

## تعیین نقطه فوق سرما و برخی از عوامل مؤثر بر آن در پروانه جوانه‌خوار *Palpita*

### *unionalis* Hubner (Lep: Pyralidae) زیتون

زهرا حکمت، مرتضی موحدی فاضل\* و کبری فتوحی

زنجان، دانشگاه زنجان، دانشکده کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی

تاریخ پذیرش: ۹۳/۵/۷

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۲

#### چکیده

شب پره جوانه‌خوار زیتون یکی از آفات مهم نهالستان‌ها، باغات جوان و پاجوش‌های درختان مسن زیتون است. راهبردهای اتخاذ شده از سوی حشرات در جهت سپری نمودن فصل زمستان نقش مهمی را در زنده‌مانی آنها دارند، یکی از این راهبردها تنظیم دمای انجماد آنهاست. در این تحقیق سرماسختی این آفت و برخی از عوامل مؤثر بر آن از جمله دوره نوری و گیاه میزبان بر ظرفیت فوق سرمای پروانه جوانه‌خوار زیتون مورد بررسی قرار گرفته است. کلنی در شرایط دمایی  $24 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی حداقل  $60 \pm 10$  درصد و دوره نوری ۸:۱۶ ساعت (روشنایی: تاریکی) نگهداری شد. در آزمون اول نقاط فوق سرمای افراد زمستان‌گذران (لارو سن ۵ و شفیره) پروانه جوانه‌خوار زیتون پرورش یافته در سه دوره نوری ۱۶، ۱۲ و ۸ ساعت نور مورد ارزیابی قرار گرفت. دوره‌های نوری مختلف تأثیر معنی‌داری بر نقطه فوق سرمای مراحل لاروی و شفیره‌گی داشتند ( $P < 0/001$ )، بطوریکه افراد روز کوتاه در مرحله شفیره‌گی ظرفیت فوق سرمای بیشتری را نشان دادند. در آزمون دوم نقاط فوق سرمای افراد زمستان‌گذران روی ۴ گیاه میزبان زیتون، یاسمن، زبان گنجشک و برگ نو مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج بیانگر تأثیر معنی‌دار گیاهان مورد تغذیه بر نقاط فوق سرما بود ( $P < 0/001$ )، بطوریکه افراد تغذیه شده از گیاه زیتون ظرفیت فوق سرمای بیشتری را نشان دادند. نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که پروانه جوانه‌خوار زیتون حشره‌ای نامتحمل به سرما است.

واژه‌های کلیدی: سرماسختی، پروانه جوانه‌خوار زیتون، دوره نوری، گیاهان میزبان.

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۴۳۳۰۵۲۶۰۳، پست الکترونیکی: movahedi@znu.ac.ir

#### مقدمه

گنجشک نیز فعالیت می‌نماید. لاروهای سنین مختلف از جوانه‌ها و برگ‌های انتهایی گیاه میزبان تغذیه کرده و باعث توقف رشد آن می‌شوند. تعداد نسل‌های این آفت از ۲ تا ۶ نسل در مناطق مختلف سردسیری و گرمسیری متغیر است (۱۷). این آفت زمستان را بصورت لاروهای سنین سوم تا پنجم و یا شفیره سپری می‌کند، اما در جنوب ایتالیا همه‌ی مراحل در طول زمستان دیده می‌شود (۳۱). راهبردهای اتخاذ شده از سوی حشرات در جهت سپری نمودن فصل زمستان نقش مهمی را در زنده‌مانی آنها دارند، یکی از این

زیتون بعنوان یکی از گیاهان سازگار با شرایط اقلیمی ایران در حال حاضر در ۲۴ استان کشور، سطح زیرکشتی معادل یکصد هزار هکتار و متوسط ۶۱ هزار تن تولید را به خود اختصاص داده است (۲). شب پره جوانه‌خوار زیتون یکی از آفات مهم نهالستان‌ها، باغات جوان و پاجوش‌های درختان مسن زیتون است. این آفت اولین بار در ایران در سال ۱۳۷۸ از باغات زیتون شهر رودبار گزارش شد (۲۷). این حشره علاوه بر زیتون بر روی برگ نو بعنوان دومین میزبان مرجح این آفت (۵ و ۶) و نیز یاس خوشه‌ای و زبان

آفت در طول زمستان در منطقه طارم علیا (۲۵) و عدم وجود اطلاعاتی در خصوص مقاومت به سرمای این آفت در جهان، تحقیق حاضر تعریف گردید تا در طی آن راهبرد مقاومت به سرما در این حشره تعیین و تاثیر برخی از عوامل موثر بر سرماسختی آن بررسی گردد.

### مواد و روشها

در طی این تحقیق برخی از عوامل موثر بر سرماسختی لاروها و شفیره‌های پروانه جوانه‌خوار زیتون مورد بررسی قرار گرفت. عوامل مورد بررسی شامل نوع میزبان مورد تغذیه بعنوان رژیم غذایی و رژیم نوری بود. تاثیر عوامل مذکور بر مقاومت به سرمای این آفت از طریق محاسبه نقطه فوق سرما در مرحله لاروی سن پنجم و شفیره‌گی (بعنوان مهمترین شکل زمستان‌گذرانی این آفت) مورد ارزیابی قرار گرفت.

**پرورش حشره:** جهت پرورش و استقرار کلنی جوانه‌خوار زیتون، لاروهای سنین مختلف و شفیره از روی درختان زیتون منطقه‌ی طارم علیای زنجان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. لاروها، بر روی شاخه‌های بریده برگ نو طبق روش عظیمی‌زاده و همکاران (۵) پرورش داده شدند. ظروف ویژه پرورش لارو شامل سه بخش ذخیره آب، بخش نگهدارنده بوته‌ها و پوشش توری بالای ظرف بود. بعد از انتقال لاروها، ظروف پرورش به داخل اتاقک رشد تحت شرایط نوری ۸: ۱۶ (تاریکی: روشنایی)، دمای  $24 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت نسبی  $60 \pm 10$  منتقل شدند. این ظروف هر دو روز یکبار مورد بازدید قرار گرفته و بقایای تغذیه و فضولات لاروی از داخل آنها خارج و لاروها دوباره روی شاخه‌های تازه‌ی برگ نو انتقال یافتند. شفیره‌ها پس از تشکیل به ظروف ویژه خروج و تخم‌ریزی حشرات کامل منتقل شدند. حشرات کامل آفت با محلول آب و قند ۵ درصد تغذیه شدند. به منظور ایجاد زمینه‌ی مناسب برای تخم‌ریزی حشرات ماده، ظرفی محتوی شاخه‌های برگ نو داخل ظروف تخم‌ریزی

راهبردها تنظیم دمای انجماد آنهاست. دما به روش‌های مختلفی بر تولیدمثل، طول عمر و رشد و نمو، تاثیر می‌گذارد (۱۶ و ۲۶) که نتایج آن بعضاً بصورت ناهنجاری‌های مورفولوژیک بروز می‌نماید (۸). در دمای پایین احتمال بقا، به فاکتورهایی همچون اندازه دما، مدت زمان در معرض بودن و سرماسختی (Coldhardiness) افراد بستگی دارد (۷). سرماسختی به توانایی موجود زنده بر بقا طولانی یا کوتاه مدت در دمای پایین اطلاق می‌شود (۱۹) و فاکتورهایی همچون پروتئین‌ها و ترکیبات ضدیخ نقش قابل توجهی بر سرماسختی و نقطه فوق سرما دارند علاوه بر این، عوامل دیگری نیز بر این فاکتور تاثیرگذارند که از جمله آنها می‌توان به میزبان‌های گیاهی و طول دوره نوری اشاره کرد. یکی از فاکتورهای تعیین کننده بر میزان زنده‌مانی، وزن، طول دوره رشدی، فیزیولوژی حشرات گیاه-خوار و کیفیت گیاه میزبان است. برای حشرات گیاه خوار رشد و نمو اغلب به کیفیت گیاه میزبان مرتبط است (۲۱) و این اثر بر سرعت رشد لارو، مرحله حساس برای القای دیپوز و سرماسختی به ویژه در حشرات چندخوار دیده شده است (۱۵). علاوه بر این بیشتر حشرات به ویژه آن‌هایی که در عرض جغرافیایی بالا زندگی می‌کنند برای تنظیم رفتار مناسب و راهبردهای رشدی از اطلاعات طول روز (یا طول شب) در طی فصول استفاده می‌کنند. معمولترین این راهبردها آغاز وقفه رشد و نمودی (Diapause) در حشرات زمستان یا تابستان گذران و تنظیم رفتارهای تولیدمثلی فصلی در تعدادی از آنهاست. القای دیپوز توسط دوره نوری در بیش از ۵۰۰ گونه از ۱۵ راسته حشرات تعیین شده است. در تمام موارد، پاسخ حشرات به دوره نوری منجر به اتخاذ راهبردهای فصلی مناسب در جهت تضمین بیشترین بقا می‌باشد (۲۹). روند کاهشی طول روز منجر به آماده‌سازی حشرات و اتخاذ تمهیدات لازم برای مقابله با سرمای زمستان در آنها می‌شود. بنابراین یکی از عوامل موثر بر نقطه فوق سرما همان طول دوره نوری و یا دوران تاریکی است. با توجه به تلفات بالای این

قرار داده شد. شاخه‌های حاوی تخم به ظروف پرورش لاروها منتقل گردیدند.

**روش انجام آزمایش: تعیین نقطه فوق سرما:** برای تعیین نقطه فوق سرما و تغییرات آن در تیمارهای تعریف شده حداقل ۱۰ عدد لارو سن پنجم و به همین تعداد شفیره انتخاب و توسط دستگاه حمام آب سرد (cooling bath) مجهز به سیستم خنک‌کننده حاوی الکل اتیلیک صنعتی با میزان کاهش دمای ۰/۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه استفاده گردید. برای مهار کردن لارو و شفیره از سرسمپلرهای ۱۰۰۰ میکرولیتری استفاده گردید. بخش جلویی آنها توسط لایه‌هایی از پنبه پر شده و در بخش عقبی لارو یا شفیره قرار می‌گرفت. سنسور ردیابی تغییرات دما نیز بصورت بسیار نزدیک به بدن لارو یا شفیره تثبیت گردید. لاروها و شفیره‌ها هر کدام بصورت مجزا، پس از توزین با ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم، در داخل سرسمپلرها قرار گرفته و نقطه فوق سرمای آنها طبق روش لی (۱۹) ثبت گردید. جهت ثبت تغییرات دما از دیتالاگر مدل CHY-502A مجهز به سنسور دمایی K100 با دقت اندازه‌گیری ۰/۱ درجه سانتی-گراد و ثبت ثانیه‌ای دما، قابل اتصال به کامپیوتر استفاده شد. زمانی که دمای مایع الکلی حمام آبسرد در بالاتر از صفر درجه سانتی‌گراد قرار داشت سرسمپلرهای حاوی حشرات بصورت تکی در داخل حمام آبسرد قرار گرفته و دستگاه شروع به پایین آوردن دما با میانگین ۰/۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه می‌نمود. میزان کاهش دما و تغییرات آن توسط نرم افزار بصورت ثانیه‌ای ثبت گردید. بطور کلی نقطه فوق سرما به درجه حرارتی اطلاق می‌شود که در آن دما، مایع درونی بدن شروع به یخ زدن نموده و گرما آزاد می‌نماید. گرمای آزاد شده باعث افزایش دما و تغییر در روند کاهش دما خواهد شد که این تغییرات توسط سنسورهای دیتالاگر ردیابی و ثبت گردید. اولین نقطه‌ای که دما در آن حالت افزایشی نشان داد بعنوان نقطه فوق سرما لحاظ شد. علاوه بر این، آخرین حد دمایی که مجدداً دما روند کاهشی را بخود می‌گیرد و نیز تفاوت زمانی شروع

نقطه فوق سرما تا این حد نیز ثبت گردید. لازم بذکر است نمونه‌ها پس از ثبت نقطه فوق سرما از حمام آبسرد خارج و درون ظروف مجزا برای مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط نگهداری شدند تا در صورتی که مجدداً احیاء (Recovery) شدند جهت تعیین استراتژی مقاومت به سرما لحاظ شوند.

**برخی عوامل موثر بر نقطه فوق سرما: رژیم نوری:** با توجه به اینکه یکی از فاکتورهای مهم در آمادگی حشرات جهت زمستان‌گذرانی طول روز یا همان طول دوران نوری است، در این تحقیق لاروهای سن یک در ۳ کلنی مجزا بر روی میزبان برگ نو در سه دوره نوری (۸ : ۱۶، ۱۲ : ۱۶، ۱۶ : ۸) (تاریکی: روشنایی) و شرایط دمایی  $24 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی  $60 \pm 10$  درصد پرورش یافتند. پس از تغذیه لاروها و ورود آنها به سن پنجم و مرحله شفیره‌گی، از هر تیمار حداقل ده عدد لارو سن پنج و ده عدد شفیره به طور تصادفی انتخاب و نقطه فوق سرمای آنها اندازه‌گیری شد.

**میزبان‌های گیاهی:** این آفت بر روی زیتون بعنوان میزبان اصلی و سایر گیاهان خانواده Oleaceae از جمله برگ نو، یاس خوشه‌ای و زبان گنجشک فعالیت می‌نماید (۴). با توجه به حضور همزمان این میزبان‌ها در مناطق تحت کشت و کار زیتون، در این بررسی علاوه بر زیتون تاثیر تغذیه از سایر میزبان‌ها بر مقاومت به سرمای این آفت ارزیابی گردید. بدین منظور لاروهای سن ۱ در ۴ کلنی مجزا بر روی میزبان‌های زیتون، برگ نو، زبان گنجشک و یاس خوشه‌ای در شرایط نوری ۸ : ۱۶ (تاریکی: روشنایی)، دمای  $24 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی  $60 \pm 10$  درصد پرورش یافتند. پس از تغذیه حشره از میزبان‌های مذکور برای هر تیمار حداقل ده عدد لارو سن پنج و ده عدد شفیره به طور تصادفی انتخاب و نقطه فوق سرمای آنها تعیین گردید.

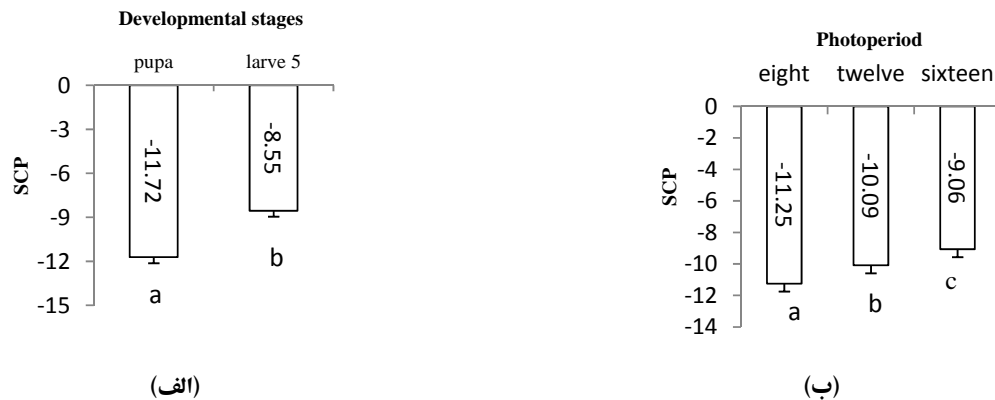
**تجزیه آماری:** تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم-افزارهای آماری استاتیتیکس (Statistix) و مینی‌تب ۱۶

۱۶، ۱۲:۱۲، ۱۶: ۸) (تاریکی: روشنایی)، در دوران پرورش لارو و شفیره اعمال و تاثیر آن بر روی نقطه فوق سرما بررسی گردید. نتایج حاصله بیانگر تاثیر معنی‌دار دوره نوری و نیز مرحله رشد و نمو بر روی نقطه فوق سرما در این حشره می‌باشد ( $p < 0.001$ ). بعلاوه تجزیه آماری اثرات توأم فاکتورهای فوق، بیانگر تاثیر معنی‌دار آنها بر روی تغییرات نقاط فوق سرمای حاصله از تاثیر دوره نوری می‌باشد ( $p < 0.001$ ) (شکل ۱). بطوریکه کمترین مقدار نقطه فوق سرما در دوره نوری (۱۶:۸) (تاریکی: روشنایی)، با میانگین  $11.25 \pm 0.39$  - و بیشترین مقدار در دوره نوری (۱۶: ۸) (تاریکی: روشنایی)، با میانگین  $9.06 \pm 0.36$  - مشاهده شد. همچنین نقطه فوق سرما در دوره نوری (۱۲:۱۲) ما بین دو رژیم قبل و با میانگین  $10.09 \pm 0.45$  - واقع شده است.

(Minitab) صورت گرفت. آزمون مقایسات میزبان با چهار میزبان (زیتون، برگ نو، زبان گنجشک، یاس خوشه‌ای) و دو مرحله رشدی (لارو کامل و شفیره) در قالب طرح کاملاً تصادفی و داده‌های مربوط به تاثیر دوره نوری به صورت آزمون فاکتوریل دو متغیره با سه سطح دوره نوری (۱۶، ۱۲، ۸) ساعت روشنایی و دو سطح مرحله رشدی (لارو کامل و شفیره) برای هر تیمار آزمایشی در ده تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۹۵ درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

تاثیر دوره نوری بر نقطه فوق سرما: با توجه به تاثیر دوره نوری بر القاء دیاپوز در حشرات توأم با ایجاد آمادگی برای تحمل سرمای زمستان در این تحقیق، سه دوره نوری (۸:



شکل ۱- نمودار حاصل از تاثیر سطوح مختلف دوره نوری بر میانگین نقاط فوق سرما در لارو سن پنج و شفیره جوانه‌خوار زیتون

*P. unionalis* (الف)، مرحله رشد و نمو حشره (ب) طول دوره نوری

دادند. طول روز بعنوان فاکتور کلیدی در تصمیم‌گیری‌های موجودات می‌باشد بطوریکه کاهش آن تداعی فصول پاییز و زمستان و افزایش آن تداعی فصول بهار و تابستان را دارد. برای مثال در مگس *Drosophila montana* طول روز ۲۲ تا ۲۴ ساعت باعث افزایش میزان ویتلوژنین در حشرات ماده و آمادگی برای تولیدمثل می‌شود. طول روز ۱۵/۵ تا

در این تحقیق سه دوره نوری ۱۶، ۱۲ و ۸ ساعت نور تفاوت معنی‌داری را در میانگین نقاط فوق سرمای پروانه جوانه‌خوار ایجاد کرده و به طوری که لارو سن ۵ و شفیره-های کلنی پرورش یافته در شرایط ۸ ساعت نور نقطه فوق سرمای پایتزر و در نتیجه تحمل به سرمای بیشتری را نسبت به افرادی که در دو شرایط دیگر قرار داشتند نشان

فوق سرمای کمتری را نسبت به روز بلند با ۱۶ ساعت نور نشان داد در این گونه افزایش ظرفیت فوق سرما کمی قبل از آغاز زمستان شروع شده و کاهش دوره نوری ورود به مرحله کمون (Dormancy) را القا می‌کند. در این دوره تغذیه متوقف شده و شروع به از دست دادن آب می‌کند که منجر به کاهش وزن تر و وزن خشک آن می‌شود. همچنین بررسی‌های انجام شده توسط گوتو و همکاران (۱۱) نشان داد که در گونه *Xestia c-nigrum* L. طول روز کوتاه توانایی تحمل به انجماد را در افراد القا می‌کند.

**تأثیر گیاه میزبان بر نقطه فوق سرما:** با توجه به تأثیر مستقیم ترکیبات غذایی بر سرماسختی در حشرات، در این تحقیق تأثیر تعدادی از گیاهان میزبان شامل برگ نو، زبان گنجشک، یاس خوشه‌ای و زیتون روی نقطه فوق سرمای مرحله لاروی و شفیره‌گی پروانه جوانه‌خوار زیتون مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله بیانگر تأثیر معنی‌دار گیاهان میزبان و نیز مرحله رشد و نمودی روی نقاط فوق سرما در این حشره می‌باشد ( $p < 0.01$ ). کمترین مقدار نقطه فوق سرما در لاروهای تغذیه شده از زیتون، با میانگین  $10/9 \pm 0/50$  و شفیره‌های حاصله از آنها، با میانگین  $10/9 \pm 0/22$  و شفیره‌های تغذیه شده با برگ نو، با میانگین  $10/9 \pm 0/56$  و بیشترین مقدار در لاروهای تغذیه شده با برگ نو با میانگین  $5/91 \pm 0/26$  مشاهده گردید (شکل ۲). در این تحقیق لاروهای سن پنجم پرورش یافته بر روی زبان گنجشک به شفیره تبدیل نشدند و اندازه‌گیری نقطه فوق سرمای این مرحله میسر نگردید.

در این تحقیق نوع میزبان تفاوت معنی‌داری را در نقطه فوق سرما ایجاد کرده و به طوری که لاروهایی که از گیاه زیتون تغذیه کرده بودند نقطه فوق سرمای پایین‌تری را نسبت به لاروهایی که از سه میزبان دیگر تغذیه کرده بودند نشان دادند. با توجه به اینکه برخی از اجزاء غذایی همچون ترکیبات غذایی بطور مستقیم یا غیرمستقیم بعنوان عوامل ضدیخ عمل می‌نمایند. بنابراین بخشی از تفاوت‌های میزبانی

۱۸/۵ ساعت باعث کاهش ویتلوژنین در حد متوسط و کاهش تولیدمثل می‌شود و حد متوسطی از مقاومت به سرما را نشان می‌دهند و طول روزهای کمتر توقف تولید مثل و افزایش بیشتر مقاومت به سرما را به همراه داشته است. بعبارت دیگر شرایط نور کوتاه در مقایسه با شرایط نور بلند فنوتیپ‌های متحمل به سرما ایجاد کرده است (۳۳). نتایج این تحقیق نیز روند مطلوبی از تغییرات طول روز توأم با آمادگی برای زمستان‌گذرانی و افزایش مقاومت به سرما را در قالب نقطه فوق سرما نشان می‌دهد، بطوریکه همبستگی بین نقاط فوق سرمای لاروهای سن پنجم جوانه‌خوار زیتون و رژیم نوری از معادله درجه اول (۱) تبعیت می‌کند.

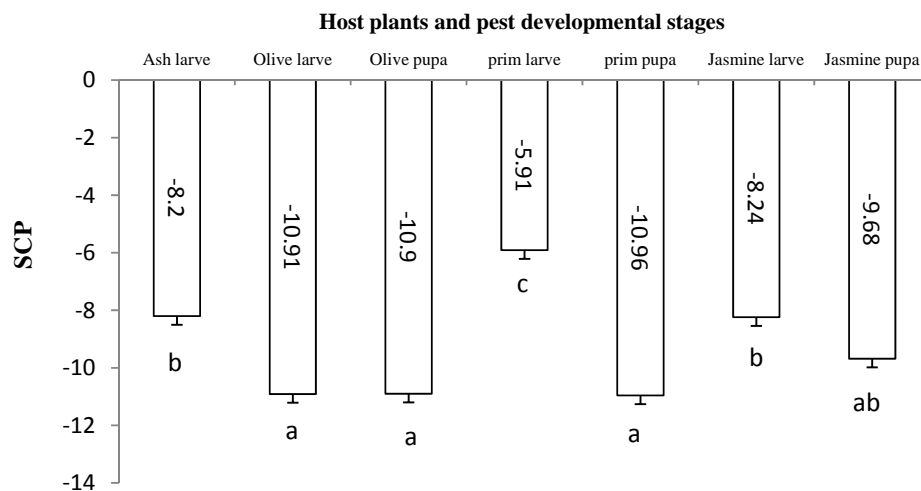
$$(F = 92.75, \quad (y = -16.89 + 0.671x) \quad (1) \\ R^2 = 76.8\%, \quad P < 0.001)$$

نتایج تحقیقات انجام شده در این زمینه نیز موید اطلاعات ارائه شده می‌باشد. افزایش تحمل به سرمای افراد ماده در شرایط روز کوتاه می‌تواند با بر هم کنش بین دیاپوز و طول روز القا شود. دوره نوری می‌تواند بر ترکیب غشای لیپیدی تأثیر گذاشته که این فرآیند مشابه تأثیری است که با قراردادن حشره در معرض دمای پایین بوجود می‌آید (۱۲). در گونه *Dendroides Canadensis* مشاهده شد که روز کوتاه منجر به افزایش تولید پروتئین‌های تاخیر دمایی (Termal hysteresis proteins) می‌شود اما اثری بر القاء دیاپوز ندارد (۱۴). در *D. Montana* طول روز کوتاه می‌تواند باعث ایجاد سازش‌پذیری به سرما مرتبط با دوره نوری (Photoperiodic cold acclimation) از طریق مکانیسم‌های مشابه با سازش به سرمای مرتبط با دما (Temperature-mediated cold acclimation) شود. در افراد ماده بدون دیاپوز این حشره، دوره نوری اثری بر سرماسختی ندارد (۳۳).

نتایج آنسارت و همکاران (۳) نشان داد که طول روز اثری معنی‌دار بر ظرفیت فوق سرمای *H. aspersa* می‌گذارد. بطوریکه این حشره در روز کوتاه با ۱۲ ساعت نور نقطه

می‌دهد. همچنین تحقیقی دیگر وجود مانیتول در زیتون اروپایی (*Olea uropea*) را گزارش نموده است، که ترکیب مهمی برای تحمل تنش شوری و نیز تخصیص انرژی و کربن در تولید میوه زیتون است (۹).

بدلیل تفاوت احتمالی در کیفیت و کمیت این اجزاء خواهد بود. در تحقیقی مشخص شد در بین درختان زیتون، رقم آریکن (*Arbequina*) نه تنها بسیار متحمل به سرماست بلکه بیشترین سازگاری را به شرایط متنوع رشدی نشان



شکل ۲- نمودار گروه‌بندی تاثیر ميزبان های مختلف و نیز مراحل رشد و نموی آفت بر نقطه فوق سرما در جوانه‌خوار زیتون *P. unionalis*

تفاوت در SCP آن دانستند. بطوریکه تخم *E. kuehniella* از لحاظ اسیدهای چرب و آمینواسیدها نسبت به رژیم غذایی مصنوعی زرده تخم، غنی‌تر است و احتمال محافظت حشره را در برابر دمای نامساعد بیشتر نموده است. همچنین تغذیه لاروهای *H. pitysohyla* از چهار گونه متفاوت کاج بر روی تغییرات SCP تاثیرات معنی‌داری را نشان داده است (۳۴). تغذیه *M. dissstria* از دو گیاه افرا و سپیدار تاثیری معنی‌داری بر SCP افراد نشان داد. سطح پایین پلی‌ال‌ها بعنوان دلیل مرگ و میر حاصل از انجماد در لاروهای تغذیه شده از سپیدار بیان گردید (۳۲). نتایج بررسی اثر میزبانهای گیاهی مورد تغذیه لاروهای *H. armigera* بر نقطه فوق سرما نشان داد که شفیره‌های زمستان‌گذران تغذیه کرده از پنبه و تنباکو توانایی بیشتری نسبت به لاروهای تغذیه شده از دیگر میزبان‌ها برای زمستان‌گذرانی دارند. از آنجایی که گیاهان میزبان اجزاء و کمیت‌های غذایی مختلفی دارند، محتوای لیپید در لاروها

تحقیقات روی ارزیابی ترکیب قند و پلی‌ال‌ها در وارپته-هایی از زیتون نشان داد که گلوکز، فروکتوز و گالاکتوز قند اصلی موجود در زیتون بودند. همچنین مقادیر قابل ملاحظه‌ای مانیتول وجود داشته است (۲۴). وجود پلی‌ال‌ها در گیاهان میزبان و ورود آنها بدرون بدن لارو و شفیره جوانه‌خوار زیتون می‌تواند باعث افزایش سرماسختی در این حشره گردد اگر چه اثبات مکانیزم مقاومت به سرما در این حشره نیازمند تحقیقات بیشتری است. البته افزایش میزان پرولین در ارقام زیتون تحت تنش را نباید در این امر بی‌تاثیر دانست (۱). نتیجه حاصله می‌تواند یکی از دلایل انتخاب زیتون بعنوان میزبان اصلی توسط این آفت را تبیین نماید.

سایر محققین نیز در مطالعاتشان به نتایج مشابهی دست یافته‌اند. مائز و همکاران (۲۳) تغذیه سن شکارگر *M. pygmaeus* از دو رژیم غذایی متفاوت را باعث ایجاد

تجمع قند و قندهای الکلی (۳۰) با کیفیت مواد غذایی ارتباط دارد (۳۵).

### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده، پروانه جوانه‌خوار زیتون دارای نقطه فوق‌سرمایی در محدوده ۸-۱۱ درجه سانتی-گراد زیر صفر است و با توجه به اینکه قادر به تحمل دماهای پایینتر از نقطه انجماد نمی‌باشد، بنابراین در طبقه -بندی راهبردهای سرماسختی (۲۰) جزء حشرات نامتحمل به سرما (chilling intolerant) قرار می‌گیرد. همچنین در بین گیاهان میزبان، تغذیه از گیاه زیتون نقش بیشتری در تحمل به سرمای حشره در هر دو مرحله لاروی و شفیره-گی ایفا می‌کند. طول روز کوتاه نیز باعث افزایش مقاومت به سرما در این حشره می‌شود.

متفاوت و در دو شفیره تغذیه کرده از پنبه و تنباکو بیشتر بود. توانایی فوق‌سرد شدن مرتبط با گیاه میزبان به طور معنی‌داری با وزن شفیره، محتوای آب، لیپید، گلیکوژن و غلظت گلیسرول بدن مرتبط بود. گلیکوژن یکی از مهمترین سوخت‌های مرحله غیرفعال دیاپوز است که به سمت پایان دیاپوز کاهش می‌یابد (۱۸). در این مطالعه سطح گلیکوژن تجمع یافته بسیار با ظرفیت فوق‌سرد شدن مرتبط بود. تجمع بیشتر مواد غذایی در طی تغذیه قبل از زمستان (۱۳) و تجمع لیپید و گلیکوژن قبل از دیاپوز (۱۰ و ۱۸)، بیانگر آنست که لاروهایی که شفیره آنها به دیاپوز می‌روند قبل از آن به تجمع انرژی در بدن می‌پردازند و این توانایی ذخیره انرژی (گلیکوژن، لیپید) بسته به گیاه میزبانی است که لارو از آن تغذیه می‌کند. کیفیت بالاتر گیاه میزبان بر آمادگی بیشتر حشره برای زمستان‌گذرانی و شانس بقا تاثیر می‌گذارد (۲۲). حشرات می‌بایست قبل از ورود به دیاپوز زمستانی گلیکوژن را ذخیره نمایند (۲۸) همچنین

### منابع

- ارجی، ع.، ارزانی، ک.، و ابراهیم‌زاده، ح.، ۱۳۸۲. مطالعه کمی پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در پنج رقم زیتون تحت تنش خشک، مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۱۶، شماره ۴، صفحات ۴۷-۵۹.
- ترک زبان، ب.، عطایی، س.، صبور، ع.، عظیمی، م.، و حسینی مزینانی، م.، ۱۳۸۹. بررسی تنوع برخی ژنوتیپ‌های ناشناخته زیتون در کلکسیون ایستگاه تحقیقات طارم با استفاده از مارکرهای مورفولوژیک، مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۳، شماره ۴، صفحات ۵۳۱-۵۲۰.
- Ansart, A., Vernon, P., and Daguzan, J., 2001. Photoperiod is the main cue that triggers supercooling ability in the land snail, *Helix aspersa* (Gastropoda: Helicidae). *Cryobiology*. 42, PP: 266-273.
- Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G., and Mazomenos, B. E., 2004. Effect of Trap type, trap color, trapping location, and Pheromone dispenser on Captures of male *Palpita unionalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*. 97, PP: 321-329.
- Azimizadeh, N., Abdollahi, G. H., Movahedi Fazel, M., and Shojaii, M., 2004. Host suitability of Privet for mass rearing of Jasmine moth *Palpita unionalis* Hubner (Lep. Pyralidae), in laboratory conditions. *Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, University of Tabriz, Vol. 1, Pests*. PP: 352. (In Farsi)
- Azimizadeh, N., Movahedi Fazel, M., and Parvar, A. 2012. Comparison of some biological parameters of jasmine moth, *Palpita unionalis* Hubner (Lep., Pyralidae), on olive and privet leaves in laboratory conditions. *Journal of Entomological Research*. 4(1), PP: 33-41.
- Bale, J. S., 1987. Insect cold hardiness - freezing and supercooling - an ecophysiological perspective. *Journal of Insect Physiology*. 33, PP: 899-908.
- Bale, J. S., Hansen, T. N., Nishino, M., and Baust, J. G., 1989. Effect of cooling rate on the survival of larvae, pupariation and adult emergence of the gall fly *Eurosta-Solidaginis*. *Cryobiology*. 26, PP: 285-289.
- Conde, C., Silva, P., Agasse, A., Lemoine, R., Delrot, S., Tavares, R., and Geros, H., 2007. Utilization and transport of mannitol in *Olea*

- europaea and implications for salt stress tolerance. *Plant Cell Physiology*. 48, PP: 42-53.
10. Ding, L., Li, Y. P., and Goto, M., 2003. Physiological and biochemical changes in summer and winter diapause and non-diapause pupae of the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae* L. during long-term cold acclimation. *Journal of Insect Physiology*. 49, PP: 1153-1159.
  11. Goto, C., Tsutsui, H., and Shimada, K., 1986. Effects of photoperiod and low temperature on larval development and freezing-tolerance of *Xestia c-nigrum* L. (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied Entomology and Zoology*. 21, PP: 143-152.
  12. Hodkova, M., Berkova, P., and Zahradnickova, H., 2002. Photoperiodic regulation of the phospholipid molecular species composition in thoracic muscles and fat body of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera) via an endocrine gland, *Corpus allatum*. *Journal of Insect Physiology*. 48, PP: 1009-1019.
  13. Hokkanen, H. M. T., 1993. Overwintering survival and spring emergence in *Meligethes aeneus*: effects of body weight, crowding, and soil treatment with *Beauveria bassiana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 67, PP: 241-246.
  14. Horwath, K. L., and Duman, J. G., 1983. Preparatory adaptations for winter survival in the cold hardy beetles, *Dendroides canadensis* and *Dendroides concolor*. *Journal of Comparative Physiology*. 151, PP: 225-232.
  15. Hunter, M. D., and McNeil, J. N., 1997. Host-plant quality influences diapauses and voltinism in a polyphagous insect herbivore. *Ecology*. 78, PP: 977-986.
  16. Hutchinson, L. A., and Bale, J. S., 1994. Effects of sublethal cold stress on the *Aphid Rhopalosiphum-Padi*. *Journal of Applied Ecology*. 31, PP: 102-108.
  17. Khaghaninia, S., and Farshbaf Pourabad, R., 2009. Investigation on biology of olive leaf worm *Palpita unionalis* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae) in constant laboratory conditions. *Munis Entomology and Zoology*. 4, PP: 320-326.
  18. Kostal, V., Sula, J., and Simek, P., 1998. Physiology of drought tolerance and cold hardiness of the Mediterranean tiger moth *Cymbalophora pudica* during summer diapause. *Journal of Insect Physiology*. 44, PP: 165-173.
  19. Lee, R. E., 1989. Insect cold-hardiness: to freeze or not to freeze. *BioScience*. 39, PP: 308-313.
  20. Lee, R. E. Jr., 2010. A primer on insect cold-tolerance. In: *Low temperature biology of insects*. Denlinger, D.L. and Lee, R.E.Jr. (eds). Cambridge United Kingdom. PP: 3-34.
  21. Liu, Z. D., Li, D. M., Gong, P. Y., and Wu, K. J., 2004. Life table studies of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae), on different host plants. *Environmental Entomology*. 33, PP: 1570-1576.
  22. Liu, Z., Gong, P., Wu, K., Wei, W., Sun, J., and Li, D., 2007. Effects of larval host plants on over-wintering preparedness and survival of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Physiology*. 53, PP: 1016-1026.
  23. Maes, S., Machtelinckx, T., Moens, M., Gregoire, J. C., and De Clercq, P., 2012. The influence of acclimation, endosymbionts and diet on the supercooling capacity of the predatory bug *Macrolophus pygmaeus*. *BioControl*. 157, PP: 643-651.
  24. Marsilio, V., Campestre, C., Lanza, B., and De Angelis, M., 2001. Sugar and polyol compositions of some European olive fruit varieties (*Olea europaea* L.) suitable for table olive purposes. *Food Chemistry*. 72, PP: 485-490.
  25. Movahedi Fazel, M., and Azimzadeh, N., 2010. Biology of Jasmin moth *Palpita unionalis* (Lep.: Pyralidae) in laboratory and field conditions in Zanjan (Tarom-Olia) Region. *Applied Entomology and Phytopathology*. 78, PP: 1-24. (In Farsi)
  26. Parish, W. E. G., and Bale, J. S., 1993. Effects of brief exposures to low-temperature on development, longevity and fecundity in the grain aphid *Sitobion Avenae* (Hemiptera, Aphididae). *Annals of Applied Biology*. 122, PP: 9-21.
  27. Saieb, H., 1999. A report of new olive pest in Iran. *Iran Entomological society news letters*. 1, PP: 4-5.
  28. Sakurai, H., Kawai, T., and Takeda, S., 1992. Physiological changes related to diapause of the lady beetle, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Applied Entomology and Zoology*. 27, PP: 479-487.
  29. Saunders, D. S., 2008. Photoperiodism in insects and other animals. *Photobiology: The Science of Life and Light*. Bjorn, L.O. (eds). Springer. PP: 389-418.
  30. Storey, K. B., and Storey, J. M., 1991. Biochemistry of cryoprotectants. In: Lee, R. E.



- Jr., Denlinger, D. L., (eds). Insects at Low Temperature. New York and London: Chapman and Hall. PP: 64-93.
31. Triggiani, O., 1971. *Palpita (Margaronia) unionalis* Hb. (olive pyralid). Entomologica. 7, PP: 29-47.
32. Trudeau, M., Mauffette, Y., Rochefort, S., Han, E., and Bauce, E., 2010. Impact of host tree on forest tent caterpillar performance and offspring overwintering mortality. Journal of Environmental Entomology. 39, PP: 498-504.
33. Vesala, L., Salminen, T. S., Kankare, M., and Hoikkala, A., 2012. Photoperiodic regulation of cold tolerance and expression levels of *regucalcin* gene in *Drosophila montana*. Journal of Insect Physiology. 58, PP: 704-709.
34. Zhong, J., Zhang, F., Jiang, B., Xiao, M., and Chen, J., 2009. Effects of different host pines on the cold tolerance of the pine scale insects. Scientia Silvae Sinicae. 45, PP:100-107.
35. Zvereva, E. L., 2002. Effects of host plant quality on overwintering success of the leaf beetle *Chrysomela lapponica* (Coleoptera: Chrysomelidae). European Journal of Entomology. 99, PP: 189-195.

## Determination of Supercooling Point and Some Affecting Factors in Jasmin Moth, *Palpita Unionalis* (Lep.: Pyralidae)

Hekmat Z., Movahedi-Fazel M. and Fotouhi K.

Plant Protection Dept., Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, I.R. of Iran

### Abstract

The olive leaf moth, *Palpita unionalis* (Hubner) is an important pest of nurseries, young olive orchards and also on the suckers of old trees. Strategies adopted by insects spend the winter in order to exert an important role in the viability of this, one of this strategy is their freezing temperature regulation. In this study, coldhardiness of this pest and some influencing factors such as photoperiod and host plant on the supercooling capacity of *P. unionalis* have been studied. The colonies at temperature  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , relative humidity  $60 \pm 10\%$  and 8:16 (dark: light) h photoperiod was maintained. In The first test supercooling points (SCP) of the overwintering individuals (larvae 5 and pupae) of *P. unionalis* were grown in three photoperiod, 16, 12 and 8 hour light, and analyzed. Different photoperiods had significant effects on SCP of larvae 5 and pupae ( $p < 0.001$ ), so short days in pupa stage show more supercooling capacity. In the second test SCP of the overwintering individuals of the four host plant, olives, jasmine, ash and prim were maintained in 16 hours light were measured. These results suggested significant effects of host plant on the SCP ( $p < 0.001$ ), so those fed olive plants showed greater cooling capacity. The results obtained in this study indicated that the, *P. unionalis* is chill-intolerant pest.

**Keywords:** Coldhardiness, Olive leaf moth *Palpita unionalis*, photoperiod, host plants.