

مقایسه رفتار فراخوانی و برخی از ویژگی‌های زیستی، در سه جمعیت جغرافیایی متفاوت کرم گلوگاه انار، در شرایط آزمایشگاهی

مهدی ضیاءالدینی^{۱*}، سیدحسین گلدان‌ساز^۲، احمد عاشوری^۳ و علی‌رضا قاسم‌پور^۴
۱، ۲، ۳، دانشجوی سابق دکتری، استادیار و دانشیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۴، دانشیار پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهران
(تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۱ - تاریخ تصویب: ۸۸/۱۲/۵)

چکیده

رفتار تولیدمثلی در بیشتر شب‌پره‌ها در یک دوره زمانی خاص از شبانه‌روز انجام می‌شود و در برخی از گونه‌ها این رفتارها نظیر رفتار فراخوانی، اختصاصی هستند. داشتن اطلاعات در زمینه رفتارهای تولیدمثلی پیش‌نیاز مطالعات اکولوژی شیمیایی می‌باشد. در این تحقیق، برخی از خصوصیات زیستی و رفتار فراخوانی حشرات کامل کرم گلوگاه انار *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller), (Lep.: Pyralidae) برای سه جمعیت ساوه، کرمان و ارسنجان، در شرایط آزمایشگاهی (شرایط دمایی 29 ± 1 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 70 ± 10 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی)، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که، میانگین طول دوره رشد و نمو جنینی در سه جمعیت، به ترتیب، $3/7$ ، $3/19$ و $3/6$ روز و طول دوره رشد و نمو از تخم تا خروج حشرات کامل از مرحله‌ی شفیرگی، برای جنس ماده جمعیت‌های ساوه، کرمان و ارسنجان، به ترتیب، 39 ، $40/4$ و $41/3$ روز و برای جنس نر، $37/4$ ، $38/5$ و $40/2$ روز بود. روند خروج حشرات کامل از شفیره، از آخرین ساعت مرحله روشنایی آغاز می‌شد و در اولین ساعت تاریکی، به اوج خود می‌رسید. نتایج رفتار فراخوانی حشرات ماده باکره در هر سه جمعیت، نشان داد که این حشرات از اولین شب ظهور، شروع به فراخوانی می‌کنند. درصد فراخوانی حشرات ماده صرف‌نظر از نوع جمعیت، در روزهای سوم و چهارم به اوج خود رسید و حداکثر فراخوانی، در آخرین ساعت تاریکی مشاهده شد. مدت زمان فراخوانی، در بین سه جمعیت، تفاوت معنی‌داری نداشت، اما زمان شروع، اتمام و تعداد دوره‌های فراخوانی (بوت) در جمعیت ارسنجان نسبت به دو جمعیت کرمان و ساوه، تفاوت معنی‌داری داشت. به‌طور کلی، در کرم گلوگاه انار، مدت زمان رشد و نمو برای دو جنس نر و ماده متفاوت، بلوغ جنسی کوتاه، و وجود تفاوت در صفات مرتبط با رفتار فراخوانی و ویژگی‌های زیستی، در جمعیت‌های جغرافیایی آن، با وجود یکسان بودن شرایط محیطی پرورش، و انجام آزمایش‌ها در شرایط مشابه، دارای پایه و اساس ژنتیکی و بر اثر انتخاب طبیعی بوده و از نسلی به نسل دیگر نیز منتقل می‌شوند. این تفاوت‌ها، بیانگر محدودیت جریان ژنی، بین این جمعیت‌های کرم گلوگاه انار می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: جمعیت جغرافیایی، ترشح فرومون، شب‌پره‌خروبو، انار، زیست‌شناسی، پیرالیده.

مقدمه

رفتار جفت‌گیری در شب‌پره‌ها، شامل مجموعه‌ای از الگوهای رفتاری است که در جنس ماده، شامل تولید فرومون جنسی و ترشح آن در طی بروز رفتار فراخوانی می‌باشد که در نهایت، منجر به جلب جنس نر و پذیرش احتمالی آن می‌شوند (McNeil, 1991; Howse *et al.*, 1998). با توجه به عدم سمیت و امن بودن ترکیبات فرومونی برای محیط زیست و اختصاصی عمل کردن آنها، امروزه استفاده از فرومون‌های جنسی، در مدیریت تلفیقی آفات، امری متداول می‌باشد (Howse *et al.*, 1998). روش اختلال در جفت‌گیری، از بین روش‌های مورد استفاده با این ترکیبات، به‌ویژه در کنترل شب‌پره‌های آفت، از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد (Howse *et al.*, 1998). جهت استفاده‌ی مؤثرتر از ترکیبات فرومونی، مطالعه‌ی زیست‌شناسی حشره مرتبط با رفتارهای تولیدمثلی از قبیل رفتار تولید و ترشح فرومون توسط ماده‌ها و رفتار جستجوگری نرها، ضروری و مورد نیاز هستند (Delisle & Royer, 1994). برخی از این رفتارها، نظیر زمان شروع رفتار فراخوانی^۱ و طول مدت ترشح فرومون، کاملاً اختصاصی هستند و در برخی از حشرات، محدود به یک دوره زمانی خاص، از شبانه‌روز می‌باشند (Calatayud *et al.*, 2007). شرایط جغرافیایی و میزبان‌های متفاوت، از جمله عوامل مؤثر بر سیستم ارتباط فرومونی یک گونه هستند و صرف‌نظر از اختلاف شیمیایی، سازگاری با شرایط محیطی مختلف نیز ممکن است باعث تغییر رفتاری میان جمعیت‌ها شود (Noldus & Potting, 1990). Arn *et al.* (1983) برای اولین بار اثر تنوع جغرافیایی در عکس‌العمل حشرات نر به ترکیبات فرومونی حشرات ماده را با بررسی چندین جمعیت از شب‌پره *Agrotis segetum* گزارش کردند که این موضوع، توجه بسیاری از محققان را در بیست سال اخیر به خود جلب نمود (Casimero *et al.*, 1999; Kawazu & Tatsuki, 2002; Mazor & Dunkelblum, 2005; Zhao *et al.*, 2007). *Ectomyeloid ceratoniae* (Zeller), (Lep.: Pyralidae) از جمله آفات مهم و چند میزبانه روی برخی محصولات

باغی و انباری در خاورمیانه و نواحی مدیترانه‌ای می‌باشد و همه ساله خسارت قابل توجهی به‌بار می‌آورد. از آنجایی‌که این حشره، به‌عنوان یک آفت کلیدی در باغ‌های میوه انار در ایران (Fakharzadeh, 2002; Yousefi *et al.*, 2004; Mozaffarian *et al.*, 2007) باغ‌های خرما در کشورهای نظیر آمریکا و تونس (Cox, 1976a; Al-rubeai, 1987; Baker *et al.*, 1991; Vetter *et al.*, 1997) محسوب می‌شود، استفاده از فرومون جنسی آن در قالب مدیریت تلفیقی آفت مورد توجه محققین و مسئولین در دنیا و ایران قرار گرفته است. علیرغم اهمیت آفت، تاکنون هیچ‌گونه تحقیقی در زمینه روند خروج حشرات کامل و اثر جمعیت‌های مختلف در رفتار فراخوانی، انجام نشده است و تنها مطالعات صورت گرفته در زمینه رفتار فراخوانی، مربوط به تحقیقات Vetter *et al.* (1997) و Soofbaf *et al.* (2007) است که اثر سیکل روشنایی، سن و درجه حرارت را، مورد بررسی قرار داده‌اند. Mozaffarian *et al.* (2007)، نیز تنوع جمعیت‌های جغرافیایی و میزبانی پروانه کرم گلوگاه انار را با استفاده از روش‌های ژنومتریکی مرفومتريک و مولکولی مورد بررسی قرار داده‌اند. از آنجایی‌که شناخت رفتارهای تولیدمثلی کرم گلوگاه انار، مسائل کاربردی را آگاهانه‌تر و مؤثرتر خواهد کرد، لذا تحقیق حاضر می‌کوشد تا پاسخ پرسش‌های زیر را جستجو کند:

- آیا تفاوت‌های جغرافیایی بر برخی ویژگی‌های زیستی، نظیر طول دوره رشد و نمو جنینی، کل دوره رشد و نمو و نسبت جنسی آفت در جمعیت‌های مورد مطالعه مؤثرند؟
- روند خروج حشرات کامل از مرحله شفیرگی چگونه است؟
- آیا تفاوت‌های جغرافیایی بر رفتار فراخوانی این آفت مؤثر می‌باشد؟
- بهترین زمان استخراج فرومون از غدد فرومونی برای شناسایی ترکیبات آن، با توجه به ارتباط میزان فرومون موجود در غدد فرومونی با رفتار فراخوانی (Kamimura & Tatsuki, 1993; Delisle & Royer, 1994; Kawazu & Tatsuki, 2002) چه زمانی است؟

مواد و روش‌ها

انتخاب جمعیت‌های مورد مطالعه و پرورش کرم گلوگاه انار

جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس بررسی‌های مورفومتریک و ژنومتریکی صورت گرفته، توسط *Mozaffarian et al.* (2007) از مناطق ساوه، چترود کرمان و ارسنجان که از نظر آماری، تفاوت‌های معنی‌داری بین جمعیت‌ها مشاهده شده بود، از روی انار جمع‌آوری شدند. لاروهای جمع‌آوری شده مربوط به هر جمعیت، به صورت جداگانه، درون ظروف پرورش محتوی پسته (رقم فندق)، منتقل شدند. سپس ظروف، به قفس‌هایی به ابعاد $80 \times 70 \times 180$ سانتیمتر منتقل و در شرایط یکسان (شرایط دمایی 29 ± 1 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 70 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. حشرات کامل بعد از خروج از شفیره، به مدت یک شب، جهت جفت‌گیری، در این قفس‌ها نگهداری، و روز بعد، ماده‌ها جهت تخم‌گیری، به فنجان‌های پلاستیکی به قطر ۱۵ و بلندی ۲۰ سانتیمتر منتقل شدند. لاروهای خارج شده از تخم‌ها، به آرامی روی ظروف پرورش محتوی پسته (رقم فندق)، منتقل شدند. پرورش حشره در طی انجام آزمایش‌ها، تا چندین نسل ادامه داشت.

تعیین طول مدت رشد و نمو

بدین منظور تعدادی از ماده‌های جفت‌گیری کرده و هم‌سن از هر جمعیت مربوط به نسل چهارم پرورش، درون ظروف تخم‌ریزی منتقل و بعد از اتمام یک دوره تاریکی (به مدت ۸ ساعت) تخم‌ها جمع‌آوری و جهت مشاهده‌ی رشد جنین تا خروج لارو از تخم، به‌طور روزانه بازدید شدند. بعد از تفریح اولین تخم‌ها، بازدیدها بصورت هر ۶ ساعت یک بار انجام شد تا طول دوره رشد و نمو جنینی، تعیین شود. سپس لاروهای هم‌سن، جهت تعیین طول کل دوره رشد و نمو، روی پسته منتقل شدند.

تعیین روند خروج حشرات کامل از مرحله شفیرگی

جهت تعیین روند خروج حشرات کامل از مرحله شفیرگی، تعداد زیادی از لاروهای یک روزه هر جمعیت، که از تخم‌های هم‌سن خارج شده بودند، روی ظروف پرورش محتوی پسته (رقم فندق)، منتقل و در شرایط

آزمایشگاهی ذکر شده، درون قفس قرار داده شدند. با مشاهده اولین حشرات کامل خارج شده از شفیره، هر ساعت یک‌بار از قفس‌ها بازدید و بعد از ثبت تعداد حشرات ماده و نر خارج شده در فرم مربوطه، حشرات کامل از قفس حذف می‌شدند. بررسی‌ها تا پایان خروج آخرین حشره ادامه داشت.

بررسی رفتار فراخوانی ماده‌ها

از حشرات ماده باکره‌ی هم‌سن و به تعداد ۳۰ عدد برای هر جمعیت، برای انجام مطالعات رفتار فراخوانی استفاده شد. حشرات کامل در اولین ساعت خروج از شفیره، تعیین جنسیت شدند و سپس ماده‌ها به‌طور جداگانه در داخل ظروف استوانه‌ای پلاستیکی شفاف به ابعاد 4×7 سانتیمتر که دو طرف آن با پارچه توری، جهت تهویه هوا، مسدود شده بود قرار داده شدند. ظروف، پس از تجهیز با یک ظرف کوچک برای تغذیه حشرات کامل با آب عسل ۵ درصد، به داخل اطاق زیست‌سنجی با شرایط دمایی 27 ± 1 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 70 ± 10 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. حشرات ماده از نظر قابل رویت بودن تخم‌ریز، بررسی و سپس رفتار فراخوانی آن‌ها در طول دوره تاریکی و از همان دوره تاریکی اول، به عنوان روز اول از سن فراخوانی، ثبت و به مدت یک هفته ادامه داشت. مشاهدات اولیه نشان داد، این حشره در طول دوره روشنایی، بجز ساعت اولیه، هیچ‌گونه حالت فراخوانی ندارد. لذا مشاهدات، فقط در مرحله تاریکی، هر 0.5 ساعت و از زمان شروع فراخوانی، هر ۱۵ دقیقه یک‌بار، انجام شد. برای مشاهده شب‌پره‌ها، از چراغ قوه‌ای که منبع نوری آن با قطعاتی از سلفان قرمز پوشیده شده بود، استفاده شد. نور قرمز چراغ قوه هیچ‌گونه اثری در رفتار حشره نداشت. فرم فراخوانی ماده‌ها، به صورت بالا آوردن شکم به سطح پشتی بدن، همراه با بیرون نگاه‌داشتن تخم‌ریز می‌باشد. چنانچه ماده‌ای در دو مشاهده پی‌درپی در وضعیت فراخوان بود ۳۰ دقیقه فراخوانی برای آن منظور می‌شد و چنانچه فقط در یکی از دو مشاهده، حالت فراخوانی داشت، تنها ۱۵ دقیقه فراخوانی برای آن منظور و محاسبه شد (*Soofbaf et al.*, 2007). چنانچه حشره‌ای در طول انجام آزمایش، از بین می‌رفت اطلاعات مربوط به این

وارینانس حذف می‌شد. حشره حذف می‌شد. سیس بر اساس اطلاعات حاصله، فاکتورهای زیر محاسبه گردید:

۱. میانگین زمان آغاز و پایان فراخوانی^۱ (این صفت بر حسب دقیقه و از آغاز مرحله تاریکی شروع، و تا پایان فعالیت فراخوانی ثبت گردید).

۲. طول مدت زمان فراخوانی^۲

۳. تعداد دوره فراخوانی^۳ و مدت زمان هر دوره^۴

۴. درصد ماده‌های فراخوان در هر روز و ساعت فراخوانی، در طی مرحله تاریکی

۵. تعیین درصد افرادی که در هر روز، برای اولین بار شروع به فراخوانی کردند (افرادی که اولین بار فراخوانی داشتند و در روزهای قبل فراخوانی نداشتند).

۶. مقایسه درصد ماده‌های فراخوان، در سه ساعت آخر مرحله تاریکی و ساعت اول از مرحله روشنایی.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 و Minitab مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین داده‌های مربوط به طول دوره رشد و نمو و روند خروج حشرات کامل از مرحله شفیرگی، از تجزیه واریانس یک طرفه (One way Anova) و T-Test و برای مقایسه صفات مربوط به فعالیت فراخوانی آفت، از تجزیه

1. Mean onset and end time of calling
2. Mean time spent calling
3. Calling bout = مدت زمانی که یک حشره ماده، بطور متوالی در حال ترشح فرمون می‌باشد.
4. Duration per calling bout

نتایج

تعیین طول مدت رشد و نمو جنینی و تعیین روند خروج حشرات کامل از مرحله شفیرگی

نتایج مربوط به زیست‌شناسی رشد و نمو آفت، در سه جمعیت مورد مطالعه، در جدول ۱ ارائه شده است. مطالعات نشان داد که طول دوره رشد و نمو جنینی جمعیت کرمان، به‌طور معنی‌داری کمتر از جمعیت‌های ساوه و ارسنجان بود و کل دوره رشد و نمو در سه جمعیت نیز، با هم تفاوت معنی‌داری داشتند. میانگین طول دوره رشد و نمو از تخم تا خروج حشرات کامل، برای جنس ماده جمعیت ساوه، کرمان و ارسنجان به ترتیب ۳۹/۰، ۴۰/۴ و ۴۱/۳ روز و برای جنس نر ۳۷/۴، ۳۸/۵ و ۴۰/۲ روز تعیین شد. میانگین طول دوره رشد و نمو در جنس نر، نسبت به جنس ماده، حدود یک روز کمتر است و نرها یک روز زودتر از ماده‌ها از شفیره خارج شدند. نسبت جنسی در پرورش آزمایشگاهی برای سه جمعیت ساوه، کرمان و ارسنجان به ترتیب و بر پایه جنس نر (ماده: نر) برابر با ۱:۱/۱، ۱:۱ و ۱:۱/۱ بود. این نسبت در شرایط صحرایی و براساس مطالعات فخارزاده (Fakharzadeh, 2002) برابر با ۱:۱/۲۱ و در شرایط آزمایشگاهی ۱:۱/۱۶ بوده است. به‌نظر می‌رسد در شرایط آزمایشگاهی تعداد ماده‌ها بیشتر از نرها می‌باشد.

جدول ۱- مقایسه میانگین طول دوره رشد و نمو جنینی و کل دوره رشد و نمو در سه جمعیت مورد مطالعه

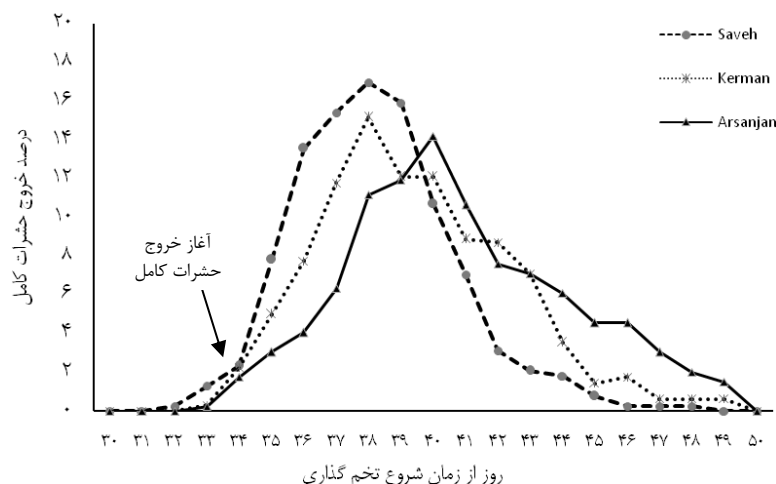
کرم گلوگاه انار در شرایط آزمایشگاهی

مرحله	مدت (روز ± خطای استاندارد)		
	ارسنجان	کرمان	ساوه
رشد و نمو جنینی	$3/6 \pm 0/01$ c (n=323)	$3/2 \pm 0/01$ b (n=282)	$3/7 \pm 0/02$ a (n=191)
کل دوره رشد و نمو (ماده)	$41/3 \pm 0/24$ c A (n=210)	$40/4 \pm 0/16$ b A (n=316)	$39/0 \pm 0/17$ a A (n=196)
کل دوره رشد و نمو (نر)	$40/2 \pm 0/24$ c B (n=184)	$38/5 \pm 0/16$ b B (n=302)	$37/4 \pm 0/17$ a B (n=187)

(حروف کوچک برای نشان دادن معنی دار بودن صفت در سطح افقی و حروف بزرگ برای سطوح عمودی می‌باشد)

از پيله شفیرگی خارج شدند (شکل ۲). نتایج مربوط به روند خروج حشرات کامل، در جدول ۲ ارائه شده است. تجزیه آماری داده‌های بدست آمده، نشان داد که بین روند خروج حشرات نر و ماده، در سه جمعیت تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود.

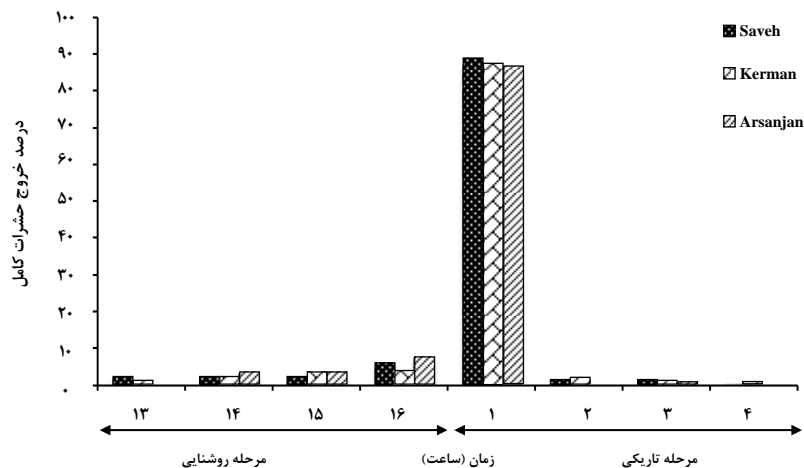
روند خروج حشرات کامل از مرحله شفیرگی، تدریجی و بعد از گذشت ۳۳ روز از تخم‌ریزی، آغاز (شکل ۱) و حداکثر خروج حشرات کامل، در اولین ساعت دوره تاریکی دیده شد. صرف‌نظر از جنسیت، فقط تعداد محدودی از حشرات کامل، قبل از مرحله تاریکی



شکل ۱- درصد خروج روزانه حشرات کامل کرم گلوگاه انار از شفیره در سه جمعیت ساوه، کرمان و ارسنجان

جدول ۲- روند خروج حشرات کامل کرم گلوگاه انار از شفیره، در شرایط آزمایشگاهی

نسبت جنسی ماده/نر	درصد مرگ و میر	درصد خروج ماده‌ها در اولین ساعت تاریکی	درصد خروج نرها در اولین ساعت تاریکی	تعداد خروج ماده‌ها در اولین ساعت تاریکی	تعداد خروج نرها در اولین ساعت تاریکی	تعداد خروج کل حشرات در اولین ساعت تاریکی	کل حشرات نر خارج شده	کل حشرات ماده خارج شده	تعداد کل لاروهای منتقل شده	جمعیت
۱:۱/۱	۴۹/۹	۸۹/۸	۸۴	۱۷۶	۱۵۷	۱۹۶	۱۸۷	۷۶۵	ساوه	
۱:۱	۴۴/۵	۸۸/۹	۸۵/۵	۲۸۱	۲۵۹	۳۱۶	۳۰۳	۱۱۱۶	کرمان	
۱:۱/۱	۳۶/۸۶	۸۲/۹	۹۰/۲	۱۷۴	۱۶۹	۲۱۰	۱۸۴	۶۲۴	ارسنجان	
۱:۱/۱	۴۵/۳	۸۸/۲	۸۵/۷	۶۳۱	۵۸۲	۷۲۲	۶۷۴	۲۵۰۵	مجموع	



شکل ۲- نمودار درصد خروج حشرات کامل کرم گلوگاه انار از شفیره، برای سه جمعیت ساوه، کرمان و ارسنجان، در اولین ساعت شروع تاریکی نسبت به دیگر ساعات شبانه روز

رفتار فراخوانی کرم گلوگاه انار

رفتار فراخوانی در این حشره، مشابه توصیفات این رفتار روی برخی دیگر از پروانه‌ها می‌باشد. بیرون آوردن تخم‌ریز، نگه داشتن بال‌ها به صورت پهن و دور از بدن و در معرض قراردادن شکم در مسیر جریان هوا با خم کردن شکم از سطح پشتی و معمولاً به سمت جلو بودن شاخک‌ها از ویژگی‌های رفتار فراخوانی در این حشره می‌باشد که در برخی دیگر از پروانه‌ها نیز عمومیت دارد. مطالعات مربوط به سن فراخوانی حشرات ماده باکره، نشان داد که حشرات ماده در هر سه جمعیت، از اولین شب ظهور، شروع به فراخوانی و بالطبع، ترشح فرومون می‌پردازند. در حالی که فقط درصد کمی از حشرات ماده باکره جمعیت ارسنجان (۱۲/۵٪) در شب اول فراخوانی داشتند، درصد قابل توجهی از ماده‌های جمعیت ساوه (۴۶/۲٪) و کرمان (۴۸/۴٪)، در همان شب اول خروج از شفیره، فعالیت فراخوانی خود را شروع کردند. بیشتر ماده‌ها در جمعیت ارسنجان، فعالیت فراخوانی را از شب دوم آغاز کردند. تغییرات درصد فراخوانی حشرات ماده‌ای که برای اولین بار این رفتار را نشان دادند، در شکل ۷ و تغییرات درصد فراخوانی در سنین یک تا هفت روزگی و در ساعات‌های مختلف دوره تاریکی برای سه جمعیت مورد مطالعه در شکل‌های ۶ و ۸ آورده شده است. در تمام موارد و صرف‌نظر از جمعیت، آغاز فعالیت فراخوانی از نیمه دوم دوره تاریکی و بعد از گذشت ۵ ساعت از مرحله تاریکی آغاز و بتدریج و با افزایش ساعات تاریکی افزایش یافت و در آخرین ساعت تاریکی به اوج خود رسید (شکل ۸). نتایج مربوط به مطالعه صفات مرتبط با رفتار فراخوانی، در جدول ۳ و شکل‌های ۳-۸ آورده شده است. پس از اتمام مرحله تاریکی و با شروع دوره روشنایی، فعالیت فراخوانی در جمعیت ساوه متوقف و در جمعیت کرمان به شدت کاهش یافت (۵/۱٪)، اما درصد قابل توجهی از حشرات ماده جمعیت ارسنجان (۳۵/۵٪)، در اولین ساعت روشنایی فعالیت فراخوانی داشتند و بعد از گذشت یک ساعت از مرحله روشنایی، فراخوانی ماده‌ها متوقف گردید. فعالیت فراخوانی بعد از توقف آن با شروع دوره روشنایی در هر سه جمعیت تا نیمه دوم مرحله تاریکی روز بعد مشاهده نگردید. درصد فراخوانی حشرات

ماده صرف‌نظر از جمعیت، در روزهای سوم و چهارم به اوج خود رسید و سپس با افزایش سن به تدریج کاهش یافت. به طوری که در روز هفتم درصد ماده‌های فراخوان، در دو جمعیت کرمان و ساوه بشدت کاهش یافت ولی این کاهش در جمعیت ارسنجان مشاهده نگردید (شکل ۶). تجزیه آماری نتایج حاصله، تفاوت‌هایی را در رفتار فراخوانی از نظر زمان شروع و اتمام آن، بین ماده‌های سه جمعیت و بین سنین مختلف نشان داد. به طوری که این دو صفت، در جمعیت ارسنجان با دو جمعیت دیگر تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) داشت. ماده‌های جمعیت ارسنجان دیرتر و فقط در آخرین ساعت تاریکی، فراخوانی را شروع کرده و این رفتار تا انتهای اولین ساعت روشنایی، ادامه داشت در حالی که دو جمعیت کرمان و ارسنجان از دو ساعت مانده به مرحله روشنایی فعالیت فراخوانی آنها آغاز و با شروع مرحله روشنایی متوقف شد (شکل ۸). مقایسه میانگین طول مدت زمان فراخوانی بین سه جمعیت، نشان داد که این صفت بین جمعیت‌ها، تفاوت معنی‌داری ندارد ($P > 0.05$) و همچنین این صفت بین سنین مختلف از ۱۶/۹ دقیقه در شب اول در جمعیت ارسنجان تا ۵۱/۷۷ دقیقه در شب چهارم جمعیت ساوه متغیر بود. بجز در شب چهارم جمعیت ساوه و شب هفتم جمعیت کرمان که بیشترین زمان فراخوانی را داشتند، بین دیگر سنین و در جمعیت‌های مختلف تفاوت معنی‌داری دیده نشد ($P > 0.05$) (جدول ۳ و شکل ۴). مقایسه تغییرات تعداد دوره‌های فراخوانی، در سه جمعیت و در سنین مختلف در شکل ۵ ارائه شده است. تجزیه آماری میانگین تعداد دوره‌های فراخوانی، نشان داد که این صفت در جمعیت ارسنجان کمتر و با دو جمعیت کرمان و ساوه، دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشد ($P < 0.05$) در حالی که این صفت، در سنین مختلف دو جمعیت کرمان و ارسنجان تقریباً ثابت و تفاوت معنی‌داری ندارد ($P > 0.05$). در جمعیت ساوه، میانگین تعداد دوره فراخوانی، در بین سنین مختلف متفاوت و در سنین ۲ و ۷ بیشتر و دارای تفاوت معنی‌داری با دیگر سنین بود ($P < 0.05$) (جدول ۳). مدت زمان فراخوانی در هر دفعه، از ۱۷/۵ دقیقه در سن اول جمعیت ارسنجان، تا ۴۴/۵ دقیقه در سن چهارم جمعیت ساوه، و سن ششم جمعیت

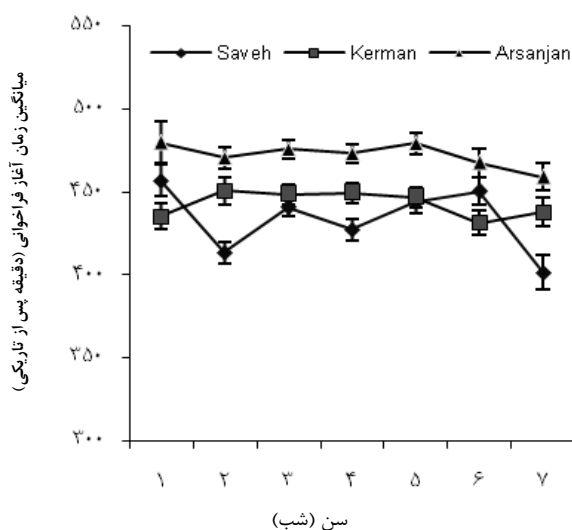
جمعیت ارسنجان، کمترین زمان را داشتند که دارای تفاوت معنی‌داری با دیگر سنین هستند ($P < 0.05$). اطلاعات کامل‌تر در جدول ۳ ارائه شده است.

ارسنجان، متفاوت بود. تجزیه آماری داده‌ها نشان داد، شب چهارم از جمعیت ساوه و شب ششم از جمعیت ارسنجان، دارای بیشترین زمان فراخوانی و شب اول از

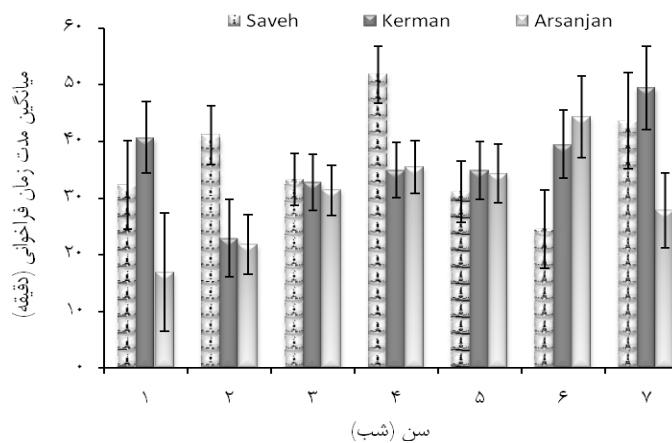
جدول ۳- نتایج مربوط به مطالعه صفات مرتبط با رفتار فراخوانی در سنین مختلف در سه جمعیت از کرم گلوگاه انار

		سن (شب)							
		۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	الگوی فراخوانی
میانگین تعداد دوره فراخوانی									
ساوه A	$1/67 \pm 0/11$ c	$0/96 \pm 0/14$ a	$1/18 \pm 0/11$ ab	$1/28 \pm 0/11$ b	$1/33 \pm 0/09$ b	$1/67 \pm 0/11$ c	$1/07 \pm 0/16$ ab		
	(n=۶)	(n=۹)	(n=۱۵)	(n=۱۷)	(n=۲۱)	(n=۱۶)	(n=۷)		
کرمان A	$1/48 \pm 0/15$ bc	$1/31 \pm 0/13$ ab	$1/28 \pm 0/11$ ab	$1/20 \pm 0/10$ ab	$1/21 \pm 0/10$ ab	$1/18 \pm 0/14$ ab	$1/18 \pm 0/13$ ab		
	(n=۸)	(n=۱۲)	(n=۱۷)	(n=۱۸)	(n=۱۸)	(n=۹)	(n=۱۱)		
ارسنجان B	$1/09 \pm 0/14$ b	$1/10 \pm 0/15$ ab	$1/18 \pm 0/11$ ab	$1/04 \pm 0/10$ ab	$1/09 \pm 0/09$ ab	$1/05 \pm 0/11$ ab	$1/00 \pm 0/22$ ab		
	(n=۱۰)	(n=۸)	(n=۱۶)	(n=۲۰)	(n=۲۳)	(n=۱۶)	(n=۴)		
میانگین مدت فراخوانی به ازای هر دوره‌ی فراخوانی (دقیقه)*									
ساوه A	$26/3 \pm 7/3$ ab A	$27/1 \pm 5/9$ ab A	$28/3 \pm 4/6$ ab A	$44/5 \pm 4/3$ c B	$24/2 \pm 2/9$ ab A	$25/7 \pm 4/4$ ab A	$34/0 \pm 6/7$ bc B		
کرمان A	$34/9 \pm 6/3$ b A	$33/1 \pm 5/1$ b AB	$25/5 \pm 4/3$ ab A	$30/8 \pm 4/2$ b A	$27/7 \pm 4/2$ ab A	$21/9 \pm 5/9$ ab A	$33/9 \pm 5/4$ bc B		
ارسنجان A	$26/1 \pm 5/6$ ab A	$44/5 \pm 6/2$ c B	$30/2 \pm 4/4$ b A	$35/0 \pm 4/0$ bc A	$30/0 \pm 2/7$ ab A	$21/3 \pm 4/4$ a A	$17/5 \pm 8/9$ a A		
میانگین زمان آغاز فراخوانی (دقیقه بعد از آغاز مرحله تاریکی)*									
ساوه A	$40/16 \pm 10/4$ a A	$450/3 \pm 8/4$ bc AB	$443/6 \pm 6/6$ b A	$427/2 \pm 6/2$ a A	$440/6 \pm 5/6$ b A	$412/5 \pm 6/4$ a A	$456/7 \pm 9/5$ b A		
کرمان A	$437/9 \pm 9/0$ b B	$431/4 \pm 7/3$ ab A	$446/6 \pm 6/2$ b A	$449/4 \pm 6/0$ b B	$448/5 \pm 6/1$ b A	$450/6 \pm 8/3$ b B	$435/3 \pm 7/8$ b A		
ارسنجان B	$458/9 \pm 8/2$ bc C	$467/3 \pm 8/9$ c B	$479/0 \pm 6/4$ c B	$473/0 \pm 5/8$ c C	$475/6 \pm 5/5$ c B	$470/4 \pm 6/4$ c C	$497/7 \pm 12/8$ bc B		
میانگین کل مدت زمان فراخوانی (دقیقه)*									
ساوه A	$43/6 \pm 8/5$ bc B	$24/5 \pm 6/9$ ab A	$31/2 \pm 5/4$ b A	$51/8 \pm 5/0$ c B	$32/3 \pm 4/6$ ab A	$41/1 \pm 5/2$ b B	$32/3 \pm 7/8$ ab B		
کرمان A	$49/5 \pm 7/3$ c B	$39/5 \pm 6/0$ bc B	$34/9 \pm 5/0$ b A	$35/0 \pm 4/9$ b A	$32/8 \pm 4/9$ b A	$22/9 \pm 6/8$ ab A	$40/7 \pm 6/3$ bc B		
ارسنجان A	$27/8 \pm 6/6$ ab A	$44/4 \pm 7/2$ bc B	$34/3 \pm 5/2$ b A	$35/5 \pm 4/7$ b A	$31/4 \pm 4/4$ b A	$21/8 \pm 5/2$ a A	$16/9 \pm 10/4$ a A		
میانگین زمان اتمام فراخوانی (دقیقه بعد از آغاز مرحله تاریکی)*									
ساوه A	$451/3 \pm 8/1$ a A	$461/7 \pm 6/6$ ab A	$462/7 \pm 5/1$ ab A	$468/5 \pm 4/8$ b A	$467/2 \pm 4/4$ b A	$459/8 \pm 5/0$ ab A	$473/9 \pm 7/5$ b A		
کرمان A	$480/8 \pm 7/0$ b B	$458/6 \pm 5/7$ ab A	$469/7 \pm 4/8$ b A	$468/7 \pm 4/7$ b A	$469/1 \pm 4/7$ b A	$462/4 \pm 6/6$ ab A	$468/0 \pm 6/0$ b A		
ارسنجان B	$471/5 \pm 6/3$ b B	$497/2 \pm 7/0$ cd B	$501/0 \pm 5/0$ d B	$493/8 \pm 4/5$ cd B	$494/6 \pm 4/2$ cd B	$478/3 \pm 5/0$ bc A	$480/5 \pm 10/0$ bc A		

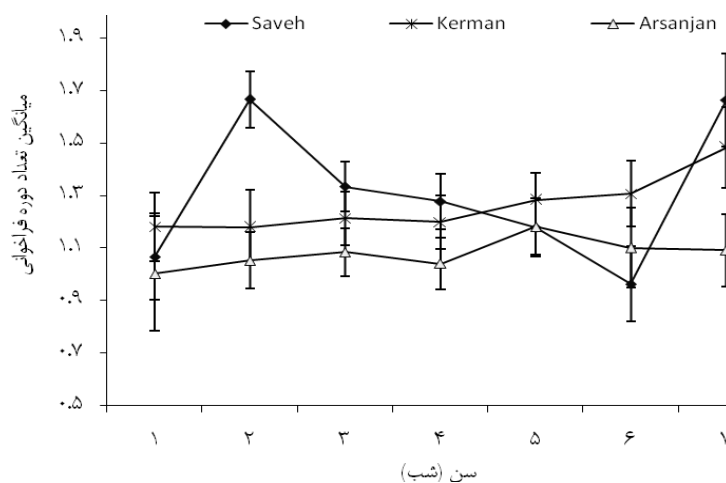
* تعداد حشرات برای هر جمعیت و در سنین مختلف، برای تمامی صفات، با صفت میانگین تعداد دوره فراخوانی، یکسان می‌باشد. (حروف کوچک، برای نشان دادن معنی دار بودن صفت در سطح افقی، و حروف بزرگ، برای سطوح عمودی می‌باشد).



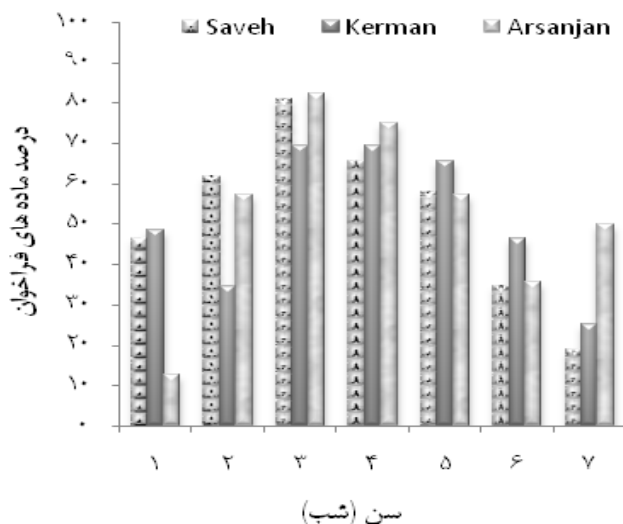
شکل ۳- نمودار میانگین زمان شروع فراخوانی توسط حشرات ماده باکره در سنین مختلف



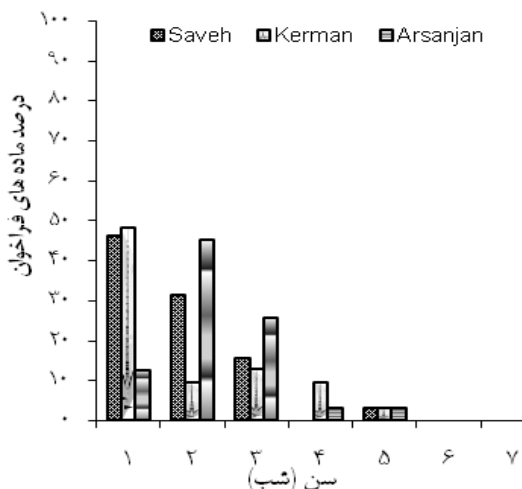
شکل ۴- نمودار میانگین کل زمان فراخوانی توسط حشرات ماده باکره در سنین مختلف



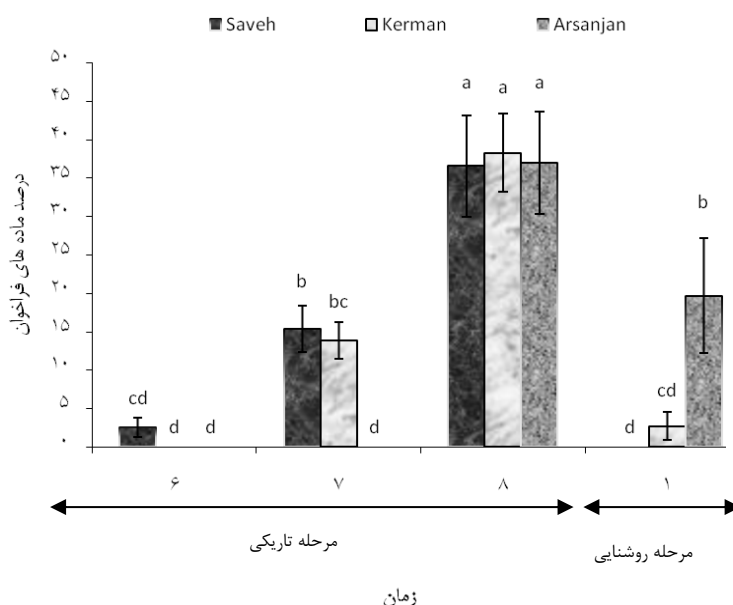
شکل ۵- نمودار میانگین تعداد دوره فراخوانی در سنین مختلف



شکل ۶- نمودار مقایسه درصد ماده های فراخوان در سنین مختلف



شکل ۷- نمودار مقایسه سنی که حشرات ماده باکره برای اولین بار شروع به فراخوانی می‌نمایند



شکل ۸- نمودار مقایسه درصد ماده‌های فراخوان در سه ساعت آخر تاریکی و اولین ساعت روشنایی

Al-Izzi et al. Al-rubeai, 1987; Fakharzadeh, 2002) *al.* (1987) و Cox (1976a,b)، مطالعاتی در زمینه اثر دما، دوره نوری و میزبان گیاهی، روی طول دوره رشد و نمو آفت انجام داده‌اند، که همگی اثر این عوامل را به خوبی نشان می‌دهد. Gothilf (1968)، طول دوره رشد و نمو جنینی را در دمای ۳۰ درجه، ۳ روز و میانگین طول دوره رشد و نمو را از ۳۲/۵ روی غذای مصنوعی، تا ۶۹ روز روی گریپ‌فروت ذکر کرده است. در مطالعات کوکس، طول دوره رشد و نمو جنینی، در سه دمای ۲۵، ۳۰ و ۳۵ به ترتیب ۴/۲، ۳ و ۳/۶ روز و متوسط طول

بحث

لاروهای سنین مختلف کرم گلوگاه انار، بر اثر درجه حرارت پایین و کوتاه شدن طول دوره روشنایی، وارد دوره دیاپوز اختیاری شده و چنانچه در شرایط مساعد از نظر حرارت و نور قرار گیرند، رشد و نمو خود را از سر گرفته و پس از شفیرگی و ظهور حشرات کامل، شروع به تولیدمثل می‌کنند. از آنجایی که این آفت پلی‌فاژ می‌باشد، نوع میزبان گیاهی، از مهمترین عوامل روی طول دوره رشد و نمو مراحل مختلف آفت هستند (Gothilf, 1884; Gothilf, 1968; Al-Izzi et al., 1987;

تاریکی و تفکیک جنست آنها بر اساس ویژگی حشرات کامل، (مقایسه انتهای شکم و مشاهده انبرک در نرها و سوراخ تخم‌ریزی در ماده‌ها)، روشی ساده، سریع و با کمترین دخالت در سیکل طبیعی خروج حشرات کامل، می‌باشد. بعد از خروج حشرات کامل از پیله شفیرگی، بال‌ها به صورت چروکیده هستند و برای مدتی حدود ۳۰ دقیقه بصورت عمود بر بدن باقی می‌مانند، تا فرم طبیعی خود را بدست آورند. مطالعات نشان داد که در این روش تمامی حشرات، بعد از گذشت مدت زمان مربوط به گسترده شدن بال‌ها، دارای فرم طبیعی بوده و با توجه به دخالت کمتر در چرخه زندگی حشره، مطالعات با درصد خطای کمتر نسبت به حالت قبل و نزدیک به شرایط طبیعی انجام می‌گیرد.

حشرات ماده کرم گلوگاه انار در حالت فراخوانی ساکن بوده و بال‌ها به نسبت جدا و پایین آورده هستند و شکم از سطح پشتی به صورت خمیده است و تخم‌ریز از بندهای انتهایی شکم بصورت پی‌درپی بیرون آورده می‌شود و معمولاً شاخک‌ها به سمت جلو هستند. این حالت فراخوانی در هر سه جمعیت یکسان بوده و تفاوت قابل توجهی مشاهده نشد. مشاهدات مربوط به درصد فراخوانی با مطالعات (Soofbaf *et al.*, 2007)، تا حدودی متفاوت بود. سوف‌باف گزارش کرد که درصد ماده‌های فراخوان در سنین آخر، نسبت به دیگر سنین، بیشتر اما تفاوت معنی‌داری بین سنین دیده نشده است در حالی که در این تحقیق حداکثر فراخوانی در سنین ۳ و ۴ دیده شد و بعد از آن کاهش یافت. نتایج مشابهی روی گونه‌های (*Royer & McNeil, Chilo suppressalis* (1991) *Gemeno & Haynes, 2000*) *Agrotis ipsilon* و (*Kamimura & Tatsuki, Helicoverpa armigera* (1993) نیز بدست آمده است. از آنجایی که بلوغ جنسی در این حشره سریع و تخم‌ریزی آن حتی در صورت عدم جفت‌گیری از همان شب اول مشاهده می‌شود (Gothilf, 1884; Gothilf, 1968; Navarro *et al.*, 1986; Al-Izzi *et al.*, 1987)، به نظر می‌رسد کاهش درصد فراخوانی، با بلوغ جنسی زودرس، تخم‌گذاری و کاهش قدرت بارآوری آفت مرتبط باشد. آگاهی از سن حداکثر فراخوانی، از این نظر که ارتباط مستقیمی با میزان فرمون درون غدد فرومونی دارد (Kamimura & Tatsuki, 1993; Delisle

دوره رشد و نمو، از زمان خروج از تخم تا خروج حشرات کامل در سه دما، به ترتیب ۴۸، ۳۰ و ۲۳ روز بوده است. Al-rubeai (1987) این مدت را در شرایط مشابه این تحقیق، برای تخم ۳/۵ روز، Yousefi *et al.* (2004)، ۳/۷±۰/۷۵ و Mehrnejad (2002) ۲/۷۱ روز و برای کل دوره رشد و نمو، به ترتیب روی غذای مصنوعی، ۲۷/۱۴، روی انار، ۳۴/۴۳ و روی پسته رقم فندق، ۳۲/۷۷ روز، گزارش کرده‌اند. با توجه به تفاوت‌های معنی‌دار دیده شده در بین جمعیت‌های مختلف، در طول دوره رشد و نمو جنینی و کل دوره رشد و نمو در این تحقیق، و تفاوت‌های نتایج این تحقیق، با نتایج دیگر محققین، چنین به نظر می‌رسد که علاوه بر عوامل اقلیمی و نوع میزبان، منطقه جغرافیایی یا به عبارت دیگر، محل جمع‌آوری جمعیت اولیه، نیز می‌تواند بر برخی از ویژگی‌های زیستی آفت، تاثیرگذار باشد. در مطالعات قبلی انجام شده روی رفتار فراخوانی این آفت (Vetter *et al.*, 1997; Soofbaf *et al.*, 2007)، پیله شفیرگی، به وسیله قیچی ریز چیده و شفیره از درون پیله خارج، تعیین جنسیت و سپس در محیط مناسب قرار داده می‌شدند و سرانجام از ماده‌های خارج شده، در مطالعه رفتار فراخوانی، استفاده شده است. مطالعات ابتدایی نشان داد، شکافتن پیله و خروج شفیره، نه تنها سبب صرف وقت و آسیب رساندن به شفیره‌ها می‌شود، بلکه درصد قابل توجهی از بال‌های حشرات کامل خارج شده، چروکیده شدند و فرم طبیعی خود را از دست داده بودند. بنابراین، این احتمال وجود دارد که شکافتن پیله، بر برخی ویژگی‌های رفتاری، از جمله رفتار فراخوانی آفت، تاثیرگذار باشد. نتایج نشان داد که روند خروج حشرات نر و ماده از یک سیکل دوره‌ای تبعیت می‌کند. نرها و ماده‌ها بصورت هم‌زمان و در اولین ساعت تاریکی، از شفیره خارج شدند. نتایج مشابهی، روی گونه‌های *Busseola fusca* و *Sesamia nonagrioides* (Calatayud *et al.*, 2007) نیز بدست آمده است. خروج بیش از ۹۵ درصد از حشرات کامل کرم گلوگاه انار، بعد از گذشت اولین ساعت تاریکی و ۴-۵ ساعت قبل از آغاز فعالیت فراخوانی و شروع جفت‌گیری، نشان داد که برای دسترسی به ماده‌های بارکره و نرهای جفت‌گیری نکرده، شکار حشرات کامل، یک ساعت بعد از شروع دوره

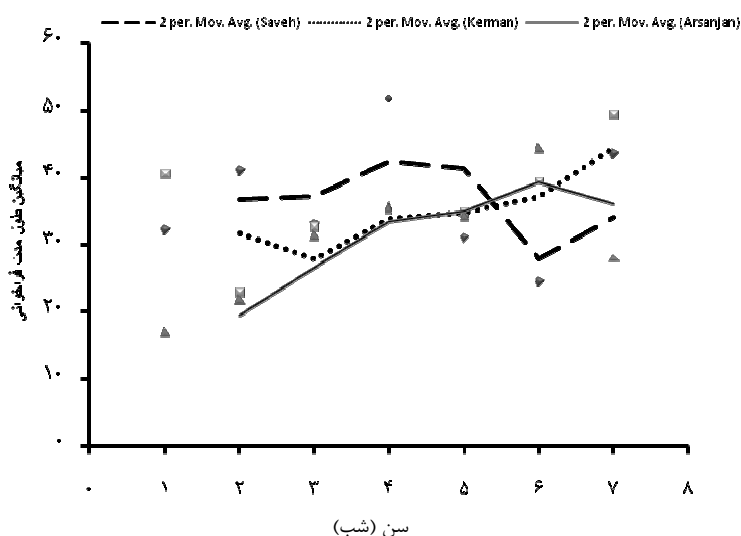
ولی در جمعیت ارسنجان، رفتار فراخوانی تا پایان اولین ساعت از دوره روشنایی، ادامه داشت. Mazor & Dunkelblum (2005) این تفاوت‌ها را مربوط به متفاوت بودن منشاء یا مبداء حشراتی (استرین متفاوت) می‌دانند، که مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. شرایط محیطی پرورش، نوع رژیم غذایی یا میزبان گیاهی، طول دوره روشنایی و دیگر عوامل طبیعی، نیز از دیگر عوامل تأثیرگذار روی صفات مربوط به فعالیت فراخوانی هستند (Webster & Cardé, 1982; Noldus & Potting, 1990; Royer & McNeil, 1991; Delisle, 1992; Delisle & Royer, 1994; Pelozuelo *et al.*, 2004).

Casimero *et al.* (1999) و Zhao *et al.* (2007)، وجود تفاوت در صفات مرتبط با رفتار فراخوانی در جمعیت‌های جغرافیایی یک گونه، با وجود یکسان بودن شرایط محیطی پرورش، نوع رژیم غذایی و طول دوره روشنایی و انجام آزمایش‌ها در شرایط مشابه، را به دلیل انتخاب طبیعی می‌دانند که در اثر سازش با شرایط محیطی، ایجاد شده‌اند که پایه و اساس ژنتیکی دارند و از نسلی به نسل دیگر نیز منتقل می‌شوند. تفاوت در زمان فراخوانی و تغییر نسبت ترکیبات فرمونی، در جمعیت‌های متفاوت از یک گونه و یا گونه‌های نزدیک به هم، از جمله مکانیزم‌های مهم جدایی تولیدمثلی است و یک مانع^۱ در مراحل تولیدمثل، بین دو جمعیت فراهم

۱. هر نوع محدوده‌ای که از جریان ژن بین جمعیت‌ها جلوگیری کند.

(Royer, 1994; Kawazu & Tatsuki, 2002) دارای اهمیت خاصی است زیرا تعیین مناسب‌ترین زمان قطع غدد، استخراج فرمون با حلال را موفق‌تر و کار شناسایی را که بخشی از این پروژه بوده است را تسهیل خواهد نمود.

علیرغم عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین جمعیت‌ها از نظر مدت زمان فراخوانی، ولی در دو جمعیت کرمان و ارسنجان با افزایش سن حشره طول مدت زمان فراخوانی افزایش یافته و در جمعیت ساوه تقریباً ثابت بوده است (شکل ۹). افزایش طول مدت زمان فرمون با افزایش سن، در عده زیادی از پروانه‌های دیگر نیز مشاهده شده است (Swier *et al.*, 1977; Webster & Cardé, 1982; Royer & McNeil, 1991; Kawazu & Tatsuki, 2002). این محققین اعتقاد دارند که این یک مرحله سازشی است که در آن ماده‌های مسن‌تر، با افزایش زمان فراخوانی و آغاز زودتر آن، شانس خود را برای جلب جنس نر، افزایش می‌دهند. اما در جمعیت ساوه ممکن است رقابت ماده‌های مسن‌تر با ماده‌های جوان به گونه‌ای دیگر، مثلاً افزایش میزان ترشح فرمون باشد (Kawazu & Tatsuki, 2002). نتایج مربوط به شروع و پایان فعالیت فراخوانی، با نتایج محققین دیگر روی کرم گلوگاه انار تا حدودی متفاوت بود. Soofbaf *et al.* (2007) و Vetter *et al.* (1997)، به توقف سریع فراخوانی، با شروع دوره روشنایی اشاره کرده‌اند که این حالت، در دو جمعیت ساوه و کرمان نیز مشاهده گردید



شکل ۹- مدل خطی نمایش طول مدت زمان فراخوانی در سه جمعیت مورد مطالعه از کرم گلوگاه انار

جمعیت ارسنجان به دلیل ایزوله بودن و نداشتن تبادلات ژنی با جمعیت‌های دیگر (Mozaffarian *et al.*, 2007) و با تغییر ساعت فراخوانی، سبب ایجاد جدایی تولیدمثلی که یکی از مهمترین عوامل در گونه‌زایی سیمپاتریک می‌باشد، شده و این احتمال وجود دارد که این جمعیت، در صورت ایزوله بودن به آرامی از دو جمعیت دیگر فاصله گرفته و در آینده‌ای دور، منشأ گونه‌ای جدید شود. این نتایج با نتایج Mozaffarian *et al.* (2007) که به تفاوت‌های مورفومتریک و ژنومتریک در این سه جمعیت اشاره کرده‌اند، مطابقت دارد.

بطور کلی خروج هم‌زمان نرها و ماده‌ها در اولین ساعت مرحله تاریکی، بلوغ جنسی زودرس، محدود شدن مدت زمان فراخوانی به حدود دو ساعت، جفت‌گیری حشرات و شروع تخم‌ریزی از همان شب اول خروج از سفیره از ویژگی‌های متمایز کرم گلوگاه انار با دیگر حشرات خانواده پیرالیده می‌باشد.

می‌کنند (Wu *et al.*, 1999; Mozaffarian *et al.*, 2007). به‌عنوان مثال دیده شده است که گونه *Ostrinia nubilalis* در ارتباط با میزبان‌های مختلف، از مخلوط‌های متفاوت فرمون جنسی، وابسته به میزبان و همچنین ساعات فراخوانی متفاوت، استفاده می‌کند و باعث جدایی تولید مثلی، در تیپ‌های میزبانی این حشره شده است در حالی که تفاوت مشخص و معنی داری، در مرفولوژی کلی و ژنیتالیا در آن دیده نمی‌شود (Pelozuelo *et al.*, 2004). تغییر میزبان، همراه با تفاوت‌های ایجاد شده در رفتار جانور می‌تواند به عنوان نیروی محرک برای جدا شدن گونه‌ها به نژادهای میزبانی^۱ و گونه‌های اکولوژیکی سیمپاتریک^۲ باشد (Mozaffarian *et al.*, 2007). بنابراین به‌نظر می‌رسد،

۱. شکل‌گیری دوبیچندگونه از یک گونه اجدادی و در یک ناحیه جغرافیایی.
۲. جمعیت‌هایی از یک گونه که تا حدودی از جمعیت‌های هم گونه خود به علت سازگاری با یک میزبان جدا شده و جدایی تولیدمثلی دارند.

REFERENCES

- Al-Izzi, M. A. J., AlMaliky, S. K. & Jabbo, N. F. (1987). Culturing the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), on an artificial diet. *Journal of Economic Entomology*, 80(1), 277- 280.
- Al-rubeai, H. F. (1987). Growth and development of *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) under laboratory mass-rearing conditions. *Journal of Stored Product Research*, 23, 133-135.
- Arn, H., Esbjerg, P., Bues, R., Tóth, M., Szöcs, G., Guerin, P. & Rauscher, S. (1983). Field attraction of *Agrotis segetum* males in four european countries to mixtures containing three homologous acetates. *Journal of Chemical Ecology*, 9(2), 267-276.
- Baker, T. C., Francke, W., Millar, J. G., Löfstedt, C., Hansson, B., DU, J. W., Phelan, P. L., Vetter, R. S., Youngman, R. & Todd, J. L. (1991). Identification and bioassay of sex pheromone components of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller). *Journal of Chemical Ecology*, 17, 1973-1988.
- Calatayud, P. A., Guénégó, H., Ru, B. L., Silvain, J. F. & Frérot, B. (2007). Temporal patterns of emergence, calling behaviour and oviposition period of the maize stem borer, *Busseola fusca*. (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae). *Annales de la Societe Entomologique de France*, 43(1), 63-68.
- Casimero, V., Tsukuda, R., Nakasuji, E. & Fujisaki, K. (1999). The pre-calling period and starting time of calling by females of three Japanese populations of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied Entomology and Zoology*, 34, 123-127.
- Cox, P. D. (1976a). The influence of photoperiod on the life- cycle of *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Product Research*, 15, 111- 115.
- Cox, P. D. (1976b). The influence of temperature and humidity on the life-cycle of *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Phycitinae). *Journal of Stored Product Research*, 12, 111-117.
- Delisle, J. (1992). Age related changes in the calling behaviour and the attractiveness of obliquebanded leafroller virgin females, *Choristoneura rosaceana*, under different constant and fluctuating temperature conditions. *Entomological Experimentalis et Applicata*, 63, 55-62.
- Delisle, J. & Royer, L. (1994). Changes in the pheromone titer of oblique-banded leafroller, *Choristoneura rosaceana*, virgin females as a function of time of day, age, and temperature. *Journal of Chemical Ecology*, 20, 45-69.
- Dongen, S. V. (2000). Statistical analysis of amounts and ratios in pheromone composition: a mixed model approach. *Entomological Experimentalis et Applicata*, 94, 269-282.
- Fakharzadeh, A. (2002). Rearing of pomegranate neckworm, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) on artificial diet and evaluation of some oviposition stimulants. M. Sc. dissertation, University of Tehran. P.87.

13. Gemeno, C. & Haynes, K. F. (2000). Periodical and age-related variation in chemical communication system of black cutworm moth, *Agrotis ipsilon*. *Journal of Chemical Ecology*, 26, 329–342.
14. Gothilf, S. (1884). Biology of *Spectrobates ceratoniae* on almond in Israel. *Phytoparasitica*, 12, 77- 87.
15. Gothilf, S. (1968). The biology of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* Zeller in Israel. I. Mass culture on artificial diet. *Israel Journal of Entomology*, 3, 109- 118.
16. Howse, P. E., Stevens, I. D. R. & Jones, O. T. (1998). Insect pheromones and their use in pest management, Chapman & Hall, London.
17. Kamimura, M. & Tatsuki, S. (1993). Diel rhythms of calling behavior and pheromone production of oriental tobacco budworm moth, *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Chemical Ecology*, 19, 2953–2963.
18. Kawazu, K. & Tatsuki, S. (2002). Diel rhythms of calling behavior and temporal change in pheromone production of the rice leafroller moth, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Applied Entomology and Zoology*, 37(1), 219-224.
19. Mazor, M. M. & Dunkelblum, E. (2005). Circadian rhythms of sexual behavior and pheromone titers of two closely related moth species *Autographa gamma* and *Cornutiplusia circumflex*. *Journal of Chemical Ecology*, 31, 2153-2168.
20. McNeil, J. N. (1991). Behavioral ecology of pheromone-mediated communication in moths and its importance in the use of pheromone traps. *Annual Review of Entomology*, 36, 407–430.
21. Mehrnejad, M. (2002). Biology of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* new pest on pistachio in Rafsanjan. *Applied Entomology and Phytopathology*, 60, 1-11.
22. Mozaffarian, F., Sarafrazi, A. & Ganbalani, G. N. (2007). Host plant-associated population variation in the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in Iran: A geometric morphometric analysis suggests a nutritional basis. *Journal of Insect Science*, 7, 1536-2442.
23. Navarro, S., Donahaye, E. & Calderon, M. (1986). Development of the carob moth *Spectrobates ceratoniae*, on stored almonds. *Phytoparasitica*, 14, 177- 186.
24. Noldus, L. P. J. J. & Potting, R. P. J. (1990). Calling behavior of *Mamestra brassicae*: Effect of age and photoperiod. *Entomological Experimentalis et Applicata*, 56, 23-30.
25. Pelozuelo, L., Malosse, C., Genestier, G., Guenego, H. & Frerot, B. (2004). Host plant specialization in pheromone strains of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* in France. *Journal of Chemical Ecology*, 30(2), 335-352.
26. Royer, L. & McNeil, J. N. (1991). Changes in calling behaviour and mating success in the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*), caused by relative humidity. *Entomological Experimental et Applicata*, 61, 131-138.
27. Soofbaf, M., Nouri, G., Goldansaz, S. H. & Asghari-zakaria (2007). Effects of age and temperature on calling behavior of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, Zell. (Lepidoptera: Pyralidae) under laboratory conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences Pakistan*, 10(17), 2976-2979.
28. Swier, S. R., Rings, R. W. & Musick, G. J. (1977). Age-related calling behavior of the black cutworm, *Agrotis ipsilon*. *Annals of the Entomological Society of America*, 70, 919-925.
29. Vetter, R. S., Tatevossian, S. & Baker, T. C. (1997). Reproductive behavior of the female carob moth, (Lepidoptera: Pyralidae). *Pan-Pacific Entomologist*, 73, 28-35.
30. Webster, R. P. & Cardé, R. T. (1982). Influence of relative humidity on calling behaviour of the female european corn borer moth (*Ostrinia nubilalis*). *Entomological Experimentalis et Applicata*, 32, 181-185.
31. Wu, W., Cottrell, C. B., Hansson, B. S. & Löfstedt, C. (1999). Comparative study of Pheromone production and response in Swedish and Zimbabwean population of Turnip Moth, *Agrotis Segetum*. *Journal of Chemical Ecology*, 25(1), 177-196.
32. Yousefi, M., Jalali Sendi, J. & Salehi, L. (2004). Biology of the carob moth, *Specterobates ceratoniae* Zeller (Lep.:Pyralidae) in different temperature regiments under laboratory conditions. *Journal of Agricultural Science*, 1, 29-38.
33. Zhao, X. C., Wu, K. M. & Guo, Y. Y. (2007). Comparisons of calling behaviour of different geographical populations of *Helicoverpa armigera*. *Journal of Applied Entomology*, 131, 684-689.