

اثر دماهای مختلف القاکننده دیاپوز بر توانمندی زیستی زنبور پارازیتوید *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hym: Trichogrammatidae)

سمیه رحیمی کلدۀ^۱، احمد عاشوری^{۲*} و علیرضا بندانی^۲

۱ و ۲. دانشجوی سابق دکتری و استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۷/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۸)

چکیده

زنبورهای پارازیتوید جنس تریکوگراما به دلیل کاربرد گسترده در برنامه‌های کنترل زیستی، از دهه‌های گذشته موضوع مورد مطالعه بسیاری از محققان است. یکی از نکاتی که همواره مورد توجه پژوهشگران، تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان این زنبورها بوده است، افزایش توانمندی زیستی گونه‌های این جنس در فرایند تولید و ذخیره‌سازی بشکل دیاپوز آن می‌باشد. عوامل محیطی و در رأس آن‌ها دما همواره بر توانمندی زیستی حشرات در تمام مراحل زندگی تأثیرگذار است. در این تحقیق اثر سه دمای ۱۰، ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس بر نرخ خروج، نسبت جنسی، زادآوری و میزان تلفات مراحل مختلف رشدی *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hym: Trichogrammatidae) به منظور مطالعه نحوه پاسخ حشره در مقابله با سرما مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج این تحقیق، مرحله لاروی حساس‌ترین و مرحله پیش‌شفرگی مقاوم‌ترین مراحل زندگی *T. brassicae* به دمای پایین است. بین نرخ خروج و میزان زادآوری زنبورهای پارازیتوید بالغ و دما رابطه مستقیم مشاهده شد. نسبت افراد ماده خارج شده تحت تأثیر قرارگیری در دماهای پایین قرار نگرفت. بنابراین زنبور *T. brassicae* را می‌توان با بهره‌گیری از سرمادهی به‌منظور ذخیره‌سازی_انبارداری وارد وقفه رشدی (دیاپوز_رکود رشدی) کرد. گرچه بروز پدیده دیاپوز بر اثر قرارگیری حشره در دماهای پایین با اثرات کاهنده بر توانمندی زیستی این پارازیتوید همراه است.

کلیدواژگان: دما، دیاپوز، رکود رشدی، توانمندی زیستی، *T. brassicae*.

Effect of diapause induction temperatures on the fitness of *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hym: Trichogrammatidae)

Somayeh Rahimi-Kaldehy¹, Ahmad Ashouri^{2*} and Alireza Bandani²

1, 2. Former Ph.D. Student and Professor, Department of Plant Protection, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(Received: Oct. 16, 2016 - Accepted: Feb. 6, 2017)

ABSTRACT

Trichogramma wasps have been the subject of intensive research because of their wide application in biological control programs since the past decades. Increasing the fitness of *Trichogramma* during their production and storage was one of the points that have always attracted the attention of researchers, producers and consumers of these biological control agents. Temperature as one of the main environmental factors that influence all life stages has always been effective on the fitness of insects. We investigated the effect of temperatures (10, 14 and 20°C) on the emergence rate, sex ratio, fecundity and mortality of different developmental stages of *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hym: Trichogrammatidae) in order to examine the response of parasitoid to low temperatures. Based on the obtained results, larvae and pre-pupae were the most sensitive and resistant life stages of *T. brassicae* to low temperatures, respectively. A direct relationship was observed between both emergence rate and fecundity of *T. brassicae* with temperature. The proportion of emerged females did not show a statistically significant difference when parasitoid was exposed at low temperatures. According to the results, *T. brassicae* can enter dormancy (diapause-quiescence) using cold storage although the diapause incidence through low temperature exposure is associated with reduced fitness of *T. brassicae*.

Keywords: Diapause, fitness, temperature, quiescence, *T. brassicae*.

* Corresponding author E-mail: ashouri@ut.ac.ir

تازه‌های تحقیق

زنبور *T. brassicae*، گونه غالب زنبورهای پارازیتوئید جنس تریکوگراما در ایران، را می‌توان با بهره‌گیری از سرمادهی به منظور ذخیره‌سازی_انبارداری وارد وقفه رشدی (دیپوز_رکود رشدی) کرد. به طوری که در صورت انبارداری زنبور پارازیتوئید *T. brassicae* در دمای ۱۰ درجه سلسیوس می‌توان بعد از گذشت حدود سه ماه زنبورهایی را در اختیار داشت که میزان زادآوری و درصد خروج آن‌ها به میزان جزئی نسبت به شاهد کاهش می‌یابد.

مقدمه

پارازیتوئیدها از مهم‌ترین عوامل کنترل بیولوژیک آفات در طبیعت و اکوسیستم‌های کشاورزی هستند که قادر به تنظیم تراکم جمعیت بسیاری از میزبان‌های خود می‌باشند (Godfray 1994). در این بین، زنبورهای پارازیتوئید جنس *Trichogramma* از جایگاه ویژه‌ای در کنترل بیولوژیک آفات بال‌پولکدار برخوردار هستند (Pinto and Stouthamer 1994). نتایج بررسی‌های مختلف حاکی از آن است که زنبور پارازیتوئید *Trichogramma brassicae* به عنوان گونه غالب جنس تریکوگراما، بیشترین کاربرد را در مناطق مختلف ایران به خود اختصاص داده است که این امر منجر به تولید انبوه این گونه در دهه‌های گذشته شده است (Ebrahimi 1998, Shirazi et al. 2010).

امروزه تولید انبوه و اقتصادی پارازیتوئیدها با توجه به کاربرد گسترده آن‌ها در برنامه‌های کنترل بیولوژیک آفات، از اهمیت زیادی برخوردار است. یکی از مشکلات موجود در سر راه پرورش انبوه تمامی عوامل کنترل بیولوژیک و نیز زنبورهای پارازیتوئید جنس *Trichogramma* چگونگی انبارداری آن‌ها در طول فصول غیرزراعی است (Venkatesan et al. 2000). راه حلی که توسط اکثر محققان پیشنهاد می‌شود استفاده از ویژگی‌های ذاتی حشره و الگوبرداری از طبیعت است. با شروع فصل سرما حشرات وارد نوعی وقفه رشدی می‌شوند. دیپوز و رکود رشدی^۱ دو نوع متفاوت از وقفه

رشدی هستند که با برخی تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در بدن موجود، امکان زمستان‌گذرانی حشره را فراهم می‌کنند (Danks 1987).

دیپوز در اغلب زنبورهای پارازیتوئید جنس تریکوگراما از نوع اختیاری بوده و در مرحله پیش‌شفیرگی اتفاق می‌افتد (Garcia et al. 2002). بر اساس مطالعات انجام گرفته در رابطه با دیپوز زنبورهای پارازیتوئید این جنس، دمای پایین، مهم‌ترین عامل محیطی القای دیپوز و تأثیرگذار روی مرحله جنینی و لاروی نسل دیپوزگذاران است. با وجود این، نسبت نتاجی که در دماهای نزدیک آستانه (۱۲-۱۵ درجه سلسیوس) در مناطق معتدله وارد دیپوز می‌شوند به طور معنی‌داری وابسته به طول دوره نوری در طول رشد نسل مادری است (Zaslavski and Umarova 1990, Boivin 1995, Laing and Corrigan 1994). قرارگیری در معرض دماهای پایین‌تر از دمای بهینه رشد در مراحل نابالغ می‌تواند اثرات منفی زیادی بر توانمندی زیستی حشرات کامل داشته باشد. دمای پایین سبب اختلالات فیزیولوژیکی (Colinet and Boivin 2011)، کاهش ذخایر انرژی (Chen et al. 2008)، تغییرات مورفولوژیکی از قبیل بدشکلی اندام‌های تولیدمثلی (Denlinger and Lee 1998)، کاهش اندازه بدن (Rundle et al. 2004)، تغییر شکل بال‌ها (Dutton and Bigler 1995)، تغییر ساختار شاخک‌ها (Pintureau and Daumal 1995)، کاهش نرخ خروج (Uckan and Gulel 2001, Ozdor 2005, Saglam and Jalali 2005)، کاهش طول عمر (Jalali and Pandey and Johnson 1992)، کاهش زادآوری (Singh 1992)، تغییر نسبت جنسی افراد خارج شده به نفع نرها (Chen et al. 2008, Bayram et al. 2005) و کاهش توانایی حرکتی پارازیتوئیدها (Tezze and Botto 2004, Ayvaz et al. 2008) می‌شود. نرخ خروج یکی از فاکتورهای مهم در توانمندی زیستی پارازیتوئیدها است که به شدت تحت تأثیر دمای پایین قرار می‌گیرد. بنابر مطالعات انجام شده، در صورت قرارگیری مراحل نابالغ حشرات از راسته‌های مختلف همچون بال‌غشائیان (Ozder and Saglam 2005)، بال‌پولکداران (Johnson 2007)، سخت‌بالپوشان (Teshler et al. 2004) و دوبالان (Leopold 2000) در معرض دمای پایین، نرخ خروج

و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی: ۸ ساعت تاریکی انجام شد. جهت ایجاد بیشترین تشابه ژنتیکی، از نتاج مربوط به یک ماده اولیه استفاده شد. به منظور ایجاد کلنی اولیه، کارتی به ابعاد ۵×۱ سانتی متر حاوی ۵۰ عدد تخم میزبان ۲۴ ساعته، در اختیار یک عدد زنبور پارازیتوید ماده *T. brassicae* (یک‌روزه و جفت‌گیری کرده) قرار داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، کارت حاوی تخم میزبان پارازیت درون لوله آزمایش تا زمان خروج حشرات کامل نسل جدید تحت شرایط آزمایشگاهی نگهداری شد.

شرایط القای دیپوز

تخم‌های میزبان (شش ساعته) با استفاده از چسب قابل حل در آب و غیرسمی (کنکو^۳) روی کارت‌های مقوایی چسبانده شد. ۵ عدد کارت مقوایی به ابعاد ۸×۱ سانتی متر هر یک شامل ۲۰۰-۳۰۰ عدد تخم میزبان واسط، *A. kuehniella*، به مدت دو ساعت تحت شرایط آزمایشگاهی (دمای ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی: ۸ ساعت تاریکی)، درون استوانه پلاستیکی (به ابعاد ۱۸×۸ سانتی متر) در اختیار ۱۰۰ عدد زنبور ماده *T. brassicae* (یک‌روزه و جفت‌گیری کرده) قرار گرفت. به منظور تبادل هوا دریچه‌ای در قسمت بالایی در استوانه پلاستیکی تعبیه و توسط توری با مش ۳۰ پوشانده شد. از آب عسل ۲۰ درصد برای تغذیه حشرات کامل *T. brassicae* استفاده شد. آب عسل روی دیواره ظروف استوانه‌ای اسپری شد. پس از گذشت دو ساعت زنبورهای مادری حذف و تخم‌های پارازیت تحت شرایط کنترل شده (دمای ۲۰ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد و دوره نوری ۱۰ ساعت روشنایی: ۱۴ ساعت تاریکی) درون لوله‌های آزمایش شیشه‌ای به ابعاد ۱۰×۱/۵ سانتی متر قرار داده شد. دمای ۲۰ درجه سلسیوس و دوره نوری کوتاه مدت در اغلب گونه‌های جنس *Trichogramma* سبب افزایش درصد دیپوز در نسل بعدی می‌شود (Reznik et al. 2011). یک روز پس از خروج حشرات کامل (۱۷-۱۸ روز پس از پارازیت شدن) تعداد ۵۴۰ زنبور ماده و ۵۴۰ زنبور نر جداسازی و به صورت زوج درون لوله‌های آزمایش جداگانه به مدت ۲۴ ساعت

حشرات کامل کاهش می‌یابد. از دیگر فاکتورهای توانمندی زیستی که تحت تأثیر دمای پایین قرار می‌گیرد می‌توان به میزان زادآوری پارازیتویدهایی اشاره کرد که مراحل نابالغ آن‌ها در معرض دمای پایین قرار گرفته‌اند. براساس تحقیقات انجام شده، میزان زادآوری در صورت قرارگیری در معرض دمای پایین کاهش می‌یابد (Uckan and Gulel 2001, Levie et al. 2005).

با توجه به ایدیوبیونت^۱ بودن زنبورهای پارازیتوید جنس *Trichogramma* به نظر می‌رسد این پارازیتویدها گزینه‌های مناسبی برای مطالعه اثر دمای پایین بر توانمندی زیستی پارازیتویدها باشند. بنابر تحقیقات انجام شده، پارازیتویدهای ایدیوبیونت همانند زنبورهای پارازیتوید جنس *Trichogramma* نسبت به کوینوبیونت‌ها^۲ حساسیت بیشتری به دماهای پایین دارند (Godfray 1994). فرضیه این تحقیق بر این اصل استوار است که قرارگیری در معرض دمای پایین برای زنبور پارازیتوید هزینه‌بر بوده و هزینه تحمیلی بر پارازیتوید به صورت کاهش توانمندی زیستی بروز می‌کند. هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر قرارگیری مراحل نابالغ زنبور پارازیتوید *T. brassicae* در معرض دمای القاکننده دیپوز و یا رکود رشدی (داده‌های منتشر نشده) بر برخی ویژگی‌های توانمندی زیستی همچون نرخ خروج، نسبت جنسی، میزان زادآوری و تلفات در مراحل مختلف رشدی این زنبور پارازیتوید است.

مواد و روش‌ها

پرورش زنبور پارازیتوید *T. brassicae*

کلنی اولیه زنبور پارازیتوید *T. brassicae* مورد استفاده در این تحقیق از کلنی موجود در آزمایشگاه اکولوژی و رفتارشناسی دانشگاه تهران تأمین شد. پرورش زنبور پارازیتوید، روی تخم بید آرد *Anagasta kuehniella* Zeller (Lep: Pyralidae) برای بیش از ۱۰۰ نسل در دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد

۱. این گروه از پارازیتویدها با کشتن و یا فلج کردن سریع میزبان، مانع رشد آن‌ها می‌شوند (Idiobiont).

۲. این گروه از پارازیتویدها به میزبان خود اجازه رشد می‌دهند، در این حالت پارازیتوید تا زمانی که میزبان بتواند به اندازه‌ای برسد که او را از نظر غذایی تأمین کند، رشد خود را به تأخیر می‌اندازد (Koinobiont).

یک از مراحل لاروی، پیش‌شغیرگی، شغیرگی و حشره کامل برای هر کارت به طور جداگانه محاسبه شد. در محاسبه اثر دمای پرورش بر نسبت جنسی افراد خارج شده، دو نسبت جنسی در دمای ۱۴ درجه سلسیوس محاسبه شد، اول نسبت جنسی افرادی که چرخه زندگی آنها بعد از گذشت ۴۵-۵۰ روز کامل شده بود، دوم نسبت جنسی افرادی که در این دما وارد دیپوز شده و پس از گذشت ۶۰ روز به دمای ۲۵ درجه سلسیوس جهت شکستن دیپوز منتقل شده بودند.

جهت بررسی اثر دما بر میزان زادآوری زنبورهای پارازیتوید *T. brassicae*، تعداد ۲۰ عدد از زنبورهای ماده خارج شده از هر یک از شرایط دمایی (۱۰، ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس) پس از جفت‌گیری به دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شد. یک عدد کارت حاوی ۵۰ عدد تخم تازه *A. kuehniella* (شش‌ساعته) در اختیار هر یک از آنها قرار داده شد. تخم‌های پارازیت (تخم‌های سیاه شده) پس از گذشت پنج روز از زمان مرگ ماده‌های تخم‌گذار شمارش شد. در محاسبه اثر دمای پرورش بر میزان زادآوری نیز همچون نسبت جنسی، دو مقدار زادآوری در دمای ۱۴ درجه سلسیوس محاسبه شد، اول میزان زادآوری افرادی که چرخه زندگی آنها بعد از گذشت ۴۵-۵۰ روز کامل شده بود، دوم میزان زادآوری افرادی که در این دما وارد دیپوز شده و پس از گذشت ۶۰ روز به دمای ۲۵ درجه سلسیوس جهت شکستن دیپوز منتقل شده بودند.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی رابطه بین دما - نرخ خروج در سه سطح شامل دماهای ۱۰، ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس با ۱۸۰ تکرار و دما-میزان زادآوری در چهار سطح شامل دماهای ۱۰، ۱۴-افراد فاقد دیپوز، ۱۴-افراد دارای دیپوز و ۲۰ درجه سلسیوس، با ۲۰ تکرار از مدل رگرسیون خطی استفاده شد. جهت بررسی اثر دما روی نسبت جنسی افراد خارج شده (تعداد ماده به تعداد کل حشرات کامل)، تعداد افراد ماده خارج شده در هر یک از سه سطح شامل دماهای ۱۰ درجه سلسیوس، ۱۴ درجه سلسیوس-افراد فاقد دیپوز و ۱۴ درجه سلسیوس-افراد دارای دیپوز، با تعداد افراد ماده خارج شده در دمای ۲۰

قرار داده شد تا از جفت‌گیری آنها اطمینان حاصل شود. سپس یک عدد کارت مقوایی به ابعاد ۱×۵ سانتی‌متر شامل ۵۰ عدد تخم میزبان واسط (شش‌ساعته)، در اختیار هر جفت از زنبورها به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. پس از گذشت مدت زمان مربوطه، زنبورهای نسل اول (F1) حذف و یک سوم تخم‌های پارازیت به دمای ۱۰ درجه سلسیوس، یک سوم آن به دمای ۱۴ درجه سلسیوس و یک سوم دیگر به دمای ۲۰ درجه سلسیوس، تاریکی مطلق و رطوبت نسبی 50 ± 70 درصد تا زمان ظهور حشرات کامل منتقل شد.

افراد که سرعت رشد آنها در اثر قرارگیری در دمای ۱۴ درجه سلسیوس کند شده بود، ۴۵-۵۰ روز پس از پارازیت شدن خارج شدند. ده روز پس از مشاهده اوج خروج حشرات کامل در دمای ۱۴ درجه سلسیوس، تخم‌های پارازیت فاقد سوراخ خروجی به دمای ۲۵ درجه سلسیوس به منظور شکستن دیپوز آن دسته از افرادی که در مرحله پیش‌شغیرگی بودند منتقل شد. قبل از انتقال به دمای ۲۵ درجه سلسیوس، تعداد حشرات کامل خارج شده به عنوان افراد غیر دیپوز‌گذاران شمارش شد. داده‌های مربوط به هر کارت به عنوان یک تکرار جداگانه ثبت شد. به ازای هر دما ۱۸۰ تکرار در نظر گرفته شد. از آنجایی که حشرات ماده تخم‌گذار جنس تریکوگراما معمولاً یک تخم در تخم *A. kuehniella* می‌گذارند (Garcia and Tavares 2001)، تعداد حشرات کامل خارج شده برابر با تعداد تخم‌های *A. kuehniella* دارای سوراخ خروجی در نظر گرفته شد. در دمای ۱۰ درجه سلسیوس که در اغلب گونه‌های جنس تریکوگراما به عنوان دمای القای دیپوز نسل دیپوز‌گذاران در نظر گرفته شده است (Zaslavski and Umarova 1990, Boivin 1994, Garcia et al. 2002) سیاه شدن تخم‌های میزبان پارازیت، یک ماه پس از پارازیت شدن مشاهده شد. تخم‌های پارازیت پس از دو ماه نگهداری در دمای ۱۰ درجه سلسیوس جهت تسریع رشد و خروج پیش‌شغیره‌های زنده به دمای ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 50 ± 70 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی: ۸ ساعت تاریکی منتقل شد. نرخ خروج، نسبت جنسی افراد خارج شده (تعداد ماده به تعداد کل حشرات کامل) و میزان تلفات در هر

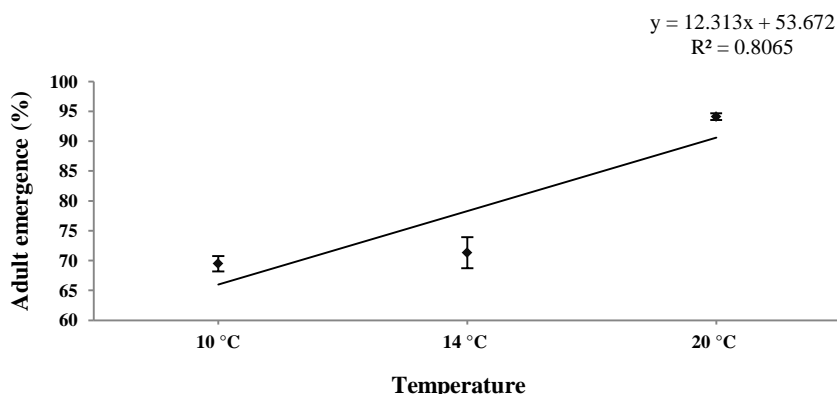
درجه سلسیوس با استفاده از آزمون کای اسکوئر مقایسه شد. میزان تلفات مراحل مختلف رشدی با استفاده از آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس دسته‌بندی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SigmaPlot (Version 12) انجام شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Minitab (Version 17) بررسی شد.

درجه سلسیوس با استفاده از آزمون کای اسکوئر مقایسه شد. میزان تلفات مراحل مختلف رشدی با استفاده از آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس دسته‌بندی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SigmaPlot (Version 12) انجام شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Minitab (Version 17) بررسی شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این تحقیق، اثر دما را بر توانمندی زیستی زنبور پارازیتوئید *T. brassicae* نشان داد به طوری که با کاهش دما، نرخ خروج و میزان زادآوری زنبور پارازیتوئید بالغ کاهش یافت. مرحله لاروی به عنوان حساس‌ترین مرحله زندگی *T. brassicae* در هر سه دما خصوصاً دمای ۱۰ درجه سلسیوس شناخته شد. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها، دما دارای اثر معنی‌دار بر نرخ خروج حشرات کامل (میزان زادآوری، $F=100/38$, $R^2=0/157$, $P<0/001$) و میزان تلفات (میزان تلفات، $F=26/49$, $R^2=0/25$, $P<0/001$) در مراحل مختلف زندگی زنبور پارازیتوئید *T. brassicae* ($H=472/70$, $df=3$, $P<0/001$) بود. در حالی که دما فاقد اثر معنی‌دار بر نسبت جنسی افراد پرورش یافته (تعداد ماده به تعداد کل حشرات کامل) در دماهای ۱۰ درجه سلسیوس ($N=179$, $P=1$)، ۱۴ درجه سلسیوس-افراد فاقد دیپوز ($\chi^2=6/69$, $P=1$)،

در سه دمای مورد مطالعه مشاهده شد (شکل ۱). بنابر نتایج تحقیق حاضر، تفاوت معنی‌دار در نسبت جنسی افراد خارج شده *T. brassicae* (تعداد ماده به تعداد کل حشرات کامل) در هر یک از سه سطح مورد بررسی شامل دماهای ۱۰ درجه سلسیوس، ۱۴ درجه سلسیوس-افراد فاقد دیپوز و ۱۴ درجه سلسیوس-افراد دارای دیپوز با نسبت جنسی افراد خارج شده در دمای ۲۰ درجه سلسیوس مشاهده نشد. نسبت جنسی افراد خارج شده در دماهای ۱۰، ۱۴- افراد فاقد دیپوز، ۱۴- افراد دارای دیپوز و ۲۰ درجه سلسیوس به ترتیب برابر با $0/81 \pm 0/01$ ، $0/78 \pm 0/02$ ، $0/61 \pm 0/03$ و $0/77 \pm 0/01$ (تعداد ماده به تعداد کل افراد خارج شده) بود. نسبت جنسی افراد خارج شده در دمای ۲۰ درجه سلسیوس به عنوان نسبت جنسی مورد انتظار در نظر گرفته شد.

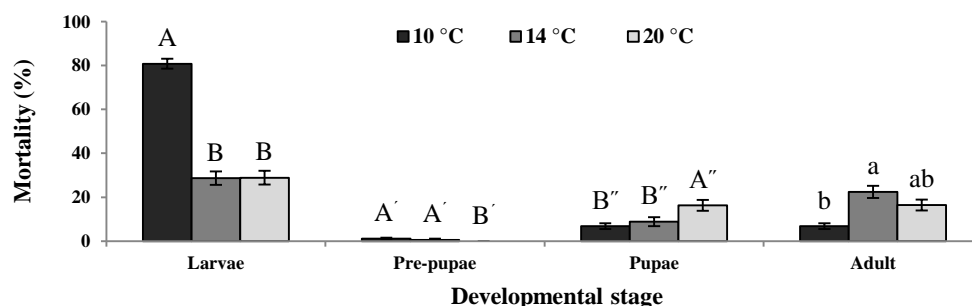


شکل ۱- مقایسه درصد خروج حشرات کامل *T. brassicae* در سه دمای ۱۰، ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس، درصد خروج حشرات کامل *T. brassicae* در دمای ۱۴ درجه سلسیوس شامل مجموع درصد خروج حشرات کاملی است که رشد آن‌ها در این دما یا کند شده و یا وارد دیپوز شدند.

Figure 1. A comparison of *T. brassicae* emergence rate (%) at 10, 14 and 20°C, the emergence rate (%) of *T. brassicae* adults at 14°C includes the sum of *T. brassicae* emergence rate (%) which their development become slow and/or enter diapause at 14°C.

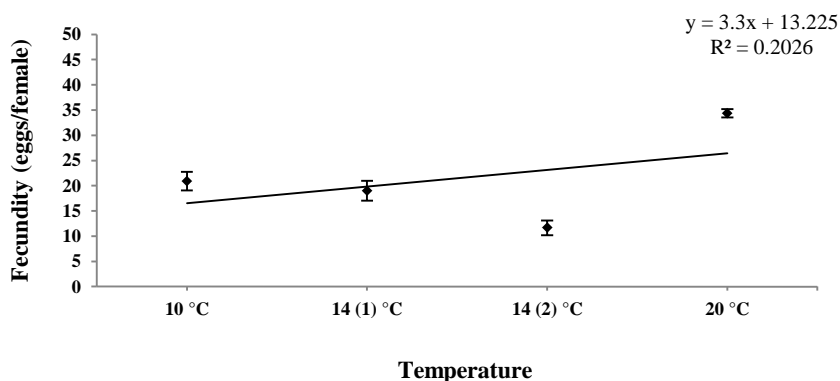
بر اساس آنچه در شکل ۲ نشان داده شده است، میزان تلفات در هر سه دمای مورد آزمایش، در مرحله لاروی بیش از سایر مراحل زندگی زنبور پارازیتوئید *T. brassicae* است. اما میزان تلفات لاروی در دمای ۱۰ درجه سلسیوس بیش از دو دمای دیگر بود ($H=149/08$, $df=2$, $P=<0/001$). این مسئله نشان‌دهنده حساسیت بالاتر مرحله لاروی به دمای پایین نسبت به مرحله پیش‌شفیرگی و دیگر مراحل است. کمترین میزان تلفات در سه دمای مورد آزمایش در مرحله پیش‌شفیرگی مشاهده شد به طوری که در دمای ۲۰ درجه سلسیوس هیچ‌گونه تلفاتی در مرحله پیش‌شفیرگی مشاهده نشد ($P=0/012$, $df=2$). بود که در این دما وارد دیاپوز شده بودند (شکل ۳).

نکته قابل تأمل کاهش میزان تلفات در مرحله شفیرگی ($H=9/44$, $df=2$, $P=0/009$) و حشره کامل ($H=11/42$, $df=2$, $P=0/003$) در دمای ۱۰ درجه سلسیوس در مقایسه با دماهای بالاتر بود. بر اساس نتایج به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به میزان زادآوری زنبورهای پرورش یافته در دماهای مختلف، بیشترین میزان زادآوری در دمای ۲۰ درجه سلسیوس برابر با $34/35 \pm 0/82$ تخم به ازای هر حشره ماده بود. کمترین میزان زادآوری، $11/65 \pm 1/49$ تخم به ازای هر حشره ماده، مربوط به *T. brassicae* نگهداری شده در دمای ۱۴ درجه سلسیوس بود که در این دما وارد دیاپوز شده بودند (شکل ۳).



شکل ۲. مقایسه درصد تلفات مراحل مختلف رشدی (لاروی، پیش‌شفیرگی، شفیرگی و حشره کامل) زنبور پارازیتوئید *T. brassicae* پرورش یافته در دماهای ۱۰، ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس.

Figure 2. A comparison of *T. brassicae* mortality rate (%) in different developmental stages (larvae, prepupae, pupae and adults) at 10, 14 and 20°C.



شکل ۳. مقایسه میزان زادآوری زنبورهای پارازیتوئید *T. brassicae* پرورش یافته در دماهای ۱۰، ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس، (۱) میزان زادآوری *T. brassicae* که رشد آن‌ها در دمای ۱۴ درجه سلسیوس کند شد، (۲) میزان زادآوری *T. brassicae* که در دمای ۱۴ درجه سلسیوس وارد دیاپوز شدند.

Figure 3. A comparison of *T. brassicae* fecundity at 10, 14 and 20°C, 1) The fecundity of *T. brassicae* which their development was slow at 14°C, 2) The fecundity of *T. brassicae* which enter diapause at 14°C.

یکی تأثیر بر نسبت جنسی نسلی است که در معرض دمای پایین قرار می‌گیرد و به‌عنوان نسبت جنسی افراد خارج شده و یا تفاوت در نسبت تلفات افراد ماده و نر بیان می‌شود. دیگری اثر بر نسبت جنسی نتاجی است که نسل مادری آن‌ها در معرض دمای پایین قرار گرفته است (Lessard 2012). بنابر اظهارات چن و همکاران، وقتی مراحل نابالغ زنبور پارازیتوئید *Gonatocerus ashmeadi* Girault تحت تأثیر دمای پایین قرار می‌گیرد نسبت خروج ماده‌ها کاهش می‌یابد که به‌نظر می‌رسد به حساس‌تر بودن ماده‌های (دیپلوئید) نسبت به نرهای (هاپلوئید) مربوط باشد (Chen et al. 2008).

نسبت جنسی پارازیتوئیدها و تعداد حشره‌ی ماده‌ای که وارد اکوسیستم زراعی می‌شود از نظر کاربردی حائز اهمیت بوده و از طرفی نیز افزایش زنبورهای نر در سیستم پرورش انبوه از موارد نامطلوب به‌شمار می‌آید. به بیان دیگر هر اندازه تعداد افراد ماده بیشتر باشد می‌تواند نرخ رشد جمعیت و اثر بخش بودن آن‌ها را در برنامه‌های کنترل بیولوژیک افزایش دهد، چرا که زنبورهای نر عملاً نقشی در ایجاد تلفات در آفت هدف ندارند (Heimpel and Lundgren 2000). نتایج تحقیق حاضر نشان داد در تمامی دماهای مورد آزمایش، تعداد افراد ماده (دیپلوئید) بیش از افراد نر (هاپلوئید) است. از طرفی نسبت جنسی افرادی که در دمای ۱۴ درجه سلسیوس احتمالاً وارد دیپوز شده بودند برابر با 0.61 ± 0.36 (تعداد ماده به تعداد کل افراد خارج شده) بود که نسبت به سایر تیمارها افزایش تلفات افراد ماده را در برداشت. بنابر نتایج این تحقیق، در صورت ورود به دیپوز نسبت افراد ماده به نر کاهش می‌یابد. اگرچه کاهش تعداد افراد ماده در صورت ورود به دیپوز بیانگر وجود اثر معنی‌دار دما بر نسبت افراد ماده نبود. به بیان دیگر وقوع وقفه رشدی چه به صورت دیپوز باشد و چه به صورت رکود رشدی اثری بر نسبت افراد ماده نسل قرار گرفته در معرض دمای پایین نداشت.

در زنبورهای پارازیتوئید جنس تریکوگراما مرحله پیش‌شفرگی، حساسیت کمتری به قرارگیری در معرض دمای پایین نسبت به مرحله لاروی دارد (Garcia et al. 2002). نتایج تحقیق حاضر نیز تأییدکننده نتایج نامبردگان بود.

یکی از نتایج قابل توجه به‌دست آمده از تحقیق حاضر، واکنش متفاوت زنبورهای پارازیتوئید *T. brassicae* به دو دمای ۱۰ و ۱۴ درجه سلسیوس بود. بر این اساس، رشد تخم‌های پارازیته قرار گرفته در دمای ۱۰ درجه سلسیوس به مدت دو ماه، پس از انتقال به دمای ۲۵ درجه سلسیوس، ظرف مدت ۱۰ روز کامل شد و حشرات کامل به‌طور همزمان از تخم‌های پارازیته خارج شدند. این نتایج مشابه با نتایج به‌دست آمده توسط سایر محققان بود. بر اساس نتایج لسارد، زنبورهای پارازیتوئید *T. brassicae* در دمای پایین تنها وارد حالتی همچون رکود رشدی می‌شود (Lessard 2012). چرا که زنبورهای پارازیتوئید این گونه پس از قرارگیری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس صرف نظر از مدت زمان قرارگیری در دمای پنج درجه سلسیوس تنها دارای یک پیک خروج بودند که بلافاصله پس از قرارگیری در دمای بهینه رشد مشاهده شد. (Chen et al. 2008) نیز معتقد هستند که از سرگیری سریع رشد پس از قرارگیری در معرض دمای بهینه، نشان‌دهنده رکود رشدی است. بنابراین می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که زنبور پارازیتوئید *T. brassicae* در دمای ۱۰ درجه سلسیوس، تنها وارد رکود رشدی می‌شود. حال آن‌که در رابطه با تخم‌های پارازیته قرار گرفته در دمای ۱۴ درجه سلسیوس به مدت ۵۰ روز، خروج حشرات کامل پس از گذشت ۴-۶ هفته و به‌صورت غیر همزمان در دمای ۲۵ درجه سلسیوس مشاهده شد که به‌نظر می‌رسد نشان‌دهنده ورود به دیپوز در دمای ۱۴ درجه سلسیوس باشد. درصد دیپوز در دمای ۱۴ درجه سلسیوس برابر با $12/80 \pm 1/19$ درصد بود. بویوین بیان کرده است که زنبورهای پارازیتوئید جنس تریکوگراما در رویارویی با دماهای پایین می‌توانند وارد دیپوز یا رکود رشدی شوند (Boivin 2010).

در دماهای پایین در اثر کاهش سرعت متابولیسم، رشد مراحل نابالغ طولانی‌تر شده و منابع بیشتری جهت حفظ سوخت‌وساز بدن اختصاص داده می‌شود که این امر سبب زیان به دیگر ویژگی‌های زیستی حشرات همچون تولیدمثل آن‌ها می‌شود (Boivin 2010). دما به دو صورت بر نسبت جنسی به‌عنوان یکی از فاکتورهای اصلی در توانمندی زیستی پارازیتوئیدها تأثیر می‌گذارد،

پارازیتویید *T. brassicae* در دمای ۱۰ درجه سلسیوس می‌توان بعد از گذشت حدود سه ماه زنبورهایی را در اختیار داشت که نسبت جنسی افراد خارج شده، تفاوت معنی‌داری با دمای ۲۰ درجه سلسیوس نخواهند داشت و تنها میزان زادآوری و درصد خروج آن‌ها به میزان جزئی کاهش می‌یابد. بنابراین پیشنهاد می‌شود دستکم یک نسل قبل از رهاسازی در مزرعه، زنبورهای پارازیتویید *T. brassicae* تحت شرایط دمایی ۱۰ درجه سلسیوس در انستیتارپوم‌ها نگهداری شوند تا به این ترتیب هم از خطر احتمالی کاهش توانمندی زیستی زنبور پارازیتویید جلوگیری شود و هم میزان کافی از زنبور پارازیتویید همراه با آغاز فصل زراعی و شروع فعالیت آفات در اختیار کشاورزان قرار داده شود.

سیاسگزاری

این پژوهش با استفاده از امکانات پژوهشی گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران و با استفاده از حمایت‌های مالی قطب علمی کنترل بیولوژیک آفات گیاهی و همچنین موسسه پژوهشی کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی دانشگاه تهران انجام شده است. همچنین از خانم دکتر نفیسه پورجواد، استادیار دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان برای مساعدت‌هایشان در شناسایی زنبور پارازیتویید *T. brassicae*، تشکر و قدردانی می‌گردد.

بنابر تحقیقات انجام شده، میزان آسیبی که به حشره قرار گرفته در دمای پایین وارد می‌شود بستگی به مرحله زندگی حشره دارد، اگر حشره در مراحل نابالغ در معرض دمای پایین قرار گیرد، ذخایر چربی و به‌دنبال آن بقای حشره کامل تحت تأثیر دمای پایین کاهش می‌یابد (Chen et al. 2008). در صورت قرارگیری مراحل نابالغ پارازیتوییدها در دماهای پایین‌تر از دمای بهینه که منجر به انجماد نمی‌شود، توانمندی زیستی پارازیتوییدهای بالغ کاهش می‌یابد (Colinet and Boivin 2011). بنابر اظهارات بویوین هزینه بقا و زنده‌مانی مراحل نابالغ زنبورهای پارازیتویید در دمای پایین، کاهش زادآوری حشرات کامل آن‌ها است (Boivin 2010). میزان خروج، طول عمر و زادآوری زنبورهای پارازیتویید *T. brassicae* به دنبال کاهش دما کاهش یافت (Lessard 2012). بنابر نتایج به‌دست آمده در این تحقیق به نظر می‌رسد که دیپوز فرایندی هزینه‌برتر از رکود رشدی می‌باشد؛ چرا که میزان زادآوری افرادی که در ۱۴ درجه سلسیوس به دیپوز می‌روند کمتر از میزان زادآوری افرادی است که تنها رشد آن‌ها در دمای ۱۰ و ۱۴ درجه سلسیوس با رکود مواجه شده است.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، این گونه استنباط می‌شود که در صورت انبارداری زنبور

REFERENCES

- Ayvaz A, Karasu E, Karaborklu S, Tuncbilek A (2008) Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Stored Products Research* 44: 232-240.
- Bayram A, Ozcan H, Kornosor S (2005) Effect of cold storage on the performance of *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae), an egg parasitoid of *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Control* 35: 68-77.
- Boivin G (1994) Overwintering strategies of egg parasitoids, In: Wajnberg E, Hassan SA (eds.), *Biological control with egg parasitoids*. CAB International, Wallingford, K.
- Boivin G (2010) Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. *Neotropical Entomology* 39: 457-463.
- Chen W, Leopold RA, Harris MO (2008) Cold storage effect on maternal and progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae). *Biological Control* 46: 122-132.
- Colinet H, Boivin G (2011) Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. *Biological Control* 58: 83-95.
- Danks HV (1987) Insect dormancy: an ecological perspective. *Biological Survey of Canada*, Ottawa.
- Denlinger DL, Lee RE Jr (1998) Physiology of cold sensitivity, In: Hallman GJ, Denlinger DL (eds.), *Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management*. Westview Press, Boulder.
- Dutton A, Bigler F (1995) Flight activity assessment of the egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae) in laboratory and field conditions. *Entomophaga* 40: 223-233.

- Ebrahimi E, Pintureau B, Shojai M** (1998) Morphological and enzymatic study of the genus *Trichogramma* in Iran. *Applied Entomology and Phytopathology* 66: 39-43.
- Garcia P, Tavares J** (2001) Effect of host availability on *Trichogramma cordubensis* (Insecta: Hymenoptera) reproductive strategies. *Arquipelago –Life and Marine Sciences Suppl (Part B)* 2: 43-49.
- Garcia VP, Wajnberg E, Pizzol J, Oliveira MLM** (2002) Diapause in the egg parasitoid *Trichogramma cordubensis*: Role of temperature. *Journal of Insect Physiology* 48: 349-355.
- Godfray HCJ** (1994) Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Heimpel GE, Lundgren JG** (2000) Sex ratios of commercially reared biological control agents. *Biological Control* 19: 77-93.
- Jalali SK, Singh SP** (1992) Differential response of four *Trichogramma* species to low temperatures for short term storage. *Entomophaga* 37: 159-165.
- Johnson JA** (2007) Survival of Indian meal moth and navel orange worm (Lepidoptera: Pyralidae) at low temperatures. *Journal of Economic Entomology* 100: 1482-1488.
- Laing JE, Corrigan JE** (1995) Diapause induction and post diapause emergence in *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae): the role of host species, temperature, and photoperiod. *Canadian Entomologist* 127: 103-110.
- Lessard E** (2012) The effect of temperature, age and hunger on adult female fitness and on host-feeding behaviour in *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Master of Science thesis, McGill University, Montreal.
- Levie A, Vernon P, Hance T** (2005) Consequences of acclimation on survival and reproductive capacities of cold-stored mummies of *Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera: Aphidiinae). *Journal of Economic Entomology* 98: 704-708.
- Leopold RA** (2000) Short-term cold storage of house fly (Diptera: Muscidae) embryos: survival and quality of subsequent stages. *Annals of the Entomological Society of America* 93: 884-889.
- Ozder N, Saglam O** (2005) Effect of short term cold storage on the quality of *Trichogramma brassicae*, *T. cacoeciae*, and *T. evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Great Lakes Entomologist* 37(3-4): 183-187.
- Pandey RR, Johnson MW** (2005) Effects of cool storage on *Anagyrus ananatis* Gahan (Hymenoptera: Encyrtidae). *Biological Control* 35: 9-16.
- Pinto JD, Stouthamer R** (1994) Systematics of Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*, In: Wajnberg E, Hassan SA (eds.), *Biological control with egg parasitoids*, Wallingford: CAB International, UK.
- Pintureau B, Daumal J** (1995) Effects of diapause and host species on some morphometric characters in *Trichogramma* (Hym: Trichogrammatidae). *Experientia* 51: 67-72.
- Reznik SYa, Voinovich ND, Vaghina NP** (2011) Maternal influence on diapause induction in *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae): the dynamics of photosensitivity. *Journal of Applied Entomology* 135 (6): 438-445.
- Rundle BJ, Thomson LJ, Hoffmann AA** (2004) Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three *Trichogramma* spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold. *Journal of Economic Entomology* 97: 213-221.
- Shirazi J, Taghizadeh M, Dadpour H, Attaran MR, Zand S** (2010) Investigation on the parasitism level of *Ostrinia nubilalis* (Hub.) eggs related to different densities of released *Trichogramma brassicae* Bezd. in corn. Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress, Tehran, Iran.
- Teshler MP, Dernovici SA, Ditommaso A, Coderre D, Watson AK** (2004) A novel device for the collection, storage, transport, and delivery of beneficial insects, and its application to *Ophraella communa* (Coleoptera: Chrysomelidae) *Biocontrol Science and Technology* 14: 347-357.
- Tezze AA, Botto EN** (2004) Effect of cold storage on the quality of *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biological Control* 30: 11-16.
- Uckan F, Gulel A** (2001) The effects of cold storage on the adult longevity, fecundity and sex ratio of *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hym: Braconidae). *Turkish Journal of Zoology* 25: 187-191.
- Venkatesan T, Singh SP, Jalali SK** (2000) Effect of cold storage on cocoons of *Goniozus nephantidis* Muesebeck (Hymenoptera: Bethyridae) stored for varying periods at different temperature regimes. *Journal of Entomological Research* 24: 43-47.
- Zaslavski VA, Umarova TY** (1990) Environmental and endogenous control of diapause in *Trichogramma* species. *Entomophaga* 35: 23-29.