

## مطالعه رفتار جنسی و مقایسه جلب متقابل نرها نسبت به ماده‌ها، در سه جمعیت جغرافیایی کرم گلوگاه انار در شرایط آزمایشگاهی

مهدی ضیاءالدینی<sup>۱\*</sup>، سید حسین گلدان‌ساز<sup>۲</sup>، احمد عاشوری<sup>۳</sup> و علی‌رضا قاسم‌پور<sup>۴</sup>  
۱، دانشجوی سابق دکتری پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و استادیار دانشگاه  
ولی‌عصر<sup>(عج)</sup> رفسنجان، رفسنجان، ۲، ۳، دانشیاران پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج  
۴، دانشیار پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهران  
(تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۲۷ - تاریخ تصویب: ۸۹/۸/۱۹)

### چکیده

کرم گلوگاه انار (*Ectomyelois ceratoniae* (Zeller), (Lep.: Pyralidae) از جمله آفات مهم، چند میزبان، و مهمترین آفت باغ‌های انار، در ایران می‌باشد. داشتن اطلاعات در زمینه رفتارهای تولیدمثلی، پیش‌نیاز مطالعات اکولوژی شیمیایی می‌باشد و فهم کامل این رفتارها، نقش مهمی در بهینه‌کردن استفاده از فرومون‌ها در کنترل آفات دارند. در پروانه‌های شب‌پرواز، نسبت بین ترکیبات فرومونی و رفتارهای مرتبط با فرومون در نواحی مختلف جغرافیایی به دلیل سازش حشرات به شرایط محیطی و میزبان‌های متفاوت می‌تواند تغییر کند. در این تحقیق، رفتارهای جنسی و مقایسه جلب متقابل نرها نسبت به ماده‌های کرم گلوگاه انار، برای سه جمعیت ساوه، کرمان و ارسنجان، درون تونل باد و در شرایط دمایی  $27 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $60 \pm 10$  درصد، شدت نور قرمز  $10$  لوکس و  $0/3$  متر بر ثانیه سرعت باد، مورد بررسی قرار گرفت. از حشرات نر و ماده‌های باکره دو روزه هر جمعیت، به عنوان منبع فرومون، در آزمایش‌ها استفاده گردید. نتایج نشان داد، حشرات کامل ماده از همان شب اول خروج از شفیره، با تولید و ترشح فرومون، قادر به جفت‌گیری بوده و نرها نیز فعالیت جستجوگری خود را آغاز می‌کنند. بیش از  $90$  درصد از نرهای دو روزه، بعد از رهاسازی درون تونل، پرواز می‌کردند. میزان (درصد) نرهای فرود آمده روی منبع فرومون، در بین جمعیت‌ها متفاوت، و به ترتیب برای جمعیت ساوه، ارسنجان و کرمان  $83/3$ ،  $76/9$  و  $85/7$  درصد تعیین شد. آنالیز داده‌ها نشان داد، نرهای هر جمعیت، تمایزی بین ماده جمعیت خود، با افراد ماده دو جمعیت دیگر، قائل نیستند. عدم وجود تفاوت معنی‌دار، در رفتار جستجوگری نرها، و جلب متقابل نرها به ماده‌های هر جمعیت، بیان‌گر این است که، اختلافات ممکن در برخی از ویژگی‌های تولیدمثلی و ساختار ترکیبات فرومونی جمعیت‌های مورد مطالعه، در حال حاضر به اندازه‌ای نیست که قادر باشد، از جلب متقابل بین جمعیت‌ها، در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری کند. فهم رفتارهای جنسی، و شناخت عوامل مؤثر بر این رفتارها (فرومون جنسی) برای کرم گلوگاه انار در ایران، می‌تواند ما را در توسعه پایدار مدیریت تلفیقی این آفت در باغ‌های انار و سایر محصولات یاری رساند.

**واژه‌های کلیدی:** شب‌پره خرنوب، رفتار جستجوگری، تونل باد، فرومون، تنوع جغرافیایی، پیرالیده، انار.

### مقدمه

حشرات بعد از خروج از مرحله شفیرگی و بالغ شدن، جهت بقاء نسل، مجبور به جفت‌گیری و تولیدمثل هستند (Hansson, 1999). در زمان تولیدمثل، حشرات مجموعه‌ای از الگوهای رفتاری را تحت عنوان رفتارهای تولیدمثلی، بروز می‌دهند که در شب‌پره‌ها، در جنس ماده، شامل رفتار فراخوانی (ترشح فرومون جنسی)، و در جنس نر، بروز رفتار جستجوگری جهت پیدا کردن محل ماده، در پاسخ به پیام‌های ارسالی از جنس ماده، می‌باشد، که در نهایت منجر به جلب جنس نر توسط ماده و پذیرش احتمالی آن طی رفتار جفت‌گیری می‌شود (McNeil, 1991; Cardé & Haynes, 2004). وقتی حشره نر بالغ و آماده جهت تولید مثل، برای اولین بار، با فرومون جنسی ماده مواجه می‌شود، اغلب رفتارهایی نظیر چرخیدن به سمت باد، بالا آوردن و حرکت دادن شاخک‌ها و بلند کردن بدن با بالا آوردن پاهای جلویی را از خود نشان می‌دهد و در خلاف جهت باد و به سمت منبع بو پرواز می‌کند (Barrer & Hill, 1977; Matthews & Matthews, 1988; Bell *et al.*, 1995). برای این که دریافت‌کننده پیام، به طرف فرستنده پیام حرکت کند، یک‌سری از رفتارهایی که متأثر از عوامل داخلی و خارجی می‌باشد بایستی به‌کار گرفته شود که از جمله آنها، انتظار حشره برای روبرو شدن با یک فضای فعال<sup>۱</sup> یا جستجو برای یافتن این فضا می‌باشد (Bell *et al.*, 1995; Cardé & Mafra-Neto, 1997). فضای فعال، محدوده‌ای از غلظت ترکیبات فرومونی است که در آن غلظت، عکس‌العمل رفتاری حشره نر را سبب می‌شود. این فضا، تحت تأثیر عوامل مختلفی چون نوع ترکیبات مترشحه و میزان فراریت آنها، سرعت خروج پیام‌های شیمیایی، آستانه رفتاری (توانایی‌های فردی و حساسیت دریافت‌کننده‌های بویایی) و همچنین فاکتورهایی مانند سرعت باد، پوشش گیاهی، دما و طول مدت زمان در معرض پیام‌ها بودن، قرار می‌گیرد. حشره با پرواز کردن خود را درون فضای فعال قرار می‌دهد و با حرکات زیگزاکی، حرکت می‌کند. حرکات زیگزاکی شب‌پره‌های نر، به آنها این فرصت را

می‌دهد تا تغییرات غلظتی مرکز محدوده فرومونی را، به دقت درک کنند و با سنجش تغییرات غلظت فرومون در محدوده فرومونی که منعکس‌کننده فاصله پروانه، از نقطه ترشح فرومون می‌باشد به سمت منبع بو حرکت کنند (Baker, 1989; Cardé & Mafra-Neto, 1997). با نزدیک شدن حشره به منبع بو، یا در انتهای فضای فعال، حشره در محل مناسب فرود آمده و با بهره‌گیری از حواس بینایی و بویایی سعی در پیدا کردن محل دقیق منبع بو و تلاش برای دستیابی به منبع بو (حشره ماده) بعد از توقف یا فرودآمدن دارد. از آنجایی که نوع ترکیبات فرومونی در حشرات خانواده پیرالیده تا حدودی مشابه می‌باشد (۸۸ درصد از این ترکیبات دارای ۱۴-۱۸ کربن با یک تا سه پیوند دوگانه در موقعیت‌های کربن شماره ۷، ۹، ۱۱، ۱۲ یا ۱۳ و با گروه عملکردی آلدئیدی، استاتی یا الکی هستند) (Arn *et al.*, 1992)، این حشرات با تغییر در ساختمان یا نسبت ترکیبات فرومونی (McNeil, 1991; Cardé & Haynes, 2004)، زمان ترشح فرومون توسط حشرات ماده باکره (Pelozuelo *et al.*, 2004)، حساسیت زیاد شاخک نرها به ساختار ترکیبات فرومونی (Wu *et al.*, 1999)، رفتار معاشقه خاص<sup>۲</sup>، و ترشح فرومون افرودیزیاک<sup>۳</sup> (فرومونی که معمولاً توسط جنس نر تولید و سبب آسان‌شدن رفتار معاشقه و آمادگی جنس مخالف برای جفت‌گیری می‌شود) روی بال، از جفت‌گیری بین آنها، ممانعت بعمل می‌آید (Phelan & Baker, 1990; Torre-Bueno *et al.*, 1989). شرایط جغرافیایی، میزبان‌های متفاوت و عوامل طبیعی از جمله عوامل مؤثر بر سیستم ارتباطات فرومونی در یک گونه هستند و باعث ایجاد تغییر رفتاری میان جمعیت‌ها می‌شوند (McNeil & Delisle, 1989; Noldus & Potting, 1990). Arn *et al.* (1983) برای اولین بار اثر تغییرات جغرافیایی در عکس‌العمل حشرات نر، به ترکیبات فرومونی حشرات ماده را، با بررسی چندین جمعیت از شب‌پره *Agrotis segetum* در جمعیت‌های زیمباوه و مقایسه آن با جمعیت سوئیس، گزارش کردند و مشخص گردید که، نسبت ترکیبات

2. Courtship behavior

3. Aphrodisiac pheromones

1. Active space

ترکیبات فرومونی در ارتباطات شیمیایی کرم گلوگاه انار، مسائل کاربردی را آگاهانه‌تر و مؤثرتر خواهد کرد، لذا تحقیق حاضر می‌کوشد تا پاسخ پرسش‌های زیر را جستجو کند:

۱. رفتار جستجوگری و معاشقه در نرها چگونه است؟
۲. آیا رفتار جستجوگری نرها، در مناطق مختلف جغرافیایی متفاوت می‌باشد؟

### مواد و روش‌ها

**انتخاب جمعیت‌های مورد مطالعه و پرورش کرم گلوگاه انار**

جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس بررسی‌های مورفومتریک و ژنومتریک 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، به‌صورت 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 (دمای  $29 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $70 \pm 5$  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 که دو طرف آنها با پارچه توری پوشانده شده بود، منتقل شدند. با توجه به این که شب‌پره‌ها ترجیح می‌دهند روی سطوح ناهموار تخم‌ریزی کنند، فنجان‌ها روی دستمال حوله چهار لایه گلریز، که دارای فرورفتگی‌هایی در سطح هستند، قرار داده شدند. به دلیل کوتاه بودن دوره رشد و نمو جنینی، تخم‌های گذاشته شده توسط پروانه‌ها بعد از سه شب جمع‌آوری و در شرایط ذکر شده در بالا، قرار داده شدند. سپس لاروهای خارج شده از تخم‌ها، به آرامی، به ظروف پرورش (پسته رقم فندق) منتقل شدند. پرورش حشره در طی انجام آزمایش‌ها، و تا ده نسل ادامه داشت.

فرومونی در این دو جمعیت متفاوت می‌باشد و مطالعات مزرعه‌ای نشان داد، عکس‌العمل نرها به ترکیبات فرومونی در نسبت‌های مختلف، اثرات متفاوتی را ایجاد می‌کند. اثر این تغییرات در آزمایشگاه نیز با استفاده از تکنیک الکتروآنتنوگرافی، SSR<sup>۱</sup> و گازکروماتوگرافی نیز به اثبات رسید (Hansson *et al.*, 1990; Wu *et al.*, 1999). فرومون‌ها به دلیل ماهیت غیرسمی، در مدیریت تلفیقی آفات (IPM)، از جایگاه ویژه‌ای برخوردار هستند. برای استفاده از آنها در مدیریت کنترل یک آفت، استخراج، شناسایی و سنتز فرومون آن حشره، ضروری و لازم می‌باشد. روش اختلال در جفت‌گیری، از بین روش‌های مورد استفاده با این ترکیبات، به‌ویژه در کنترل شب‌پره‌های آفت، از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد (Howse, 1998). جهت استفاده مؤثرتر از ترکیبات فرومونی، مطالعه زیست‌شناسی حشره، مرتبط با رفتارهای تولیدمثلی از قبیل رفتار تولید و ترشح فرومون توسط ماده‌ها و رفتار جستجوگری نرها، ضروری و مورد نیاز هستند (McNeil, 1991). کرم گلوگاه انار (*E. ceratoniae*) از جمله آفات مهم و چند میزبان روی برخی محصولات باغی و انباری در خاورمیانه، نواحی مدیترانه‌ای و آمریکا می‌باشد و همه ساله خسارت قابل توجهی به بار می‌آورد (Al-rubeai, 1987; Baker *et al.*, 1991; Nay 2006). از آنجایی که این حشره، به‌عنوان یک آفت کلیدی در باغ‌های میوه انار در ایران و باغ‌های خرما در کشورهای نظیر آمریکا و تونس (Navarro *et al.*, 1986; Nay, 2006) 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 رفتار جستجوگری نرها، انجام نشده است. مطالعات انجام شده، مربوط به رفتار معاشقه کرم گلوگاه انار (Phelan & Baker, 1990)، و اثر سیکل روشنایی و سن (Vetter *et al.*, 1997)، درجه حرارت (Soofbaf *et al.*, 2007) و جمعیت‌های جغرافیایی (Ziaaddini *et al.*, 2010) روی رفتار فراخوانی ماده‌ها بوده است. از آنجایی که شناخت نقش

1. Single Sensilla Recording (SSR)

## دسترسی به حشرات ماده باکره و نرهای جفت‌گیری نکرده

روند خروج حشرات نر و ماده از درون پیله شفیرگی، از یک سیکل دوره‌ای تبعیت می‌کند و نرها و ماده‌ها به صورت هم‌زمان و در اولین ساعت تاریکی، از شفیره خارج می‌شوند. این در حالی است که جفت‌گیری حشرات در آخرین ساعت‌های تاریکی انجام می‌شود (Ziaaddini *et al.*, 2010). لذا، جهت آماده کردن حشرات مورد نیاز (ماده‌ها و نرهای جفت‌گیری نکرده)، برای مطالعات رفتاری، حشرات کامل یک ساعت بعد از شروع دوره تاریکی شکار، و بعد از تعیین جنسیت آنها با مقایسه انتهای شکم، به مدت یک روز در همان اتاقک رشد نگاه‌داشته شدند و در روز بعد و یک ساعت قبل از شروع دوره تاریکی، به دو اتاق مجزا (به تفکیک جنسیت) و با شرایط دمایی یکسان، منتقل شدند و در مطالعات مورد استفاده قرار گرفتند.

### بررسی رفتار فراخوانی ماده‌ها

با توجه به استفاده از حشرات ماده باکره فراخوان، به عنوان منبع فرمون در آزمایش‌ها، تعدادی از حشرات ماده باکره دو روزه از هر جمعیت، درون ظروف شفاف پلاستیکی به قطر ۴ و ارتفاع ۷ سانتی‌متر که سطح بالایی آن با تور سیمی مسدود شده بود، در اتاقی مجزا از اتاق تونل باد و با شرایط مشابه قرار داده شدند، تا از در معرض قرار گرفتن نرها با فرمون، قبل از انجام آزمایش، جلوگیری شود. حشرات ماده کرم گلوگاه انار در حالت فراخوانی ساکن بوده و این رفتار را به‌صورت‌های باز کردن بندهای شکمی از سطح پشتی و خم کردن شکم رو به بالا نشان می‌دهد و در این حالت تخم‌ریز از بندهای انتهایی شکم به صورت پی‌درپی بیرون آورده می‌شود و معمولاً شاخک‌ها به سمت جلو هستند (Ziaaddini *et al.*, 2010). با توجه به انجام آزمایش‌ها در دوره تاریکی، برای مشاهده ماده‌های فراخوان، از چراغ قوه‌ای که منبع نوری آن با قطعاتی از سلوفان قرمز پوشیده شده بود، استفاده شد. نور قرمز چراغ قوه هیچ گونه اثری در رفتار حشره نداشت. از آنجایی که ترشح فرمون در ماده‌های جمعیت ارسنجان دیرتر از دو جمعیت کرمان و ساوه می‌باشد (Ziaaddini *et al.*, 2010)، دوره تاریکی برای این جمعیت، ۳۰ دقیقه زودتر

آغاز می‌گردید. از این ماده‌ها به‌عنوان منبع فرمون در آزمایش‌های رفتاری درون تونل باد استفاده گردید.

### بررسی رفتار جستجوگری نرها و آزمایش پاسخ رفتاری حشرات نر یک جمعیت به ماده‌های جمعیت‌های دیگر

این آزمایش‌ها، درون تونل بادی با مشخصات طول تونل ۱/۵، عرض و ارتفاع ۰/۵ متر و از جنس Plexiglass انجام شد. تونل باد مورد استفاده در این آزمایش، شبیه تونل باد استفاده شده توسط Miller & Roelofs (1978) بود. تونل باد، در اتاقی با شرایط دمایی  $1 \pm 27$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $10 \pm 60$  درصد، قرار داده شد. اتاق زیست‌سنجی با دو عدد لامپ ۵ وات با نور قرمز، که شدت نوری معادل ۱۰ لوکس داشتند روشن گردید. سرعت باد درون تونل که توسط یک فن به قطر ۳۰ سانتی‌متر ایجاد می‌گردید، ۰/۳ متر بر ثانیه بود. جهت انجام آزمایش‌ها، از حشرات نر و ماده دو روزه جفت‌گیری نکرده، استفاده گردید. نرها و ماده‌ها از هر جمعیت و به تعداد کافی، به صورت انفرادی، درون ظروف استوانه‌ای شفاف به قطر ۴ و ارتفاع ۷ سانتی‌متر که دو طرف آن با تور سیمی مسدود شده بود، در دو اتاق مجزا قرار داده شدند. حشرات نر، جهت خو گرفتن با شرایط اتاق تونل باد، یک ساعت قبل از شروع دوره تاریکی، به آنجا منتقل شدند. آزمایش‌ها در ساعات ششم تا هشتم از دوره تاریکی، و در زمانی که بیشترین فعالیت جفت‌گیری آفت مشاهده می‌شود (Ziaaddini *et al.*, 2010)، انجام گردید. برای انجام آزمایش، از هر جمعیت، یکی از ماده‌های در حال فراخوانی انتخاب و روی سکویی شیشه‌ای، درون تونل که ۱۵ سانتی‌متر بالاتر از کف تونل بود، به‌صورت خطی و با فاصله ۱۵ سانتی‌متر از هم و در معرض جریان باد قرار داده شدند. رفتار فراخوانی ماده‌های درون تونل، هر لحظه بررسی، و زمانی که هر سه ماده در حال ترشح فرمون بودند، نرها به صورت انفرادی و به فاصله ۱/۲ متر دورتر از حشرات ماده، و روی سکویی که ۱۵ سانتی‌متر بالاتر از کف تونل قرار داشت، رهاسازی شدند. سپس زمان پاسخ‌گویی حشرات نر درون تونل باد، در ۵ مرحله شامل پرواز، حرکت در خلاف جهت باد و تا ۵۰ سانتی‌متر دورتر از محل رهاسازی، پرواز تا ۱۰ سانتی‌متر مانده به محل منبع فرمون، نشستن روی منبع فرمون و تلاش برای

روزه از یک جمعیت مشخص، به هر قفس، اضافه گردید. قفس‌ها، در اطاق پرورش و در شرایط دمایی  $29 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $70 \pm 10$  درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و ۱۰ لوکس شدت نور (نور قرمز) قرار داده شدند. حشرات به مدت یک شب در این قفس‌ها نگهداری و روز بعد، در اولین ساعات‌های روشنایی، ماده‌ها جهت تعیین وضعیت جفت‌گیری، پس از شناسایی نوع جمعیت بر اساس رنگ لاک، درون ظروف شفاف پلاستیکی، به قطر ۴ و ارتفاع ۷ سانتی‌متر، منتقل شدند و براساس رنگ تخم‌های گذاشته شده وضعیت جفت‌گیری آنها مشخص گردید (تخم‌های بارور نارنجی و غیر بارور سفید رنگ هستند). هر روز این آزمایش در سه تکرار، و در مجموع ۴۵ تکرار برای هر جمعیت، انجام شد و در پایان اطلاعات مربوطه، ثبت و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

#### بررسی رفتار معاشقه

رفتار معاشقه حشرات نر کرم گلوگاه انار در مقابل حشرات ماده فراخوان، در دو مرحله مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله اول، تلاش حشرات نر برای دستیابی به حشرات ماده محبوس که با چرخیدن و به هم زدن بال‌ها در اطراف ماده می‌باشد، بررسی گردید (تلاش برای جفت‌گیری CA). در مرحله بعد رفتار معاشقه کرم گلوگاه انار فقط برای جمعیت ارسنجان و در زمانی که ماده‌ها محبوس نبودند و می‌توانستند با نرها جفت‌گیری کنند، مشاهده گردید. ماده‌های فراخوان درون ظروف استوانه‌ای شفاف به قطر ۴ و ارتفاع ۷ سانتی‌متر که دو طرف آن با تور سیمی مسدود شده بود، محبوس بودند. حشرات ماده در زمان فراخوانی ثابت هستند و پروازی ندارند. برای مطالعه، ابتدا حشراتی که در ته ظرف و روی توری نشسته و فراخوانی داشتند انتخاب و به آرامی به تونل باد منتقل شدند. در تونل باد به آرامی ظرف استوانه‌ای برداشته شد و سپس حشرات نر درون تونل باد رهاسازی شدند. با توجه به عدم وجود امکانات دستگاهی برای ثبت رفتار نرها و ماده‌ها در ۱۰ لوکس شدت نور (نور قرمز)، رفتار این حشرات به‌طور دقیق مشاهده و با منابع موجود مطابقت داده شد.

#### تجزیه و تحلیل آماری

به دلیل توزیع غیرنرمال خطای داده‌های مربوط به مراحل پاسخ‌گویی حشرات نر درون تونل، داده‌ها برای

جفت‌گیری، به مدت سه دقیقه مشاهده و ثبت گردید. هر حشره نر فقط یک‌بار در آزمایش‌ها استفاده شد. چنانچه حشره‌ای بعد از گذشت ۳ دقیقه، هیچ عکس‌عملی نشان نداد، به‌عنوان عدم پاسخ<sup>۱</sup> ثبت می‌گردید. تمامی حشرات بعد از عکس‌عمل، توسط یک جارو برقی شارژی، از درون تونل حذف و از بین برده می‌شدند. بین هر رهاسازی، ماده‌های فراخوان بررسی می‌شدند و چنانچه ماده‌ای، برای چند لحظه فعالیت فراخوانی نداشت، با ماده‌های دیگر از همان جمعیت، جایگزین می‌گردید. به دلیل اضطراب حرکتی که سبب می‌شد تا فعالیت فراخوانی قطع شود، به مدت ۵-۱۰ دقیقه، به ماده درون تونل فرصت داده می‌شد، تا دوباره فعالیت فراخوانی را شروع نماید. برای جلوگیری از اثرخطای احتمالی، موقعیت حشرات ماده درون تونل بر جلب حشرات نر، موقعیت آنها بعد از آزمایش چند نر و با سیستم گردشی جابجا می‌شد. ظروف محتوی ماده‌ها در پایان آزمایش، با آب داغ شسته می‌شد تا در آزمایش روز بعد، از اثرات سینرژیستی آن جلوگیری شود. تونل باد نیز، هر روز بعد از پایان آزمایش با الکل ۷۵ درصد تمیز می‌شد. جهت شناسایی راحت‌تر جمعیت‌ها، هر جمعیت با حروف A, K و S به ترتیب برای جمعیت ارسنجان، کرمان و ساوه علامت‌گذاری شده بود. این آزمایش به مدت یک‌ماه ادامه داشت و هر روز ۳-۴ حشره از هر جمعیت و در مجموع ۱۵۹ حشره نر درون تونل باد رهاسازی و اطلاعات مربوطه ثبت گردید.

#### بررسی رفتار ترجیح جفت‌گیری حشرات نر هر جمعیت با ماده‌های جمعیت دیگر درون قفس

به منظور تعیین این که آیا نر یک جمعیت، ماده همان جمعیت را به ماده‌های جمعیت دیگر ترجیح می‌دهد یا خیر، این آزمایش به مدت ۱۵ روز و درون ۹ قفس به ابعاد  $50 \times 50$  و بلندی ۹۰ سانتی‌متر، انجام شد. حشرات ماده دو روزه از هر جمعیت، بعد از بی‌هوش شدن به وسیله دی‌اکسیدکربن، توسط لاک‌های قرمز، زرد و آبی علامت‌گذاری (Hagler & Jackson 2001) و یک عدد حشره ماده از هر جمعیت و در مجموع سه حشره ماده، درون قفس رهاسازی شد. سپس یک نر دو

1. No response

داشتند، به طوری که این حرکت تا نیمه‌های تونل ادامه یافت. زمان ثبت شده برای این مرحله، یعنی از زمان شروع پرواز تا طی کردن نصف مسیر پروازی درون تونل (UF)، برای سه جمعیت ساوه، کرمان و ارسنجان، به ترتیب  $10/5 \pm 1/1$  (N=38)،  $9/29 \pm 1/1$  (N=40) و  $8/6 \pm 1/4$  (N=54) ثانیه، تعیین گردید (شکل ۱). تجزیه آماری داده‌ها نشان داد، بین سه جمعیت در این مرحله نیز، تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود ( $F=0/6$ ،  $P=0/55$ ).

با گذشتن حشره از نیمه تونل و با نزدیک شدن حشره به منبع بو، زیگزاک‌ها باریک و بعد از آن حرکت حشره نر سریع شده و در مدت کوتاهی خود را به نزدیکی حشره ماده می‌رساند. مطالعات نشان داد، در این مرحله، باد نقش مهمی در هدایت حشره نر به سمت ماده دارد. در سرعت بالای باد، حشره نر قادر به پیدا کردن محل ماده نمی‌باشد، ولی در زمانی که هیچ بادی وجود نداشت، حشرات نر قادر بودند محل حشره ماده درون تونل را تشخیص دهند، اما زمان زیادی را صرف پیدا کردن محل حشره ماده می‌کردند. مناسب‌ترین سرعت برای عکس‌العمل حشره نر براساس مطالعات مقدماتی،  $0/3$  متر بر ثانیه تعیین گردید. در این زمان حشره نر که به منبع ترشح‌کننده بو نزدیک شده است، در نزدیکی منبع بو پرواز درجا<sup>۱</sup> انجام داده و محل دقیق بو را شناسایی می‌کند و در آنجا فرود می‌آید. طی کردن مسیر باقی‌مانده تا نشستن روی منبع بو (LA)، به نسبت آهسته و برای سه جمعیت ساوه، کرمان و ارسنجان، به ترتیب  $5/2 \pm 1/2$  (N=33) و  $10/7 \pm 2/3$  (N=28) و  $5/2 \pm 0/8$  (N=48) ثانیه تعیین گردید (شکل ۱). مدت زمان فرود در دو جمعیت ساوه و ارسنجان، نسبت به جمعیت کرمان، کمتر و دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشد ( $F=3/38$ ،  $P=0/04$ ). درصدی از نرهای ساوه، ارسنجان و کرمان که با منبع فرمون تماس پیدا کردند به ترتیب  $83/3$ ،  $76/9$  و  $85/7$  درصد تعیین شد (شکل ۲). تجزیه آماری داده‌ها براساس آزمون کای‌مربع نشان داد، نرهای هر جمعیت، تمایزی بین ماده جمعیت خود، با ماده دو جمعیت دیگر قائل نیستند. به عبارت دیگر عکس‌العمل مشابهی به دو جمعیت دیگر نشان دادند ( $P=0/49$ ،  $X^2=3/44$ ) (شکل ۳).

تثبیت واریانس با نرم‌افزار MiniTab و بر اساس نوع صفت، به لگاریتم طبیعی، لگاریتم برمبنای ۱۰ یا ریشه دوم تبدیل شدند، سپس میانگین داده‌های مربوطه، بر اساس آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و از طریق آزمون توکی، و پاسخ نرها به ماده‌های باکره فراخوان درون تونل باد و ماده‌های درون قفس، بر اساس آزمون کای مربع ( $X^2$ ) و با نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه آماری شدند.

## نتایج

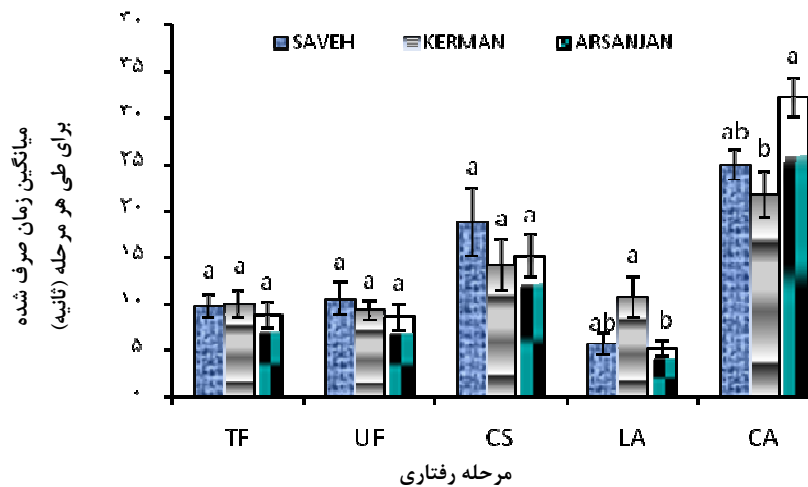
نتایج مربوط به رفتارهای جنسی کرم گلوگاه انار، در چهار بخش قابل توصیف می‌باشد:

### رفتار فراخوانی

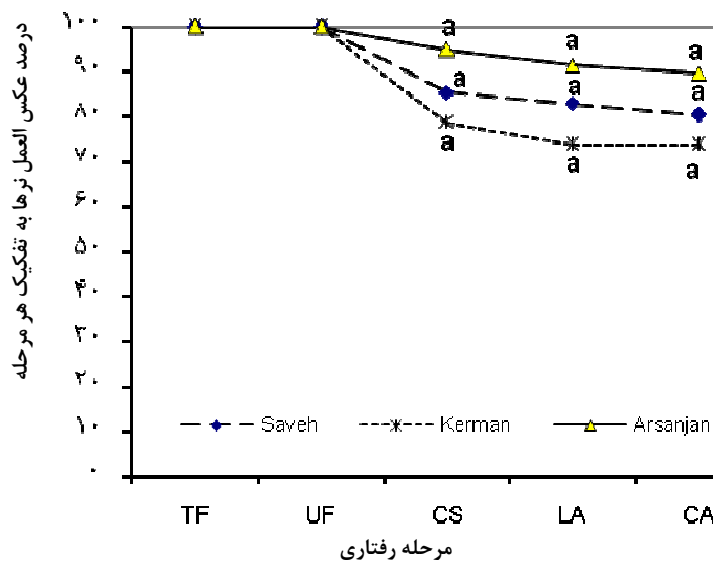
این رفتار، همراه با ترشح ترکیبات فرمونی توسط حشرات ماده، برای جلب نرها بوده و شامل چندین مرحله می‌باشد که در آن ماده‌ها، یک حالت کاملاً مشخص به خود می‌گیرند. صفات مربوط به این رفتار در مورد کرم گلوگاه انار توسط Ziaaddini et al. (2010) توصیف شده است.

### رفتار جستجوگری

شب‌پره‌های نر برای تعیین محل حشرات ماده، بیشتر از فرمون‌ها استفاده می‌کنند. مطالعات تونل باد نشان داد، به محض قرار گرفتن حشره نر درون تونل، که در آن حشرات ماده باکره، در حال فراخوانی بودند، رفتار جستجوگری نرها آغاز می‌شود. نرها این رفتار را به صورت تغییر جهت به سمت باد، بالا آوردن شاخک‌ها و پاهای و حرکت شاخک‌ها، نشان می‌دهند. از تعداد حشره نر رهاسازی شده درون تونل، برای سه جمعیت ساوه، کرمان و ارسنجان، که به ترتیب ۴۹، ۴۸ و ۶۲ عدد بود به ترتیب جمعیت، تعداد ۳۸، ۴۰ و ۵۴ عدد از آنها، پرواز کرده و با حرکات زیگزاک یا ماریپچ، سعی در یافتن محل دقیق حشره ماده داشتند. میانگین مدت زمانی که حشرات در حال جهت‌یابی بودند، تا شروع پرواز (TF)، برای سه جمعیت ساوه، کرمان و ارسنجان، به ترتیب  $9/7 \pm 1/3$ ،  $10 \pm 1/5$  و  $8/8 \pm 1/4$  ثانیه، تعیین گردید (شکل ۱). تجزیه آماری داده‌ها نشان داد، بین سه جمعیت، در این مرحله تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود ( $F=2/17$ ،  $P=0/12$ ). در انتهای تونل باد که غلظت فرمون به دلیل فاصله داشتن از منبع بو، نسبت به ابتدای تونل کمتر است، حشرات زیگزاک‌های عریض



شکل ۱- میانگین مدت زمان صرف شده برای هر مرحله از رفتار جستجوگری نرهای کرم گلوگاه انار در پاسخ به فرومون طبیعی ماده‌های فراخوان در سه جمعیت مورد مطالعه درون تونل باد (TF): جهت‌یابی تا پرواز، UF: حرکت در خلاف جهت باد و تا ۵۰ سانتی‌متر دورتر از محل رهاسازی، CS: پرواز تا ۱۰ سانتی‌متر مانده به محل منبع فرومون، LA: نشستن روی منبع فرومون و CA: تلاش برای جفت‌گیری

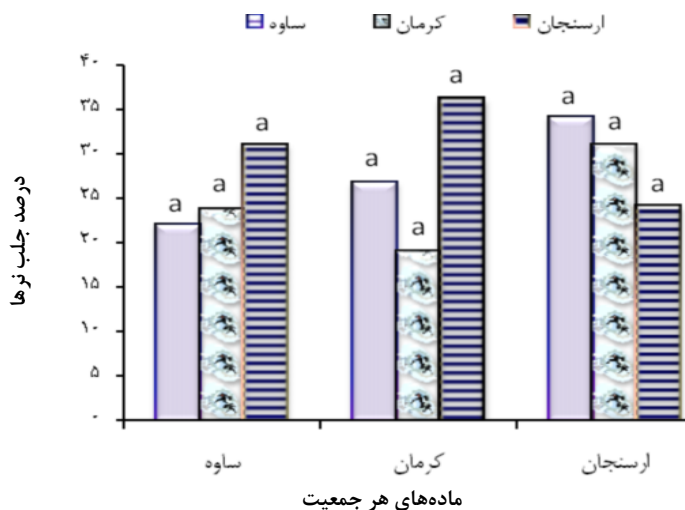


شکل ۲- درصد عکس‌العمل نرها، به ماده‌های باکره در حال فراخوانی، به تفکیک هر مرحله برای هر جمعیت کرم گلوگاه انار

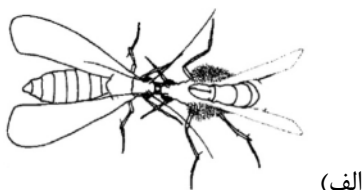
(TF): جهت‌یابی تا پرواز، UF: حرکت در خلاف جهت باد و تا ۵۰ سانتی‌متر دورتر از محل رهاسازی، CS: پرواز تا ۱۰ سانتی‌متر مانده به محل منبع فرومون، LA: نشستن روی منبع فرومون و CA: تلاش برای جفت‌گیری

آغاز می‌کند. مطالعات نشان داد، هم‌زمان با نزدیک شدن حشره نر به ماده، ماده فعالیت فراخوانی را قطع و شکم را پائین آورده و به سمت نر حرکت می‌کند (مرحله نزدیک شدن نر و ماده به هم). در زمانی که ماده‌ها محبوس بودند، حشره نر با بال زدن پی‌درپی و چرخش سریع به دور خود، رفتار جلب جنس ماده تلاش می‌کرد.

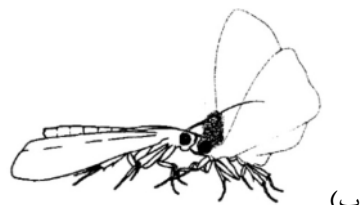
بعد از فرود آمدن حشره نر در نزدیکی حشره ماده، تلاش برای دستیابی به حشره ماده (CA) آغاز می‌شود. حشره نر در این حالت، بال‌ها را عمود بر بدن باز می‌کند. هم‌زمان موها یا فلس‌های بویایی انتهای شکم به صورت عمود بر شکم، کاملاً نمایان می‌شوند. حشره نر با بال زدن پی‌درپی و چرخش سریع به دور خود، رفتار معاشقه را



شکل ۳- درصد جلب نرها به ماده‌های باکره در حال فراخوانی، در سه جمعیت مورد مطالعه از کرم گلوگاه انار

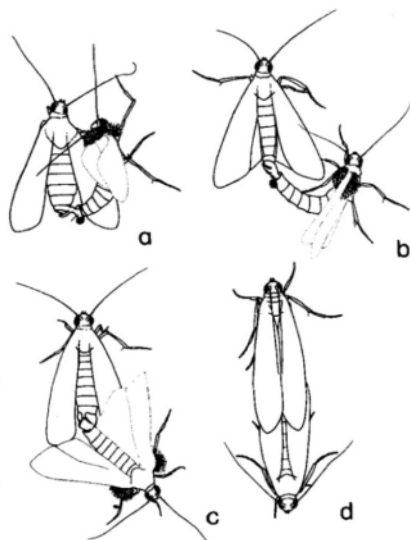


(الف)



(ب)

شکل ۴- حالت سر به سر (Head to Head) در رفتار معاشقه اقتباس از (Barrer & Hill, 1977)



شکل ۵- چرخش حشره نر به دور حشره ماده و تلاش برای جفت‌گیری اقتباس از (Barrer & Hill, 1977)

مدت زمان ثبت شده برای این مرحله (CA) درون تونل باد برای سه جمعیت ساوه، کرمان و ارسنجان، به ترتیب  $24/9 \pm 1/6$  (N=33)،  $21/7 \pm 2/5$  (N=25) و  $32/2 \pm 2/1$  (N=46) ثانیه تعیین گردید (شکل ۱). مدت زمان تلاش برای جفت‌گیری، در جمعیت ارسنجان بیشتر، و تفاوت معنی‌داری با دو جمعیت کرمان و ساوه نشان داد ( $F=7/02, P=0/0014$ ). در زمانی که ماده‌ها محبوس نبودند، در این حالت نر و ماده، به طرف یکدیگر حرکت کردند و در وضعیت سر به سر<sup>۱</sup> یا روبروی هم قرار گرفتند (شکل ۴). سپس حشره نر، شکم را به سمت بالا خم کرده و همراه با شاخک‌ها، روی سر و قفس‌سینه ماده، قرار داد. سپس نرها با بالا آوردن شکم از سطح پشتی و چرخش به دور ماده برای چندین مرتبه، و باز کردن انبرک‌های انتهایی شکم، سعی در چسباندن اندام‌های تناسلی، به اندام‌های تناسلی ماده می‌کنند (شکل ۵).

از کل ۲۹ حشره استفاده شده برای رفتار معاشقه مربوط به جمعیت ارسنجان، ۶۵/۵ درصد، موفق به اتصال اندام‌های تناسلی و انجام جفت‌گیری شدند. میانگین مدت زمان این مرحله از رفتار جنسی،  $9/2 \pm 2/3$  ثانیه تعیین گردید.

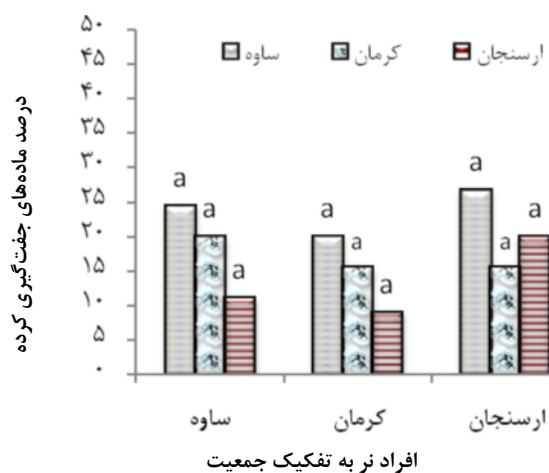
1. Head to head



## رفتار جفت‌گیری

رفتن انرژی جلوگیری نمایند. شب‌پره‌های نر و ماده، با نشان دادن استراتژی تولیدمثلی که دربرگیرنده مجموعه‌ای از رفتارها در مراحل قبل از جفت‌گیری، حین جفت‌گیری و بعد از جفت‌گیری می‌باشد، سعی در کاهش هدررفت انرژی و به حداکثر رساندن میزان تولیدمثل دارند. شب‌پره‌های زیرخانواده Phycitinae با ترشح فرومون توسط ماده‌های باکره در یک زمان کوتاه و خاص (Pelozuelo *et al.*, 2004)، حساسیت فوق‌العاده زیاد شاخک نرها به ساختار ترکیبات فرومونی ماده‌ها (Wu *et al.*, 1999) و با داشتن رفتار معاشقه خاص، از هدر رفتن گامت‌ها جلوگیری می‌کنند (Phelan & Baker 1990). هنگامی که در یک منطقه، دو گونه نزدیک به هم وجود نداشته باشد، رقص‌های مربوط به رفتار معاشقه و دیگر عوامل مؤثر در جفت‌گیری حالتی معمول، غیر اختصاصی و متغیر دارد اما زمانی که در محلی گونه‌های نزدیک به هم زندگی می‌کنند، غیراختصاصی بودن این عوامل و رفتارها، سبب ایجاد گونه‌های هیبرید شده و باعث کاهش قدرت زادآوری و سبب انهدام گونه‌ها می‌شود (Hillier & Vickers, 2004; Eizaguirre *et al.*, 2009). وجود تفاوت در برخی از ویژگی‌های رفتار جستجوگری نرها در این مطالعه، همراه با تفاوت‌های مشاهده شده در رفتار فراخوانی ماده‌ها بعد از ۴ نسل پرورش جمعیت‌های مورد مطالعه در شرایط یکسان (جمعیت‌های ساوه، چترود کرمان و ارسنجان)، (Ziaaddini *et al.*, 2010) و تفاوت‌های مورفومتریک و ژئومتریک دیده شده (Mozaffarian *et al.*, 2007). نشان‌دهنده بروز تغییرات ژنتیکی در این جمعیت‌ها می‌باشد. این تغییرات به دلیل انتخاب طبیعی و در اثر سازش با شرایط محیطی، ایجاد شده‌اند و از نسلی به نسل دیگر نیز منتقل می‌شوند (Girling & Cardé, 2006). از طرفی عدم وجود تفاوت در ترجیح انتخاب ماده‌ها، توسط نرهای همان جمعیت، بیان‌گر این است که اختلافات دیده شده در برخی از ویژگی‌های تولیدمثلی، در حال حاضر به اندازه‌ای نیست که قادر باشد، از جلب متقابل بین جمعیت‌ها جلوگیری کند. به عبارت دیگر نوع ترکیبات فرومونی و نسبت بین آنها در سه جمعیت یکسان بوده و یا این که اختلافات جزئی احتمالی، نتوانسته مانع از جفت‌گیری

مرحله معاشقه کوتاه و زودگذر بوده و نر در کمتر از ۱۰ ثانیه، به ماده چسبیده، و در زاویه ۱۸۰ درجه نسبت به هم، قرار می‌گیرند (شکل ۵). در این حالت شاخک‌ها در زیر بال‌ها قرار گرفته، و حشره نر، بال‌ها را روی بال‌های حشره ماده قرار داده و برای مدت به نسبت طولانی به هم متصل می‌مانند. مطالعات نشان داد که حشرات نر، از همان شب اول خروج از شفیره، قادر به جفت‌گیری با ماده‌ها هستند. عمل جفت‌گیری فقط در نیمه دوم تاریکی و بیشتر در دو ساعت قبل از دوره روشنایی و ساعت آخر تاریکی می‌باشد. آزمایش ترجیح جفت‌گیری نرهای یک جمعیت با ماده‌های دو جمعیت دیگر درون قفس، نتایج آزمایش جلب متقابل نرها نسبت به ماده‌ها، درون تونل باد را، تأیید کرد و نشان داد که در این مرحله نیز، نرهای هر جمعیت، تمایزی بین ماده جمعیت خود با ماده دو جمعیت دیگر قائل نیستند ( $\chi^2=0/19$ ,  $P=0/1$ ) اگرچه درصد ماده‌های جفت‌گیری کرده در جمعیت ساوه، نسبت به دو جمعیت کرمان و ارسنجان، بیشتر بود (شکل ۶).



شکل ۶- درصد جفت‌گیری نرها با ماده‌ها به تفکیک جمعیت‌های مورد مطالعه

## بحث

حشرات برای این که بتوانند موفقیت‌های اکولوژیکی و تکاملی مطلوبی را بدست بیاورند، باید توانایی این را داشته باشند که رفتارهای جنسی را با توجه به پدیده‌های فیزیولوژیکی و محیطی کنترل کنند تا از هدر

مهمی در بهینه‌کردن استفاده از فرومون‌ها در استراتژی کنترل آفات، با روش به‌دام اندازی و اختلال در جفت‌گیری دارند. با توجه به عدم وجود تفاوت‌های بارز و معنی‌دار در رفتار جستجوگری نرهای سه جمعیت مورد مطالعه کرم گلوگاه انار که بیشترین تفاوت را در خصوصیات مورفومتریک و ژئومتریکی داشته‌اند (Mozaffarian *et al.*, 2007)، چنین استنباط می‌شود که رفتار جستجوگری نرها که در استراتژی کنترل آفت می‌تواند نقش مهمی داشته باشد، در جمعیت‌های ایران مشابه بوده و لذا می‌توان از نتایج حاصله، در برنامه‌های تحقیقاتی و مدیریتی آفت با استفاده از پیام‌رسان شیمیایی بهره برد.

بین جمعیت‌ها شود (Phelan & Baker, 1986; Gemeno *et al.*, 2000). تفاوت‌های جزئی مشاهده شده نظیر جفت‌گیری بیشتر نرها با ماده‌های جمعیت ساوه، و جفت‌گیری کمتر با جمعیت ارسنجان، می‌تواند مربوط به فعالیت زودتر فراخوانی در جمعیت ساوه، و شروع دیرتر آن در جمعیت ارسنجان باشد (Ziaaddini *et al.*, 2010). به‌طور کلی عدم کاهش قاطع و مؤثر در خسارت کرم گلوگاه انار، توسط روش‌های موجود و به دلیل اهمیت اقتصادی محصول انار در ایران، استفاده از راه‌کارهای دیگر کنترل، از جمله استفاده از فرومون‌ها به تنهایی و یا توأم با دیگر روش‌ها، از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. فهم کامل رفتارهای جنسی، نقش

## REFERENCES

1. 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.
2. Arn, H., Toth, M. & Priesner, E. (1992). *List of sex pheromones of Lepidoptera and related attractants*. Retrieved November 15, 2009, from: <http://www-pherolist.slu.se/pherolist.php> & <http://www.nysaes.cornell.edu/pheronet/cpds.html>.
3. 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, 267-276.
4. Baker, T. C. (1989). Sex pheromone communication in the Lepidoptera: New research progress. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 45, 248-262.
5. Baker, T. C. & Cardé, R. T. (1984). Techniques for behavioral bioassays. In H. E. Hummel, and T. A. Miller, (Eds.), *Techniques in pheromone research*, (pp. 45-74). Springer-Verlag, New York.
6. 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.
7. Barrer, P. & Hill, R. (1977). Some aspects of the courtship behaviour of *Ephestia cautella* (Walker) (Lepidoptera: Phycitidae). *Australian Journal of Entomology*, 16, 301-312.
8. Bell, W., Kipp, L. & Collins, R. (1995). The role of chemoorientation in search behavior. In R. T. Cardé, and W. J. Bell, (Eds.), *Chemical ecology of insects 2*, (pp. 105-152). Chapman and Hall, London-New York.
9. Cardé, R. T. & Mafrá-Neto, A. (1997). *Mechanisms of flight of male moths to pheromone*. Chapman and Hall, New York.
10. Cardé, R. T. & Haynes, K. F. (2004). Structure of the pheromone communication channel in moths. In T. Ring, R. T. Cardé, and J. G. Millar, (Eds.), *Advances in insect chemical ecology*, (pp. 283-332). Cambridge University Press, New York.
11. Eizaguirre, M., Lopez, C., Sans, A., Bosch, D. & Albajes, R. (2009). Response of *Mythimna unipuncta* males to components of the *Sesamia nonagrioides* pheromone. *Journal of chemical Ecology*, 35, 779-784.
12. Gemeno, C., Lutfallah, A. F. & Haynes, K. F. (2000). Pheromone blend variation and cross-attraction among populations of the black cutworm moth (Lepidoptera: Noctuidae) *Annals of the Entomological Society of America*, 93, 1322-1328.
13. Girling, R. D. & Cardé, R. T. (2006). Analysis of the courtship behavior of the navel orangeworm, *Amyelois transitella* (Walker) (Lepidoptera : Pyralidae), with a commentary on methods for the analysis of sequences of behavioral transitions. *Journal of Insect Behavior*, 19, 497-520.
14. Grant, G. G. (1976). Courtship behavior of a phycitid moth, *Vitula edmandsae*. *Annals of the Entomological Society of America*, 69, 445-449.
15. Hagler, J. & Jackson, C. (2001). Methods for marking insect: Current techniques and future prospects. *Annual Review of Entomology*, 46, 511-543.

16. Hansson, B. S. (1999). *Insect olfaction*. Springer Verlag.
17. Hansson, B. S., Toth, M., Löfstedt, C., Szocs, G., Subchev, M. & Lofqvist, J. (1990). Pheromone variation among eastern European and western Asian populations of the turnip moth *Agrotis segetum*. *Journal of Chemical Ecology*, 16, 1611-1622.
18. Hillier, N. K. & Vickers, N. J. (2004). The role of heliothine hairpencil compounds in female *Heliothis virescens* (Lepidoptera : Noctuidae) behavior and mate acceptance. *Chemical Senses*, 29, 499-511.
19. Howse, P. E. (1998). Practical application of pheromones and other semiochemicals. In P. E. Howse, I. D. R. Stevens, and O. T. Jones, (Eds.), *Insect Pheromones and their use in pest management*, (pp.1-130). Chapman and Hall, London.
20. Löfstedt, C. (1990). Population variation and genetic control of pheromone communication systems in moths. *Entomological Experimental et Applicata*, 54, 199-218.
21. Lelito, J. P., Myrick, A. J. & Baker, T. C. (2008). Interspecific pheromone plume interference among sympatric heliothine moths: a wind tunnel test using live, calling females. *Journal of Chemical Ecology*, 34, 725-733.
22. Linn, C. E. J. & Roelofs, W. L. (1995). Pheromone Communication in moths and its role in the speciation process. In D. M. Lambert, and H. G. Spencer, (Eds.), *Speciation and the recognition concept: Theory and Application*, (pp. 263-300). Johns Hopkins University Press, London.
23. Matthews, R. W. & Matthews, J. R. (1988 ). *Insect behavior*. John Wiley & Sons. New York.
24. 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.
25. McNeil, J. N. & Delisle, J. E. (1989). Are host plants important in pheromone mediated mating systems of Lepidoptera? *Experientia*, 45, 236-240.
26. Miller, L. R. & Roelofs, W. L. (1978). Sustained-flight tunnel for measuring insect responses to wind-borne sex pheromones. *Journal of Chemical Ecology*, 4, 187-198.
27. 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.
28. Navarro, S., Donahaye, E. & Calderon, M. (1986). Development of the carob moth *Spectrobates ceratoniae*, on stored almonds. *Phytoparasitica*, 14, 177-186.
29. Nay, J. E. (2006). *Biology, ecology and management of the carob moth, Ectomyelois ceratoniae (Zeller) (Lepidoptera: pyralidae), a pest of date, Poenix dactylifera L. in Southern California*. Ph. D. dissertation, University of California, Riverside.
30. Noldus, L. P. J. J. & Potting, R. P. J. (1990). Calling behavior of *Mamestra brassicae*: Effect of age and photoperiod. *Entomological Experimental et Applicata*, 56, 23-30.
31. Osorio-Osorio, R. & Cibrian-Tovar, J. (2000). Courtship behavior of sugarcane borer *Diatraea considerata* Heinrich (Lepidoptera: Pyralidae). *Agrociencia*, 34, 619-626.
32. 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.
33. Phelan, P. L. & Baker, T. C. (1986). Cross-attraction of five species of stored-product Phycitinae (Lepidoptera: Pyralidae) in a wind tunnel. *Environmental Entomology*, 15, 369-372.
34. Phelan, P. L. & Baker, T. C. (1990). Comparative study of courtship in twelve phycitine moths (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Insect Behavior*, 3, 303-326.
35. 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, 2976-2979.
36. Torre-Bueno, J., Nichols, S. & Tulloch, G. (1989). *The Torre-Bueno glossary of entomology*. New York Entomological Society in cooperation with the American Museum of Natural History, New York.
37. Vetter, R. S., Tatevossian, S. & Baker, T. C. (1997). Reproductive behavior of the female carob moth, (Lepidoptera: Pyralidae). *Pan-Pacific Entomologist*, 73, 28-35.
38. 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, 177-196.
39. Ziaadini, M., Goldansaz, S. H., Ashouri, A. & Ghasempour, A. (2010). A comparison of the calling behavior and some biological characters of three different geographic populations of *Ectomyelois ceratoniae* under laboratory conditions. *Iranian Journal of Plant Protection Science*. In Press. (In Farsi).