروها پس از اندازه‌گیری نقطه انجماد حتی در دماهای پایین تر از آن نیز زنده مانده و پس از قرار گرفتن در دمای محیط مجدداً به فعالیت می‌پرداختند. این مساله در خصوص لاروهای جمع آوری شده در اسفند ماه کاملاً مشهود و چشمگیر بود.

شکل ۲ حداقل دمای ثبت شده در هر ماه را نشان می‌دهد. همان طور که در شکل پیداست در آبان ماه دمای محیط به زیر دمای آستانه رشد (۱۲- ۱۰درجه سانتی‌گراد) یعنی۷ درجه سانتی‌گراد رسید. در خصوص سرماسختی، پس از اندازه گیری درصد بقاء لاروهای تیمار شده در دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد (به مدت ۲۴ ساعت) به دلیل این که طی دو ماه اول اندازه‌گیری این مقدار برابر صد درصد بود، مطالعه درصد بقا لاروها تنها در دو دمای ۱۵- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد ادامه پیدا کرد. درصد بقاء لاروهای تیمار شده در۱۵- درجه سانتی‌گراد در همه ماه‌ها بالای نود درصد بود. به این ترتیب به نظر می‌رسد که دمای شاخص میزان مقاومت به سرما در لاروهای ساقه خوار برنج ۲۰- درجه سانتی‌گراد باشد. در این دما تنها ۳۰ درصد لاروهای جمع آوری شده در

مهر ماه زنده ماندند اما این نرخ در آبان به ۸۰ درصد افزایش یافت و تا اسفند ماه تقریباً ثابت ماند (شکل ۳).

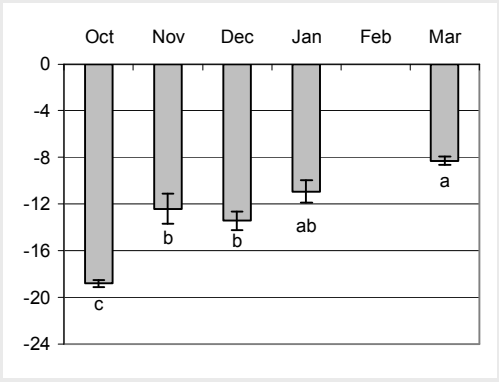
بحث

مطالعات انجام شده روی لاروهای ساقه خوار برنج نشان داده است که با توقف تغذیه و تخلیه محتویات دستگاه گوارش در اثر خارج شدن عواملی که به عنوان مولد هسته یخ شناخته می شوند، نقطه انجماد بدن در پاییز کاهش می یابد (Tsumuki & Kanno, 1991; Tsumuki, *et al*., 1992b). ذرات غذایی موجود در دستگاه گوارش جزء عوامل مولد هسته یخ خارجی محسوب می شوند که وجودشان سبب بالا آمدن نقطه انجماد می گردد (Bale, *et al*., 1989; Lee, *et al*., 1993). بنابراین با توجه به این که نقطه انجماد بدن لاروها در مهر ماه بسیار پایین بود به نظر می رسد که لاروها در این زمان تغذیه خود را متوقف کرده و محتویات دستگاه گوارش خود را تخلیه نموده اند و به این سبب نقطه انجماد بدن آنها پایین تر از نمونه های جمع آوری شده در سایر تاریخ هاست.

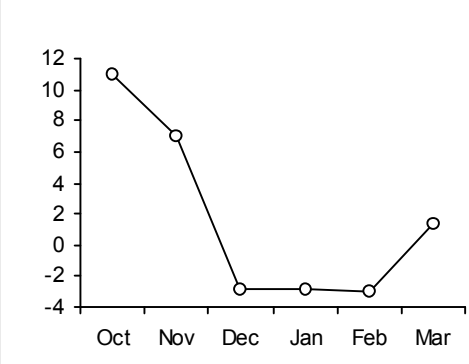
در حقیقت پس از مرحله القاء دیاپوز، مرحله آمادگی وجود دارد که در آن لاروها دچار یک سری تغییرات رفتاری و فیزیولوژیک شده و خود را جهت آغاز دیاپوز آماده می کنند. مهمترین تغییرات مشاهده شده در این زمان مهاجرت، تجمع، جستجو برای زیستگاه مناسب و افزایش ذخایر انرژی می باشد (Kostal, 2006). به نظر می‌رسد که تخلیه دستگاه گوارش هم یکی از تظاهرات این مرحله در سیکل زندگی ساقه خوار برنج باشد و پس از آن بایستی منتظر شروع دیاپوز بود. نتایج حاصل از این پژوهش این مساله را تایید می نماید. چرا که بعد از این تاریخ، در آبان ماه، نقطه انجماد بدن لاروها به شدت افزایش یافت. این افزایش نقطه انجماد همانطور که به آن اشاره شد، تنها در حشرات مقاوم به یخ زدگی دیده می‌شود و دلیل اصلی آن فعال شدن عوامل مولد هسته یخ داخلی می باشد. این عوامل از جنس پروتئین یا لیپو پروتئین بوده و وجود آنها در همولنف، ماهیچه‌ها و اپیدرم لاروهای ساقه خوار برنج به اثبات رسیده است(Tsumuki & Kanno, 1991; Tsumuki, *et al*., 1992a; Tsumuki, *et al*., 1995.) مشخص شده است که نقطه انجماد شاخصی است از میزان مقاومت به سرمای لاروها و از آنجاکه در این آفت بین مقاومت به سرما و دیاپوز رابطه تنگاتنگی وجود دارد(Tsumuki & Kanehisa, 1980; Tsumuki, 1990; Cho, *et al*., 2005)، بنابراین به نظر می‌رسد افزایش ناگهانی نقطه انجماد به دلیل شروع دیاپوز در این زمان باشد.

همانطور که اشاره شد در آبان ماه حداقل دمای محیط به زیر آستانه رشد لاروها رسید بنابراین از نقطه نظر دمایی نیز شروع دیاپوز در این ماه منطقی به نظر می رسد. پس از آبان، در آذر و دی ماه مقدار نقطه انجماد تغییر چندانی نکرد و میانگین آن در این سه ماه تقریباً برابر۱۲/۵- درجه سانتی گراد بود که به رقم به دست آمده در سایر کشور ها نزدیک است. به عنوان مثال این مقدار در ژاپن۱۴- درجه سانتی گراد (Tsumuki & Kanno, 1991) و در کره جنوبی۱۰- درجه سانتی گراد (Cho, *et al*., 2005) گزارش شده است.

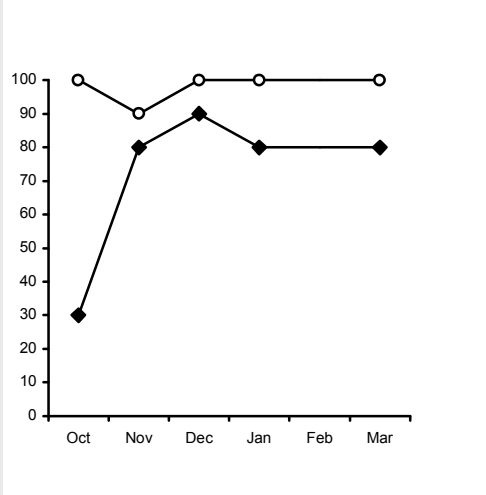
بالا آمدن قابل توجه نقطه انجماد در اسفند ماه این واقعیت را نشان می دهد که لاروهای ساقه خوار برنج پتانسیل بالایی در افزایش مقاومت به سرما دارند و حتی در صورت مواجه شدن با یخ زدگی های طولانی مدت با افزایش بیشتر نقطه انجماد از یخ زدن و تخریب سلولهای خود جلوگیری می کنند البته باید توجه داشت که این مکانیسم پس از القاء دیاپوز امکان پذیر است و قبل از بروز این پدیده چنانچه لاروها با یک شوک دمایی مواجه شوند تلفات بالایی را متحمل خواهند شد.



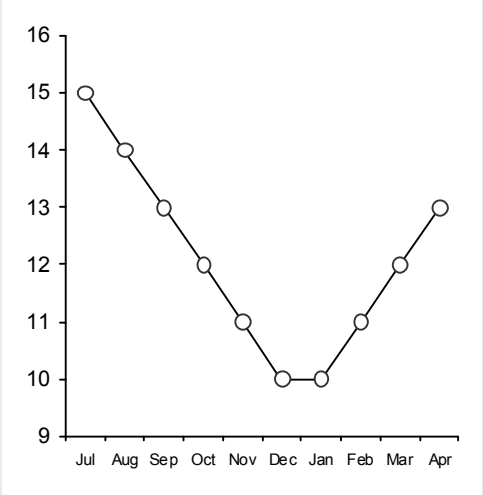
شکل ۱- نقطه انجماد بدن لاروهای ساقه خوار برنج طی ماه‌های مهر تا اسفندسال۱۳۸۳. حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد در گروه بندی Tukey می باشد. به دلیل بارش سنگین برف در بهمن ماه امکان نمونه برداری وجود نداشت



شکل۲- حداقل دمای ثبت شده طی ماه های مهر تا اسفند ۱۳۸۳ توسط ایستگاه هواشناسی هم جوار موسسه تحقیقات برنج رشت.



شکل۳- درصد بقاء لاروهای زمستان گذران کرم ساقه خوار برنج پس از ۲۴ ساعت تیمار در ۱۵- و۲۰- درجه سانتی گراد



شکل ۴- ساعات روشنایی ماه های تیر ۱۳۸۳ تا فروردین ۱۳۸۴، رشت، گیلان

همانطور که به آن اشاره شد سرماسختی لاروها در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد به طور معنی داری در آبان ماه افزایش یافت که این مساله نیز می تواند دلیل دیگری بر شروع دیاپوز لاروها در این زمان باشد.

بر اساس مطالعاتی که روی کرم ساقه خوار برنج در ژاپن و تایوان انجام گرفته این آفت جزء حشرات مقاوم به یخ زدگی است(Tsumuki, 1990; Tsumuki & Kanno, 1991; Tsumuki *et al.*, 1992b)در حالی که بررسی نحوه زمستان گذرانی این آفت در کره جنوبی آنرا حشره ای حساس به یخ زدگی معرفی کرده است (Cho *et al.*, 2005). با توجه به زنده ماندن لاروهای ساقه خوار برنج زیر نقطه انجماد خود و بالا بودن نسبی نقطه انجماد آنها به نظر می رسد این آفت در کشور ما جزء حشرات مقاوم به یخ زدگی باشد. شکل ۴ ساعات روشنایی ماه های مختلف را در طول سال نشان می دهد. مشخص شده است که دیاپوز در حشرات به واسطه یک سری محرک های محیطی در دوره ای خاص از مراحل زندگی القاء می گردد.

این دوره خاص (که در کرم ساقه خوار برنج در مرحله لاروهای کامل به وقوع می‌پیوندد) ثابت است و توسط فاکتورهای ژنتیکی مشخص می شود و امکان دارد زمان آن حتی در مراحل جنینی مشخص گردیده باشد (Kostal, 2006). مطالعات انجام شده روی کرم ساقه خوار برنج نشان داده است که چنانچه تخم های این آفت در زمان رشد خود با دماهای پایین تر از ۲۲+ درجه سانتی گراد مواجه شوند، لاروهای کامل این چنین تخم هایی تحت تاثیر محرک های خاص به دیاپوز خواهند رفت(Fukuya & Mitsuhashi, 1961). مهمترین محرک القاء دیاپوز، فتوپریود کوتاه می باشد. اگر چه، عوامل دیگری نظیر دما، میزان اکسیژن، فرومون ها و آللوکمیکال‌ها نیز می‌توانند چنین نقشی داشته باشند (Kostal, 2006). در مورد کرم ساقه خوار برنج اثبات شده است که طول روز کمتر از ۱۴ ساعت می تواند سبب القاء دیاپوز در لاروهای کامل گردد Goto, *et) al.*, 2001). بنابر این با توجه به شکل ۴ به نظر می رسد که این زمان در شمال کشور با شهریور ماه مصادف باشد. در این زمان محصول برنج برداشت شده و لاروها در ساقه های به جا مانده برنج در حال فعالیت هستند. مطالعات صورت گرفته در ژاپن نیز این زمان را به عنوان القاء دیاپوز نشان داده است. بر اساس این نتایج به نظر می رسد که دیاپوز در این آفت در شهریور القاء شده و لاروها بعد از آن در مرحله پیش دیاپوز بوده و از اواخر آبان وارد مرحله اصلی دیاپوز خود می‌شوند و از این نظر مشابه لاروهای مورد مطالعه در ژاپن هستند (Inoue & Kamano, 1957; Fukuya & Mitsuhashi, 1961; Tsumuki, 1990; Tsumuki, *et al.*, 1992b).

اگرچه در خصوص زمان شکسته شدن دیاپوز با این اطلاعات به شکل قطعی نمی توان اظهار نظر نمود. در واقع از آنجا که کرم ساقه خوار برنج بر خلاف بسیاری از آفات در هنگام آغاز و شکسته شدن دیاپوز هیچ گونه علائم ظاهری از خود نشان نمی دهد (Tsumuki, *et al.*, 1992b)، انجام مطالعات بیشتر به ویژه در زمینه تغییر و تحولات بیوشیمیایی در هنگام شروع و اتمام دیاپوز ضروری به نظر می رسد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر علی نیا ریاست محترم موسسه تحقیقات برنج کشور و آقای زمان هاشمی از کارکنان زحمتکش این موسسه به دلیل همکاری بی دریغشان تشکر می گردد.

منابع

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

Baghdadi, A., A.Rabbani, A. Abdollahi, & S. Moharramipour (2002). Purification and characterization of antifreeze protein from sunn pest *Eurygaster integricps* Put. *Applied Entomology and Phytopathology*, 69: 1-4 [In persian].

Bale, J. S. (1987). Insect cold hardiness: Freezing and supercooling- An ecophysiological perspective. *Journal of Insect Physiology,* 33: 899-908.

Bale, J. S. (2002). Insects and low temperatures: from molecular biology to distributions and abundance. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London,* 357 : 849-862.

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

Baust, J. G. & R. R. Rojas (1985). Review- Insect cold hardiness: Facts and fancy. *Journal of Insect Physiology,* 31: 755-759.

Chaudhary, R. C., G. S. Khush, & E. A. Heinrichs (1984). Varietal resistance to rice stem borers in Asia. *Insect Science and its Application,* 5 : 447-463.

Cho, J. R., J. S. Lee, J. J. Kim, M. Lee, H. S. Kim & K. S. Boo (2005). Cold-hardiness of diapausing rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology,* 8: 161-166.

Dale, D. (1994). Insect pests of rice plants-their biology and ecology. In Heinrichs, E.A (ed) *Biology and Management of Rice Insects* (363-485). IRRI. Wiley Eastern Ltd.

Denlinger, D. L. (1991). Relationship between cold hardiness and diapause. In Lee, R. E. & Denlinger, D. L. (Eds*) Insect at low temperature* (174-198). Chapman and Hall: New York and London.

Fukuya, M. & J.Mitsuhashi (1961). Larval diapause in the rice stem borer with special reference to its hormonal mechanism. *Bullten of Nation Institute of Agriculture Society,* (Ser. C) 13: 1-32.

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

Lee, R. E., J. J. McGrath, R. T. Morason, & R. M. Taddeo (1993). Survival of intracellular freezing, lipid coalescence and osmotic fragility in fat body cells of the freeze-tolerant gall fly *Eurosta solidaginis*. *Journal of Insect Physiology,* 39: 445-450.

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

Rezwany, N. & D. Schahoeseini (1977). Biologie und oekologie der reis stengel borer (*Chilo suppressalis* Walker). *Applied Entomology and Phytopathology,* 43: 1-38 [In persian].

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

Tsumuki, H. (1990). Enviromental adaptation of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* to seasonal fluctuation. In Hosi, M. & Yamashita, O. (Eds) *Advances in Invertebrate Reproduction* (273-278). Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

Tsumuki, H. & K. Kanehisa (1980). Changes in enzyme activities related to glycerol synthesis in hibernating larvae of the rice stem borer, *Chilo suppressalis*. *Applied Entomology Zoology,* 15: 285-292.

Tsumuki, H. & H. Kanno (1991). Tissue distribution of the ice-nucleating

Inoue, T & S. Kamano (1957). The effect of photoperiod and temperature in the induction of diapause in the rice stem borer *Chilo suppressalis* Walker. *Japanese Journal of Applied Entomology Zoology,* 1: 100-105.

Johnston, S. L. & R. E. Lee (1990). Regulation of supercooling and nucleation in a freeze intolerant beetle (*Tenebrio molitor*). *Cryobiology,* 27: 502-568.

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

Kostal, V. M. Slachta, & P. Simek (2001). Cryoprotective role of polyols independent of the increase in supercooling capacity in diapausing adults of Pyrrhocoris apterus (Heteroptera:Insecta*). Journal of Insect Physiology* ,130: 365-374.

Leather, S. R., K. F. A. Walters & J. S. Bale (1993). *The ecology of insect overwintering*. Cambridge University Press, Cambridge.

Lee, R. E. (1989). Insect cold-hardiness: to freeze or not to freeze? *Bioscience*,39: 308-313.

Lee, R. E. (1991). Principles of insect low temperature tolerance. In Lee, R. E. & Denlinger, D. L. (Eds) *Insects at low temperature* (17-45). Chapman and Hall: New York and London.

agents in larvae of the rice stem borer *Chilo suppressalis* Walker. *Cryobiology, 28*: 376-381.

Tsumuki, H., H. Konno, T. Maeda, & Y. Okamoto (1992a). An ice-nucleating active fungus isolated from the gut of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lep:Pyralidae). *Journal of Insect Physiology,* 38: 119-125.

Tsumuki, H., T. Take, K. Kanehisa, M. A. Rustamani, T. Saito & Y. I. Chu (1992b). Effect of low temperature on glycerol synthesis in the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker, collected in Taiwan. *Applied Entomology Zoology,* 27: 455-457.

Tsumuki, H., H. Yanai, & T. Aoki (1995). Identification of ice-nucleating active fungus isolated from the gut of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lep:Pyralidae) and a search for ice-nucleating active *Fusarium* species. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 32:114-121.