آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۷۵، شماره ۲، اسفند ۱۳۸۶

مطالعه برخی ترکیبات ضد یخ با وزن مولکولی پایین در لاروهای زمستان گذران کرم ساقه‌خوار برنج *Chilo suppressalis* Walker در شمال ایران (Lep.: Pyralidae)

Some cryoprotectants of overwintering larvae of rice stem borer *Chilo suppressalis* Walker (Lep.: Pyralidae) collected from northern parts of Iran

مریم عطاپور[۱]، سعید محرمی پور[۱]*، محسن برزگر[۲] و عباس خانی[۱]
۱- دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه حشره شناسی کشاورزی، تهران
۲- دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران
(تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۵، تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۶)

چکیده

کرم ساقه‌خوار برنج به شکل لاروهای کامل در حال دیاپوز زمستان را سپری می‌کند. مشخص شده است که میزان برخی کربوهیدرات‌ها در حشرات زمستان گذران تغییرات قابل ملاحظه‌ای از خود نشان می‌دهد. به منظور تعیین این ترکیبات و نحوه تغییرات آن‌ها در طول دوره دیاپوز، لاروهای زمستان گذران طی ماه‌های مهر تا اسفند ۱۳۸۳ از محل‌های زمستان گذرانی خود در مزارع برنج جمع آوری شدند. جهت شناسایی و اندازه‌گیری قندهای مهم و همچنین اندازه‌گیری غلظت گلیکوژن به‌ترتیب از کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) و طیف سنج UV–Vis استفاده شد. مهم‌ترین ترکیب ضد یخ شناسایی شده گلیسرول و مهم‌ترین قند تری‌هالوز بود. در طول بررسی غلظت هر دو ترکیب در ماه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری از خود نشان دادند. کمترین و بیشترین میزان گلیسرول بترتیب در ماه‌های مهر و

* Corresponding author: moharami@modares.ac.ir

دی (به ترتیب ۱/۲۱±۰/۱۸ و ۱۵/۵۳±۳/۷۰ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر لارو) اندازه‌گیری شد. بر خلاف گلیسرول، تری‌هالوز بیشترین غلظت را در آبان ماه (۷/۰۰±۰/٦١mg/g) و کمترین غلظت را در دی ماه (۲/۷۹±۰/۵۷ mg/g) دارا بود و غلظت آن تقریباً از آذر ماه تا پایان زمستان ثابت ماند. با وجود رابطه منفی، ارتباط معنی‌داری بین گلیسرول و تری‌هالوز به دست نیامد. تغییرات غلظت گلیکوژن درست عکس گلیسرول بود و رابطه منفی و معنی‌داری (r = -0.964; P<0.01) بین این دو وجود داشت که این مساله نمایانگر تبدیل شدن گلیکوژن به گلیسرول در این دو فاصله زمانی می‌باشد.

بر اساس این نتایج می‌توان عنوان کرد که مهم‌ترین ترکیب ضد یخ با وزن مولکولی پایین تأثیرگذار در مقاومت به سرما در کرم ساقه‌خوار برنج در ایران گلیسرول می‌باشد و بر اساس تغییرات آن می‌توان نتیجه گرفت که دیاپوز در لاروهای این آفت در این سال باید در اواخر آبان شروع و در فاصله بین بهمن و اسفند ماه شکسته شده باشد.

واژه‌های کلیدی: کرم ساقه‌خوار برنج، دیاپوز، زمستان گذرانی،ترکیبات ضد یخ، گلیسرول.

مقدمه

کرم ساقه‌خوار برنج (*Chilo suppressalis* Walker) یکی از آفات مهم و کلیدی این محصول در شمال ایران به حساب می‌آید. این آفت دارای ۳-۲ نسل در سال می‌باشد. آفت زمستان را به شکل لاروهای در حال دیاپوز سن آخر داخل ساقه‌ها و بقایای برنج و علف‌های هرز حاشیه مزارع سپری می‌کند (Rezwany & Schahosseini, 1977; Moussavi, 1986).

دیاپوز نوعی وقفه رشدی (dormancy) است که نسبت به سایر وقفه‌ها نظیر رکود (quiescence) از نظر سیستم عصبی مرکزی و هورمونی عمیق‌تر بوده و با یک سری تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در داخل بدن موجود همراه است. طی دوره دیاپوز تغییرات مهمی در میزان هورمون‌ها و سایر ترکیبات بیوشیمیایی بدن رخ می‌دهد و عموماً غلظت قندهای الکلی با وزن مولکولی کم (cryoprotectants) به تدریج افزایش می‌یابد (Kostal, 2006). افزایش چنین ترکیبات ضد یخی در طیف وسیعی از موجودات زمستان گذران نظیر گیاهان، کرم‌ها، کنه‌ها و عنکبوت‌ها، بسیاری از پادمان، دیگر حشرات و حتی خزندگان دیده شده است

(Kostal *et al*., 2001).

افزایش تدریجی گلیسرول و سوربیتول در حشرات برای نخستین بار در تخم‌های در حال دیاپوز کرم ابریشم *Bombyx mori* L. (Lep.: Bombycidae) و بعد از آن در شفیره‌های در حال دیاپوز *Hyalophora cercopia* L. (Lep. Saturnidae) دیده شد (Chino, 1958). پس از آن مشخص شد که در مرحله دیاپوز لاروهای مگس *Eurosta solidaginis* Fitch (Dip.Tephritidae) میزان گلیسرول، سوربیتول و تری‌هالوز (Morrisey & Baust, 1976) و در لاروهای سوسک *Scolytus ratzeburgi* Jans (Col.: Scolytidae) میزان گلیسرول، سوربیتول، گلوکز و تری‌هالوز (Ring, 1977) افزایش می‌یابد. همچنین در لاروهای *Ostrinia furnacalis* Guenee (Lep. Pyralidae) گلیسرول (Goto *et al*., 2001b)، در حشرات کامل سن *Pyrrhocoris apterus* L. (Het. Pyrrhocoridae) ریبیتول، سوربیتول، مانیتول و آرابینیتول (Kostal *et al*., 2001) و در پادم *Cryptopygus antarcticus* Willem (Collembola: Isotomidae) گلیسرول، مانیتول و تری‌هالوز (Somme & Block, 1982) در دوره دیاپوز شناسایی شد. تری‌هالوز به عنوان مهم‌ترین ترکیب در لاروهای شب پره *Adoxophyes orana* Fscher van Rösslerstamm (Lep. Tortricidae) (Jo & Kim, 2001)، حشرات کامل سرخرطومی *Lissorhoptrus oryzophylus* L. (Col.: Curculionidae) (Lee *et al*., 2002)، لاروهای شب‌پره *Plodia interpunctella* Hübner (Naeemullah *et al*., 1999) و در شفیره‌های *Hyphantria cunea* Drury (Lep. Arctiidae) (Li *et al*., 2001) مورد شناسایی قرار گرفت. بطور کلی به نظر می‌رسد در حشرات در حال دیاپوز گلیسرول، سوربیتول و قند تری‌هالوز از مهم‌ترین ترکیبات ضد یخ باشند. البته در کنار ترکیبات ضد یخ با وزن مولکولی پایین، پروتئین‌های ضد یخ و عوامل مولد هسته یخ نیز نقش مهمی را در تحمل حشرات به سرما ایفا می‌نمایند (Bale, 2002).

در حشرات مقاوم به یخ زدگی، که در صورت یخ زدن آب خارج سلولی قادرند زنده بمانند، ترکیبات ضد یخ با وزن مولکولی کم شوک اسمزی وارد شده به سلول را در هنگام یخ زدن با یخ زدگی مقادیر محدودی از آب خارج سلولی کاهش می‌دهند و بدین ترتیب سلول را از آبگیری شدید حین یخ زدن مایعات خارج سلولی محافظت می‌کنند. همچنین این مواد از یخ زدن محتوای داخل سلول جلوگیری کرده و از ساختمان غشاء سلولی در هنگام تشکیل

کریستال‌های یخ محافظت می‌نمایند (Storey & Storey, 1988). در حشرات حساس به یخ زدگی، که زمستان را به صورت فوق سرد (supercooling) سپری می‌کنند، این ترکیبات ممکن است در غلظت‌های بسیار بالایی تولید شده و نقطه انجماد بدن (supercooling point) را به شدت کاهش دهند (Ring, 1981; Miller, 1982). البته برخی حشرات قادرند از هر دو استراتژی جهت مقاومت به سرما بهره ببرند (Jonstone & Lee, 1990; Baghdadi *et al*., 2001, 2002).

در مطالعات مقاومت به سرما در کرم ساقه‌خوار برنج نشان داده‌اند که طی مرحله دیاپوز مهم‌ترین ترکیبات ضد یخ تولید شده گلیسرول و تری‌هالوز می‌باشند و بین افزایش و کاهش این مواد و پدیده دیاپوز ارتباط تنگاتنگی برقرار است (Tsumuki & Kanehisa, 1979, 1980 a, b, c, 1981; Goto *et al*., 2001a; Cho *et al*., 2005). در ایران تا کنون هیچ تحقیقی در ارتباط با ترکیبات ضد یخ و روند تغییرات آن‌ها روی کرم ساقه‌خوار برنج صورت نگرفته است. از آنجا که کرم ساقه‌خوار برنج تقریباً نیمی از سال را به شکل دیاپوزی و غیر فعال در داخل ساقه‌های برنج به سر می‌برد و در نیمه دیگر سال نیز در داخل ساقه‌ها تغذیه و فعالیت کرده که در هر دو حالت دسترسی به آن جهت مبارزه شیمیایی و سایر روش‌های کنترلی دشوار می‌باشد، لذا مطالعه چگونگی دیاپوز و مقاومت به سرما در آن ضروری به نظر می‌رسد. این تحقیق به منظور شناخت ترکیبات ضد یخ مهمی که با مقاومت به سرما در حشره مربوط هستند و تعیین ارتباط آن‌ها با زمان دیاپوز حشره انجام شده است.

روش بررسی

جمع‌آوری نمونه: جمع‌آوری نمونه طی ماه‌های مهر تا اسفند ۱۳۸۳ از شالیزارهای موسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) به شکل تصادفی انجام و نمونه‌ها بلافاصله به تهران منتقل گردید. لاروها پس از توزین هر کدام در یک میکروتیوب استریل در پیچ دار با وزن مشخص قرار داده شدند و به داخل کپسول ازت مایع منتقل گردیدند. پس از ۱۵ دقیقه نمونه‌ها به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل و تا زمان انجام آزمایشات در آنجا نگه‌داری شدند. لازم به ذکر است که نمونه برداری در ماه بهمن به علت شرایط اقلیمی نامساعد (بارش بسیار سنگین برف) صورت نگرفت. دمای محیط با استفاده از داده‌های هواشناسی ایستگاه مستقر در

مجاورت مؤسسه تحقیقات برنج به دست آمد.

اندازه‌گیری قندهای الکلی و تری‌هالوز: برای استخراج و اندازه‌گیری قندهای الکلی و تری‌هالوز هر نمونه متشکل از یک لارو در ۲ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد (۸۰ درصد اتانول مرک و ۲۰ درصد آب HPLC) در هاون چینی همگن گردیدند و پس از ۱۵ دقیقه سانتریفوژ با سرعت ۱۲۰۰۰g محلول رویی جدا شده و داخل میکروتیوب‌های استفاده نشده ریخته شد. از رسوب باقیمانده جهت اندازه‌گیری گلیکوژن استفاده گردید. میکروتیوب‌های حاوی محلول رویی در آون تحت خلاء (Mmert, model VS-1202V5, Germany)، تحت دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند تا حلال موجود در آن‌ها تبخیر گردد. پس از تبخیر کامل حلال، ۲۵۰ میکرولیتر آب و استونیتریل (با نسبت مساوی ۱:۱) به هر نمونه افزوده گردید و پس از صاف کردن به وسیله فیلتر سر سرنگی(Syringe filter unit, Millex, USA) ، نمونه ها جهت تزریق به دستگاه HPLC (Waters, Milford, MA, USA) آماده شدند (Pullin & Bale, 1989). عملیات استخراج و آماده سازی در هر ماه در٤ تکرار (هر لارو به عنوان یک تکرار) انجام گرفت و هر نمونه به طور جداگانه به دستگاه تزریق گردید. فاز متحرک مورد استفاده، مخلوط آب (۳۰ درصد) و استونیتریل (۷۰ درصد) و فاز ثابت سیانوپروپیل ۷۰٪ با پلی سیلفنیلن–سیلوکسان بود. برای جداسازی از ستون مخصوص کربوهیدرات‌ها (Waters, Ireland) با ابعاد ٤/٦ ×۲۵۰ میلی‌متر و قطر ذرات ۵ میکرومتر استفاده شد. سرعت جریان فاز متحرک یک میلی‌لیتر در دقیقه و آشکار ساز مورد استفاده از نوع ضریب شکست (RI) بود. لازم به ذکر است که جداسازی‌ها در دمای محیط انجام گرفته و پس از تنظیم دستگاه و پایدار شدن آن، ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه با سرنگ‌هامیلتون به دستگاه تزریق و کروماتوگرام ثبت شد.

جهت اندازه‌گیری یا تجزیه کمی قندهای الکلی جداسازی شده، از روش رسم منحنی درجه بندی استفاده شد. برای این منظور غلظت‌های متفاوتی (۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ٤۰۰۰، ۵۰۰۰، ٦۰۰۰ و ppm ۱۰۰۰۰) از استانداردهای گلیسرول و تری‌هالوز تهیه و به دستگاه تزریق گردید. سپس منحنی درجه بندی (سطح زیر پیک در برابر غلظت) برای هر جزء رسم شد. با توجه به زمان بازداری، نوع قند موجود در نمونه و با توجه به سطح زیر پیک و منحنی درجه بندی، غلظت قند در نمونه اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری گلیکوژن: از مواد ته نشین شده حاصل از سانتریفوژ در اندازه‌گیری قندها، جهت اندازه‌گیری گلیکوژن استفاده شد. به این ترتیب که به هر نمونه ۱ میلی‌لیتر محلول پتاس (KOH) سه درصد اضافه گردید. پس از ٢٤ ساعت که محلول کاملاً یکنواخت شد، ۰/۸ میلی‌لیتر محلول رسوب گذاری (دو قسمت NaCl دو درصد و ۷ قسمت اتانول ۹۵ درصد) جهت رسوب گلیکوژن به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها به یخچال منتقل گردیدند. پس از حداقل ۳ ساعت محلول رویی (پتاس) دور ریخته شد و پس از دو بار آبشویی نمونه‌ها با اتانول ۷۰ درصد و آب دو بار تقطیر، به هر کدام ۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر الکلی (شامل ۲۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۳۰ میلی‌لیتر کلرید سدیم ۲ درصد، ۳۰ میلی‌لیتر سدیم دودسیل سولفات(SDS) ۱ درصد و ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر) اضافه و میزان گلیکوژن موجود در نمونه‌ها با کمک دستگاه طیف سنج UV-Vis (اسپکتروفتومتر)(Sinco, model S-2100, Seoul, South Korea) در طول موج ٦٦٠ نانومتر اندازه‌گیری شد (Pullin & Bale, 1989). تعداد تزریق‌ها در هر ماه ۵ تزریق بود (هر نمونه لارو به عنوان یک تکرار). سپس با استفاده از منحنی درجه بندی (جذب در برابر غلظت) مقدار گلیکوژن موجود در نمونه‌ها تعیین شد. بدین ترتیب که غلظت‌های مختلفی از گلیکوژن (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱/۰، ۱/۵ و ۲mg) تهیه و میزان جذب آن‌ها در دستگاه قرائت شد و بر اساس آن‌ها منحنی درجه بندی رسم گردید و با کمک معادله خط آن غلظت نمونه‌ها محاسبه شد.

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

نتیجه و بحث

داده‌های هواشناسی استان گیلان طی ۲۰ سال گذشته و همچنین طی سال ۱۳۸۳ دی و بهمن را سردترین ماه‌های سال نشان داده‌اند. میانگین دما در این دو ماه بین صفر تا ۵ درجه

سانتی‌گراد بوده است (شکل ۱). در مورد قندها، گلیسرول مهمترین ترکیبی بود که در همه ماه‌ها بلافاصله پس از پیک حلال ظاهر گردید (شکل۲) و غلظت آن طی ماه‌های مختلف اختلاف معنی داری از خود نشان داد (F = 8.744; df = 4, 15; P< 0.01). کمترین میزان گلیسرول در مهر ماه (۰/۱۸ ±۱/۲۱ mg/g) و بیشترین مقدار آن در دی (۳/۷۰ ±۱۵/۵۳mg/g) اندازه‌گیری شد. غلظت گلیسرول در ماه‌های نخست نمونه برداری (مهر و آبان) و نیز اسفند ماه پایین بود (حداکثر ۱/۳۱ ±٦/٦۳mg/g) و با هم اختلاف معنی داری نداشتند اما در آذر و خصوصاً دی ماه این رقم به طور چشمگیری افزایش یافت به طوری که نمونه‌های دی ماه اختلاف معنی داری را با همه ماه‌ها از خود نشان دادند (شکل ۳). غلظت تری‌هالوز طی ماه‌های مختلف اختلاف معنی داری داشت (F = 7.342; df = 4, 15; P<0.01). کمترین مقدار تری‌هالوز در دی ماه (۰/۵۷ ±۲/۷۹ mg/g) و بیشترین مقدار آن در آبان (٦۱ mg/g ±۰/ ۷/۰) به دست آمد. در واقع تنها در دو ماه اول نمونه‌برداری غلظت تری‌هالوز بالا بود و با ماه‌های بعد اختلاف معنی‌داری داشت، اما از آذر ماه به بعد میزان آن تقریباً ثابت ماند (به طور میانگین ۳/٤٥mg/g) و اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نگردید (شکل ٤). ارتباط معنی داری بین میزان تری‌هالوز و گلیسرول به دست نیامد. غلظت گلیکوژن نیز طی ماه‌های مختلف اختلاف معنی داری با هم داشت (F =7.52; df = 4, 15; P<0.05) و بیشترین و کمترین مقدار آن به ترتیب در مهر ماه (۳۳/۲±۷/٦ mg/g) و آذر ماه (٤/۳±۱/۳ mg/g) مشاهده شد. روند تغییرات گلیکوژن رابطه همبستگی لگاریتمی منفی و معنی‌داری (r = -0.9636; P<0.01) را با گلیسرول نشان داد (شکل ۳).

در حشرات زمستان‌گذران افزایش غلظت برخی پلی هیدروکسی الکل‌ها و قندها طی دوره دیاپوز گزارش شده است (Kostal, 2006). مطالعات انجام شده روی کرم ساقه‌خوار برنج ارتباط نزدیکی بین تغییرات غلظت گلیسرول با پدیده دیاپوز را نشان داده‌اند به طوری که مشخص شده است در اوایل این دوره غلظت گلیسرول زیاد و در اواخر دیاپوز غلظت آن کم می‌گردد (Tsumuki & Kanehisa, 1979, 1980 a, b, c). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در کرم ساقه‌خوار برنج در ایران مهم‌ترین ترکیب گلیسرول بوده که غلظت آن طی سردترین ماه سال (دی ماه) به بیشترین سطح خود می‌رسد و این مساله نقش این ترکیب را در مقاومت به سرما

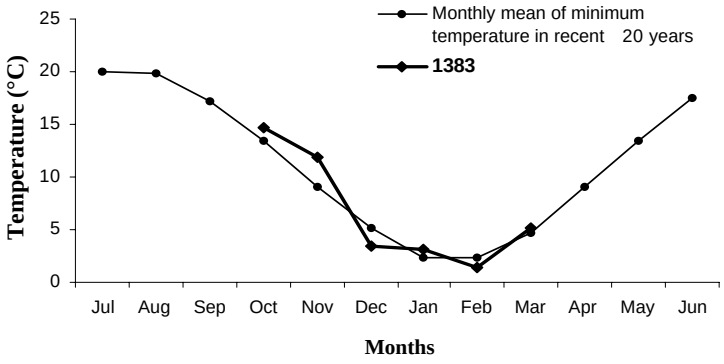
در این آفت نشان می‌دهد. همچنین بر اساس این نتایج به نظر می‌رسد دماهای نزدیک صفر درجه سانتی‌گراد عامل تأثیر گذاری در افزایش قابل توجه گلیسرول طی دیاپوز حشره باشند. نتایج مشابهی در این خصوص در ژاپن به دست آمده است. به این ترتیب که در این کشور نیز سردترین ماه‌های سال دی (January) و بهمن (February) بوده و میزان غلظت گلیسرول در این ماه‌ها حداکثر است (Goto *et al*., 2001a). بنابراین به شکل غیر مستقیم از روی تغییرات غلظت گلیسرول تا حدودی می‌توان زمان شروع و اتمام دیاپوز و اوج مقاومت حشره به سرما را پیش‌بینی نمود. از این رو به نظر می‌رسد زمان شروع دیاپوز در ایران، اواخر آبان و اتمام آن اواخر بهمن باشد. این نتایج با مطالعات انجام شده روی اکوتیپ Saigoku کرم ساقه‌خوار برنج در ژاپن کاملاً مطابقت دارند. این اکوتیپ که بیشتر در نواحی جنوب و جنوب غربی ژاپن انتشار دارد هم در این زمان‌ها دیاپوز خود را شروع می‌کند و به پایان می‌برد و پس از آن در اسفند ماه تا بهبود شرایط محیطی در بهار وارد مرحله پس دیاپوز می‌گردد (Tsumuki & Kanehisa, 1978; Goto *et al*., 2001a).

از آنجا که غلظت تری‌هالوز از آذر ماه به بعد تغییر چندانی از خود نشان نداد و تقریباً ثابت بود به نظر می‌رسد اهمیت و نقش این ترکیب در مقاومت این آفت به سرما کمتر از گلیسرول باشد. با مطالعه‌ای که در این زمینه در ژاپن صورت گرفته نیز مشخص شده که میزان تری‌هالوز از شهریور ماه تا پایان زمستان تقریباً ثابت بوده و تغییرات قابل ملاحظه‌ای را متحمل نمی‌گردد (Goto *et al*., 2001a).

رابطه همبستگی منفی موجود بین گلیسرول و گلیکوژن روند تبدیل این دو به یکدیگر را طی فرآیند دیاپوز نشان می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند که در شروع دیاپوز گلیسرول همولنف تدریجاً افزایش یافته و گلیکوژن موجود در اجسام چربی تدریجاً کاهش می‌یابد و در مرحله اتمام دیاپوز دقیقاً عکس آن رخ می‌دهد (Tsumuki & Kanehisa, 1979). این فرایند تحت تأثیر هورمون‌های جوانی و اکدایسون می‌باشد. به این‌ترتیب که هورمون جوانی (JH) و آنالوگ‌های مشابه آن (JH–I) سبب تبدیل گلیکوژن به گلیسرول و افزایش آن در همولنف می‌گردد در حالی که غلظت گلیسرول تحت تأثیر اکدایسون کاهش می‌یابد (Tsumuki & Kanehisa, 1981). همچنین مشخص گردیده که تأثیر این هورمون‌ها از طریق افزایش و یا کاهش فعالیت برخی

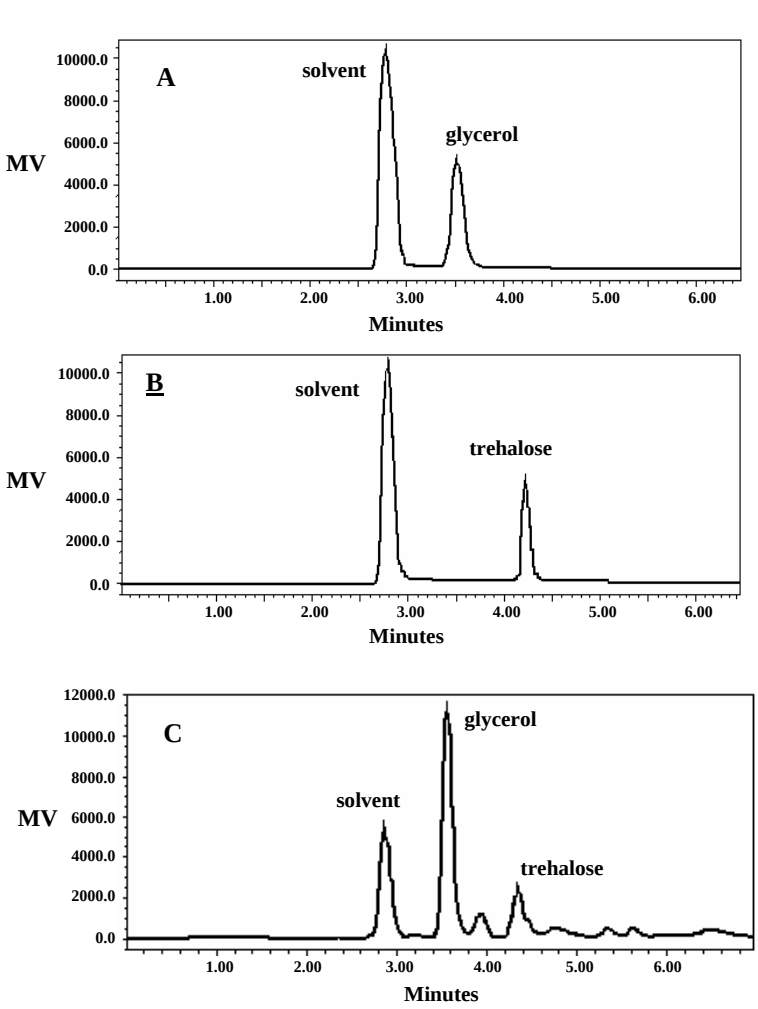
آنزیم‌هاست. به نظر می‌رسد افزایش گلیسرول تحت تأثیر آنزیم‌های گلیکوژن فسفوریلاز، گلیسرآلدهید-۳- فسفاتاز و پلی هیدروکسی الکل دهیدروژناز و غیر فعال شدن آنزیم فروکتوز-۱,٦- بی فسفاتاز صورت گیرد (Li *et al*., 2002).

به طور خلاصه به نظر می‌رسد در لاروهای کرم ساقه‌خوار برنج در ایران مهم‌ترین ترکیب ضد یخ تولید شده طی دوره دیاپوز گلیسرول باشد که تغییرات آن ارتباط نزدیکی با پدیده دیاپوز دارد. همچنین به نظر می‌رسد با کمک میانگین دمای محیط در طول فصل پاییز و زمستان بتوان زمانی را که لاروها بیشترین مقاومت به سرما را دارند پیش‌بینی نمود. به این ترتیب که، زمانی که میانگین دمای محیط به نزدیک صفر درجه سانتی‌گراد برسد می‌توان بیشترین غلظت گلیسرول و بالاترین میزان تحمل به سرما را در لاروها انتظار داشت و در نهایت به نظر می‌رسد مهم‌ترین منبع تأمین گلیسرول طی این دوره ذخایر گلیکوژن اجسام چربی باشند که ضمن حفظ تری‌هالوز در سطحی مشخص سبب افزایش گلیسرول در زمان دیاپوز حشره می‌گردند. مسلم است که دیاپوز کرم ساقه‌خوار برنج دارای پیچیدگی‌های بسیاری است، لذا تداوم این مطالعات جهت روشن شدن قطعی زمان بروز و اتمام آن برای درک رخدادهای این دوره لازم به نظر می‌رسد.



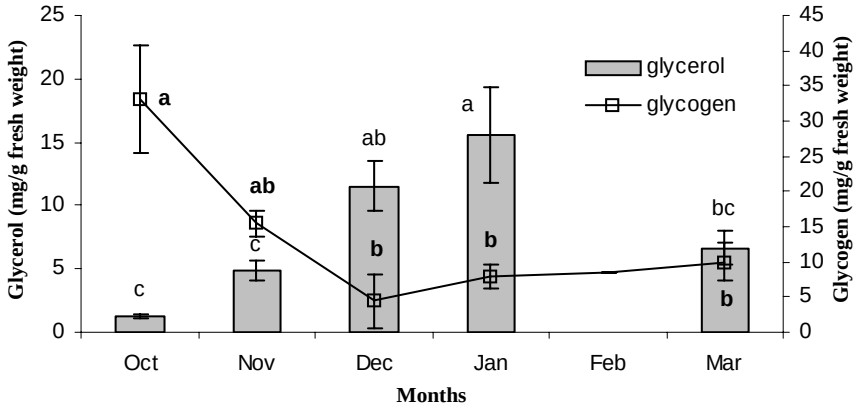
شکل ۱- میانگین حداقل دمای ماهیانه ۲۰ سال اخیر در رشت و
میانگین حداقل دما طی ماه‌های مهر تا اسفند۱۳۸۳

Fig. 1- Monthly mean of minimum temperature in Rasht in recent 20 years and mean of minimum temperature between October 2003 and March 2004



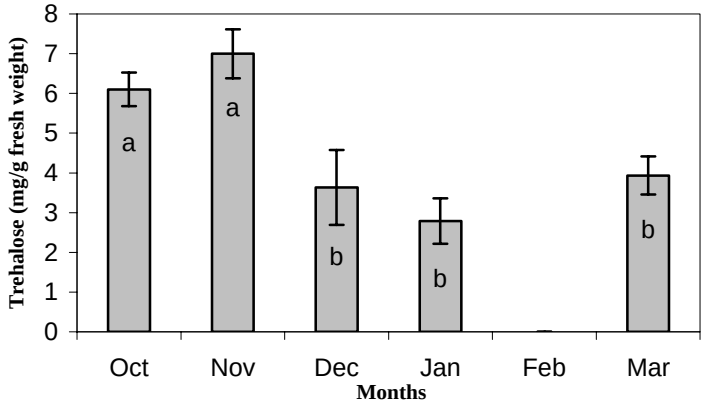
شکل ۲- کروماتوگرام‌های HPLC مربوط به استانداردهای گلیسرول (A) و تری‌هالوز (B) (۱۰۰۰ppm) و کروماتوگرام مربوط به جداسازی ترکیبات ضد یخ موجود در نمونه ای از لاروهای ساقه‌خوار برنج جمع آوری شده از محل‌های زمستان گذرانی آفت در رشت(C). فاز ثابت: سیانوپروپیل ۷۰٪ با پلی سیلفنیلن-سیلوکسان، فاز متحرک: آب (۳۰٪) و استونیتریل (۷۰٪)

Fig. 2- HPLC chromatograms of glycerol (A) and trehalose standards (B) (1000ppm) and chromatogram of cryoprotectants sepration in a sapmle of larvae of *Chilo suppressalis* from overwintering regions in Rasht (C). Stationary phase: 70% Cyanopropyl with Polysilphenylene-Siloxane, Moving phase: Water (30%) and Acetonitrile (70%).



شکل ۳- تغییرات غلظت گلیسرول و گلیکوژن و ارتباط بین آنها در لاروهای زمستان گذران کرم ساقه‌خوار برنج جمع آوری شده از مزارع گیلان در سال۱۳۸۳. حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد در تست Tukey می‌باشد. به دلیل بارش سنگین برف در بهمن ماه امکان نمونه برداری وجود نداشت.

Fig. 3- Glycerol and glycogen content changes and correlation between them in overwintering larvae of *Chilo suppressalis* from Guilan in 2003-2004. Values labeled with the same letters are not significantly different at the 5% level by Tukey's test after ANOVA. Because of severe snowfall no sampling was done on February.



شکل ٤- تغییرات میانگین غلظت تری‌هالوز در لاروهای زمستان گذران کرم ساقه‌خوار برنج در سال ۱۳۸۳. حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد در تست توکی می‌باشد.

Fig. 4- Changes of trehalose mean content in overwintering larvae of *Chilo suppressalis* from Guilan in 2003-2004. Values labeled with the same letters are not significantly different at the 5% level by Tukey's test after ANOVA.

سپاسگزاری

بدین وسیله از ریاست محترم و سایر اعضاء بخش گیاهپزشکی مؤسسه تحقیقات برنج کشور خصوصاً آقای زمان هاشمی که در جمع‌آوری نمونه‌ها کمک فراوانی نمودند تشکر می‌شود.

نشانی نگارندگان: مهندس مریم عطاپور، دکتر سعید محرمی‌پور و دکتر عباس خانی، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه حشره شناسی کشاورزی، صندوق پستی ۳۳٦-۱٤۱۱٥، تهران، ایران؛ دکتر محسن برزگر، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، صندوق پستی ۳۳٦-۱٤۱۱٥، تهران، ایران.