کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی
دورهٔ ۸، شمارهٔ ۲،پاییز و زمستان ۱۳۹۸ (۸۵-۷۵)
DOI: 10.22059/jbioc.2019.285580.268

اثر جفت‌گیری و سن افراد ماده بر ویژگی‌های تولیدمثلی *Psix saccharicola* (Hymenoptera: Scelionidae) پارازیتویید تخم سن‌های سبز پسته

زهرا غلامعلی‌زاده[۱]، مهدی ضیاءالدینی[۲*] و محمدامین جلالی[۲]
دانشجوی دوره دکتری، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان، رفسنجان
دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان، رفسنجان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰٤/۲۹- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۰٦)

چکیده

زنبورهای پارازیتویید تخم جایگاه مهمی در کنترل زیستی آفات دارند که در اکوسیستمی پویا به کاوش تخم‌های کوچک میزبان می‌پردازند. با توجه به محدودیت طول عمر، دسترسی به میزبان در زمان کوتاه یک اصل مهم در موفقیت تولیدمثلی محسوب می‌گردد. طول عمر و ویژگی‌های تولیدمثلی زنبور پارازیتویید تخم ***Psix saccharicola*** **(Mani) (Hymenoptera: Scelionidae)** در گروه‌های سنی ۱، ۹، ۱۸، ۲۷ و ۳٦ روز و در دو وضعیت فیزیولوژیک جفت‌گیری نموده و باکره با پرورش روی تخم‌های سن سبز یکدست پسته، ***Acrosternum arabicun*** **(Hem.:Pentatomidae)** تعیین شد. افزایش سن زنبور ماده باعث کاهش تدریجی بارآوری شد، ولی جفت‌گیری بر طول عمر ماده‌ها اثر قابل توجهی نداشت. جفت‌گیری افراد ماده منجر به تحریک اندام‌های تولیدمثلی و افزایش تولید نتاج در طولانی مدت شده است. بقای کل نتاج و نسبت جنسی نتاج همراه با افزایش سن مادران، کاهش یافت. با توجه به نتایج این پژوهش، دسترسی بهینه به میزبان برای ***P. saccharicola***، قبل از ۲۷ روزگی پیشنهاد می‌شود. بنابراین، برای افزایش کارایی عامل کنترل بیولوژیک، توجه به سن پارازیتوییدهای ماده به منظور پرورش و رهاسازی انبوه و همچنین تعیین دوره‌های رهاسازی تلقیحی، اهمیت زیادی دارد.

واژه‌های کلیدی: کنترل بیولوژیک، پرو-اویژنی، سین-اویژنی، پنتاتومیده، پسته.

Influence of female mating and age on reproduction attributes of *Psix saccharicola* (Hymenoptera: Scelionidae), egg parasitoid of pistachio green-stink bugs

Z. Gholamalizade, M. Ziaaddini* and M. A. Jalali
1.Ph.D. Student, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran.
2.Associate Prof., Department of Plant Protection, College of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran
(Received: July 20, 2019 - Accepted: November 27, 2019)

ABSTRACT

Hymenopteran tiny egg parasitoids, as important agents in biological control of pest, attack small host eggs in a dynamic ecosystem. Considering limit adult longevity, access to the host in short-term is essential to gain reproduction success. Longevity and reproduction attributes of egg parasitoid *Psix saccharicola* (Mani) (Hymenoptera: Scelionidae) was determined in two physiological status, mated and virgin, depended to age 1-, 9-, 18-, 27- and 36-days old. Mating of females had no distinct effect on longevity, although aging caused a consecutive decline in fecundity of all females. Moreover, mating trigger females reproduction system to produce more progeny in the long-term. Survival of progeny and progeny sex ratio produced by mated females decreased depending to mothers aging. The results revealed that the optimum host access for females is before 27-days old. Therefore, female age is important for biological control efforts such as mass rearing, inundation and also a determination of inoculation rhythms.

Keywords: Biological control, Pro-ovigeny, Synovigeny, Pentatomidae, Pistachio.

* Corresponding author E-mail: ziaaddini@gmail.com

مقدمه

کارایی تولیدمثلی دشمنان طبیعی با تولید تعداد نتاج بالا و همچنین تولید تعداد بیشتر نتاج ماده که تداوم‌بخش تولید نسل هستند، سنجیده می‌شود (Boivin 2010، Price *et al.* 2011). عوامل بسیاری بر ویژگی‌های تولیدمثلی پارازیتوییدها اثرگذار هستند که شامل عوامل اکولوژیکی از جمله میزبان، دما و شرایط جوی و همچنین عوامل ذاتی افراد ماده مانند وضعیت جفت‌گیری و تولید تخم در دوران بالغ و نابالغ را می‌توان ذکر نمود (Chidawanyika *et al.* 2019، Jervis *et al.* 2008، Vinson and Iwantsch 1980). زنبورهای پارازیتویید تخم همانند گونه‌های متعلق به خانواده‌های تریکوگراماتیده، انسیرتیده، میماریده و سلیونیده که جایگاه مهمی در کنترل بیولوژیک آفات دارند، حشرات ریزجثه‌ای هستند که در یک اکوسیستم پویا به دنبال تخم‌های میزبان که آن‌ها نیز کوچک و گاهی مخفی هستند، به کاوش می‌پردازند (Hilker and Fatouros 2015، Jones 1988، Vinson, 2010). با در نظر گرفتن محدودیت طول عمر، دسترسی به میزبان مناسب در طول زمان کوتاه یکی از ویژگی‌های مهم در موفقیت تولیدمثلی محسوب می‌گردد که این مدت زمان ممکن است با تغییر شرایط جوی و محدود شدن جست‌وجوگری پارازیتویید و یا به دلیل تراکم پایین میزبان مناسب در محیط، با تأخیر همراه باشد (Bannerman *et al.* 2011، Fischbein *et al.* 2019، Henri *et al.* 2012، Louâpre *et al.*, 2019، Romo and Tylianakis 2012).

به طور کلی، تولید تخم در پارازیتوییدهای ماده با دو شیوه پرو-اویژنی یا سین-اویژنی انجام می‌گردد (Jervis *et al.* 2001). زنبورهای پارازیتویید سین-اویژنیک زمانی که با شرایط نامساعد برای تخم‌گذاری یا محدودیت میزبان روبرو شوند قادر به ذخیره‌سازی نسبی تخم‌های بالغ و دوباره‌سازی تخم‌های نابالغ در زمان مساعد شدن شرایط و دسترسی به میزبان می‌باشند، در حالی که برای پارازیتوییدهای پرو-اویژنیک رویارویی با شرایطی که تخم‌گذاری افراد ماده با تأخیر همراه باشد، منجر به مرگ تخم‌های بالغ، بدون جبران دوباره و تولید تخم مناسب، می‌گردد؛ بنابراین، تخم‌گذاری در زمان مناسب یکی از عوامل مهم در تولیدمثل بهینه‌ی گونه‌ها می‌باشد (Guo *et al.* 2011، Irvin and Hoddle 2009، Pourian *et al.* 2015، Richard and Casas 2009). بسیاری از زنبورهای پارازیتویید ماده متعلق به خانواده سلیونیده در دوران زندگی خود تنها یک بار جفت‌گیری می‌نمایند و اسپرماتوزوئیدهای نر را در اسپرماتیکای خود ذخیره می‌نمایند و در طول دوران تخم‌گذاری، با اختیار خود و بر اساس سیستم هاپلو-دیپلوییدی، بسته به شرایط از آن‌ها استفاده نموده و نتاج ماده دیپلویید (حاصل تخم‌های تلقیح شده) و یا نتاج نر هاپلویید (حاصل تخم‌های تلقیح نشده) را تولید می‌نمایند (Heimpel and de Boer 2008، Waage 1982).

با توجه به طول عمر محدود اسپرماتوزوئیدها در کیسه ذخیره اسپرم افراد ماده و محدودیت جفت‌گیری افراد ماده پارازیتویید، دسترسی به میزبان در زمان مناسب برای تولید افراد ماده‌ی تداوم‌بخش نسل برای پارازیتوییدها، اهمیت بیشتری خواهد یافت (Chirault *et al.* 2019، Gotoh and Furukawa 2018، Orr and Brennan 2015). در پژوهش حاضر با استفاده از دسته‌های تخم سن سبز یکدست *Acrosternum arabicum* (Wagner, 1959) (Hem.: Pentatomidae) که یکی از آفات مهم در پسته‌کاری‌ها می‌باشد (Mehrnejad *et al.* 2013)، ویژگی‌های تولیدمثلی زنبور پارازیتویید *Psix saccharicola* (Mani) (Hymenoptera: Scelionidae) که یکی از پارازیتوییدهای فعال در پسته‌کاری‌ها است (Mohammadpour *et al.* 2016)، از جمله طول عمر افراد ماده، بارآوری، نرخ بقای افراد نابالغ، نسبت جنسی نتاج و طول دوره‌ی تخم‌گذاری بر اساس سن افراد بالغ ماده در دو وضعیت جفت‌گیری نموده و باکره، تعیین شده است. نتایج حاصل به فهم بهتر تولید تخم بهینه و توان ذخیره اسپرم در پارازیتوئید ماده، کمک خواهد نمود و از طرفی توان تولید نسل پارازیتویید ماده در شرایطی که تراکم میزبان مناسب پایین باشد و همچنین مدت زمان بهینه نگهداری پارازیتویید در پرورش و رهاسازی انبوه را مشخص می‌نماید.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

برای تهیه کلنی، حشرات کامل سن *A. arabicum* و دستجات تخم آن‌ها از باغ‌های پسته رفسنجان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. پرورش سن در ظروف پلاستیکی به ابعاد ۱۲cm×۳۰×۲۰ با درب‌های توری‌دار با مش ۵۰۰ میکرون، تحت شرایط مشخص (دمای ۱±۲۷ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) انجام شد و برای تغذیه ازگیاه زاروق[1] استفاده شد. بخشی از دسته‌های تخم گرفته‌شده از پرورش سن در آزمایشگاه برای حفظ کلنی و بخشی دیگر که روزانه جمع‌آوری می‌گردید، برای انجام آزمایش‌ها و پرورش پارازیتویید استفاده شد. از روش تله‌تخم برای جمع‌آوری زنبورهای پارازیتویید استفاده شد. بدین منظور دسته‌های تخم یک‌روزه گذاشته شده روی زاروق حاصل از پرورش سن در آزمایشگاه، روی کارت‌هایی زرد رنگ و به ابعاد ۷×۷ سانتی‌متر با استفاده از عسل چسبانده شد و در یک باغ پسته سمپاشی‌نشده و آلوده به سن پسته و روی بوته‌های زاروق در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر نصب گردید (Mohammadpour *et al.* 2016). کارت‌ها پس از ۴۸ ساعت جمع‌آوری و تخم‌های پارازیته‌شده درون انکوباتور با شرایط استاندارد (دمای ۱±۲۷ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) و جدا از کلنی سن میزبان، تا خروج حشرات کامل زنبور قرار داده شد. گونه *P. saccharicola* با استفاده از کلید شناسایی پروفسور جانسون[2] و مقایسه با نمونه‌های شناسایی شده موجود در آزمایشگاه دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان، شناسایی، جداسازی و برای آزمایش‌های مورد نظر در آزمایشگاه روی دستجات تخم سن پرورش یافت. برای دسترسی به زنبورهایی با طول عمر مشخص، زنبورهای پارازیتوئید نر و ماده جمع‌آوری شده از دستجات تخم در لوله آزمایش ۱۵ میلی لیتری و روی تخم‌های یک روزه‌ی سن رهاسازی شده و سپس تخم‌ها در روز بعد جمع‌آوری و در داخل انکوباتور با شرایط استاندارد تا زمان خروج حشرات کامل نگهداری شدند. بخشی از حشرات کامل جهت حفظ کلنی و بخشی دیگر جهت انجام آزمایش‌ها استفاده شد. برای تغذیه زنبورها از قطرات ریز آب عسل ده درصد که روی کاغذهایی به ابعاد ۱× ۵ سانتی‌متر قرار داده شده بود، استفاده گردید (Mohammadpour *et al.* 2014). به منظور تعیین اثر وضعیت فیزیولوژیک جفت‌گیری بر ویژگی‌های زیستی افراد بالغ ماده زنبور پارازیتویید *P. saccharicola*، نیاز به تهیه گروه یکسان از افراد ماده جفت‌گیری نموده و باکره بوده است که این افراد از میان نتاج ۱۰ مادر مختلف انتخاب شدند. بدین منظور، ۱۰ دسته تخم ۲۰ تایی از میزبان در اختیار پارازیتوییدهای ماده منفرد که جفت‌گیری نموده بودند قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت پارازیتوییدهای مادر حذف شدند و تخم‌های پارازیته شده میزبان در لوله‌های ۱۵ میلی‌لیتری در انکوباتور نگهداری شدند. روزانه وضعیت این دسته تخم‌ها بررسی گردید تا اولین پارازیتوییدهای بالغ ظاهر شوند. به طور کلی، افراد نر *P. saccharicola* حداقل یک روز زودتر از افراد ماده از میزبان خارج می‌شوند (اطلاعات منتشر نشده). تشخیص افراد نر و ماده بر اساس تفاوت شکل شاخک‌ها که در افراد ماده چماقی و در افراد نر نخی شکل است، انجام شد. برای تهیه‌ی گروه یکسان از افراد بالغ ماده باکره نیاز به ممانعت از عمل جفت‌گیری بوده است که با مشاهده روزانه میزبان‌های پارازیته شده و حذف افراد نر ظاهر شده برای نیمی از دسته‌تخم‌ها، تهیه گروه‌های یکسان از افراد بالغ ماده باکره انجام شد. در مورد نیم دیگر از دسته‌تخم‌های پارازیته شده که افراد نر حذف نشدند، عمل جفت‌گیری افراد ماده با افراد نر حاضر انجام شده و گروه یکسان افراد ماده جفت‌گیری نموده تهیه گردید.

انجام آزمایش‌ها

برای تعیین طول عمر افراد بالغ ماده در مجموع ۲۵ پارازیتویید برای هر وضعیت فیزیولوژیک باکره و جفت‌گیری نموده، از گروه یکسان تهیه شده انتخاب شد. حشرات به طور منفرد در لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری و در شرایط آزمایشگاهی مشخص قرار داده شدند (دمای ۱±۲۷ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی

1. *Salsola kali* L. (Caryophyllales: Chenopodiaceae)
2. Prof. N.F. Johnson (Ohio State University, USA)

۶۵±۵ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی). درب لوله با درپوش پنبه‌ای مسدود شد و تنها تغذیه‌ی پارازیتوییدها با استفاده از عسل رقیق شده انجام شد. لوله‌ها روزانه بازدید و تعداد روزهای عمر این افراد از روز اول خروج از میزبان تا روز مرگ شمارش و ثبت گردید. برای تعیین اثر سن بر ویژگی‌های تولیدمثلی افراد ماده جفت‌گیری نموده و باکره، زمان خروج از میزبان افراد بالغ روی لوله‌های آزمایش تهیه گروه یکسان از افراد ماده جفت‌گیری نموده و باکره، ثبت گردید تا بر این اساس در زمان‌های مناسب پارازیتوییدهای ماده با طول عمر ۱، ۹، ۱۸، ۲۷ و ۳۶ روز از میان گروه یکسان برای آزمون‌ها انتخاب شوند. گروه‌های سنی براساس نتایج آزمون طول عمر افراد ماده پارازیتویید، انتخاب شدند. برای هر گروه سنی ۸ تکرار بر اساس وضعیت جفت‌گیری، در نظر گرفته شد که در صورت مرگ پارازیتویید ماده قبل از اتمام دوره‌ی تخم‌گذاری، آن تکرار جایگزین گردید. برای تعیین ویژگی‌های تولیدمثلی هر گروه مورد آزمایش، روزانه دسته‌تخم‌های میزبان (۱۲۰ تایی در هفته اول و ۴۰ تایی برای باقی روزهای عمر) در اختیار هر فرد بالغ ماده قرار داده شد. دسته تخم‌های پارازیته شده در هر روز بر اساس سن و وضعیت جفت‌گیری و شماره تکرار در لوله‌های آزمایش ۱۵ میلی‌لیتری داخل انکوباتور نگهداری شدند تا نتاج بالغ از میزبان خارج شوند. تخم‌های پارازیته شده توسط *P. saccharicola* پس از دو روز خاکستری رنگ و سپس به طور کامل تیره می‌شوند. تخم‌هایی که تغییر رنگ مذکور را داشته ولی هیچ زنبوری از آن‌ها خارج نشده بود به عنوان مرگ و میر افراد نابالغ زنبور پارازیتویید در نظر گرفته شدند. روند بارآوری روزانه با شمارش تخم‌های پارازیته شده میزبان در هر روز و با شمارش مجموع تخم‌های پارازیته شده میزبان توسط هر فرد ماده پارازیتویید، میزان بارآوری و روند تخم‌گذاری محاسبه شد. همچنین، با شمارش تعداد روزهایی که پارازیتوییدهای بالغ ماده با سن و وضعیت جفت‌گیری مشخص، قادر به تخم‌گذاری و پارازیته نمودن حتی یک تخم میزبان بوده‌اند، طول دوره تخم‌گذاری بر اساس تعداد روز تعیین شد. بر این اساس، تعداد کل تخم‌های پارازیته شده، تعداد نتاج سالم که از میزبان خارج شده‌اند، تعداد افراد نر و ماده تولید شده شمارش گردید. با شمارش تعداد کل نتاج بالغ خارج شده از تخم‌های میزبان و تقسیم آن بر کل بارآوری، نرخ بقای افراد تا دوران بلوغ محاسبه گردید. نسبت جنسی نتاج با شمارش تعداد افراد بالغ ماده و تقسیم آن بر کل نتاج بالغ بدست آمده برای هر فرد ماده، محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

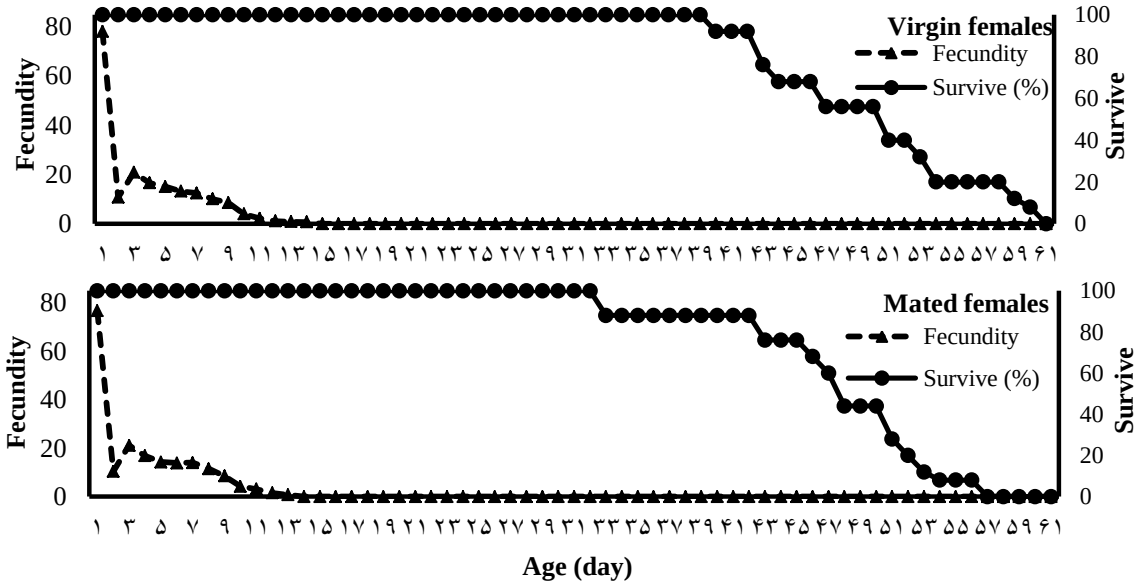
اثر گروه سنی بر ویژگی‌های زیستی (میزان مرگ و میر افراد نابالغ، طول و روند دوره تخم گذاری حشرات ماده، بارآوری روزانه، و نسبت جنسی نتاج در دو حالت افراد بالغ ماده جفت‌گیری نموده و باکره به صورت جداگانه انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها پس از انجام آزمون نرمال بودن خطای داده‌های آزمایش و با استفاده از ®Minitab 16.1.0 و با رویه‌های آماری Generalized linear Model (GLM) انجام شد. برای نرمال کردن داده‌ها از تبدیل arcsin استفاده شد. مقایسه میانگین گروه‌های سنی ۱، ۹، ۱۸، ۲۷ و ۳۶ با آزمون توکی و سطح اطمینان ۰/۰۵ انجام شد. مقایسه میانگین ویژگی‌های زیستی ذکر شده و طول عمر افراد بالغ ماده در دو وضعیت فیزیولوژیک باکره و جفت‌گیری نموده در هر گروه سنی با آزمون T-test انجام شد که در صورت نابرابری واریانس‌ها، از آزمون Welch test برای تعیین تفاوت‌ها، استفاده شد. همه‌ی محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1.3 انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به پرورش زنبور *P. saccharicola* روی مرحله‌ی تخم سن پسته نشان داد که میانگین طول عمر افراد بالغ ماده در دو وضعیت باکره و جفت‌گیری نموده به ترتیب ۱/۳۴ ± ۵۰/۱۲ و ۱/۰۳ ± ۴۸/۲۰ روز می‌باشد که تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P = ۰/۲۶۰، df = ۴۸، T = ۰/۲۱۴).

علی‌رغم عمر طولانی، دوره‌ی تخم‌گذاری پارازیتوییدهای ماده کوتاه بوده است (شکل شماره ۱). بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش و با توجه به طول

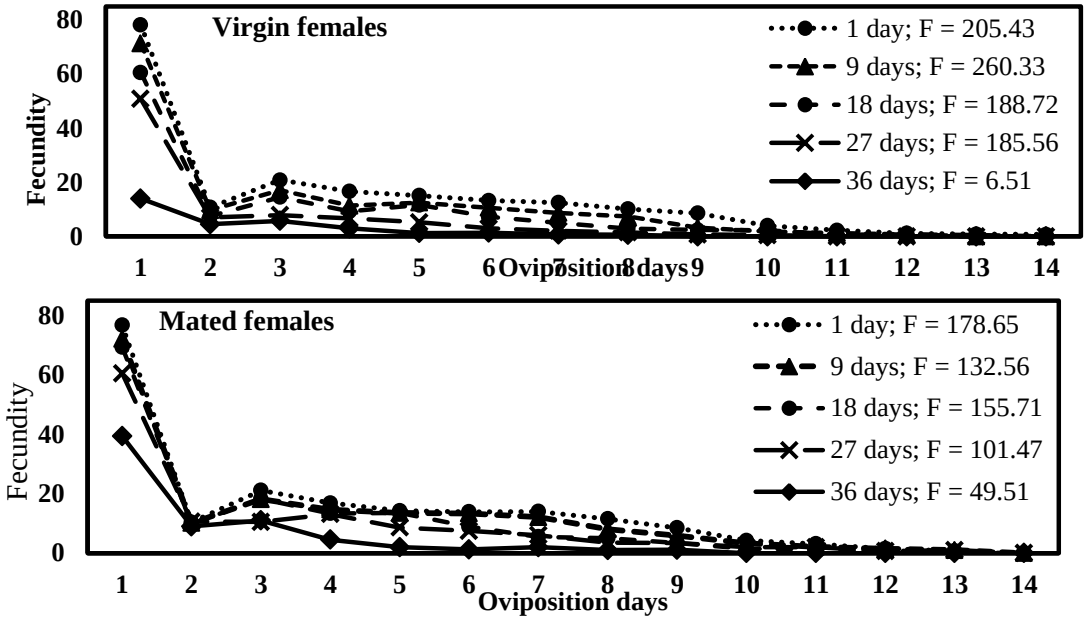
عمر حشرات ماده، گروه‌های سنی از ۱ تا ۳۶ روز برای آزمون‌ها انتخاب گردید.



شکل ۱- درصد بقا و میزان بارآوری روزانه افراد ماده زنبور پارازیتویید *Psix saccharicola* در دو وضعیت فیزیولوژیک جفت‌گیری نموده و باکره در شرایط آزمایشگاهی

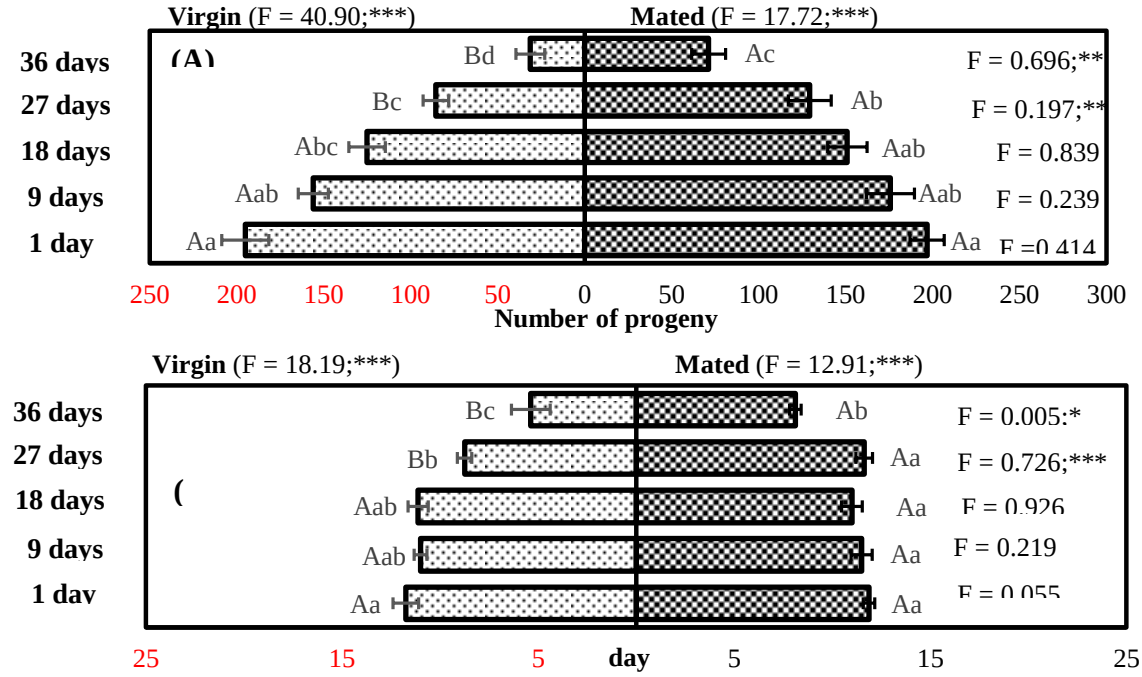
Figure 1- Survive and Daily fecundity of *Psix saccharicola* females depended to physiological mating status (virgin or mated) at laboratory conditions.

پارازیتوییدهای ماده باکره تنها نتاج نر تولید می‌کنند و افراد ماده جفت‌گیری نموده، توان تولید نتاج نر و ماده را دارند. نتایج آزمون بارآوری روزانه مشخص نمود که میزان بارآوری در اولین تجربه تخم‌گذاری به طور قابل ملاحظه‌ای برای پارازیتوییدهای باکره و جفت‌گیری نموده در همه‌ی گروه‌های سنی، در بالاترین سطح بوده است (همه موارد $p < ۰/۰۰۰۱$) و تا پایان دوره‌ی تخم‌گذاری روند تولید نتاج به تدریج کاهش یافته است (شکل ۲). به طور کلی، میزان بارآوری پارازیتوییدهای ماده *P. saccharicola* چه باکره و چه جفت‌گیری نموده، با افزایش سن، به تدریج کاهش داشته است و بیشترین کاهش قابل توجه در مورد افراد ماده جفت‌گیری نموده با سن ۳۶ روز و برای افراد ماده باکره با سن ۲۷ و ۳۶ روز مشاهده شده است. مقایسه بارآوری میان افراد جفت‌گیری نموده و باکره در هر گروه سنی، نشان‌دهنده‌ی عدم تفاوت در گروه‌های سنی ۱ ، ۹ و ۱۸ روز می‌باشد؛ در صورتی که میزان بارآوری پارازیتوییدهای ماده جفت‌گیری نموده در سن ۲۷ و ۳۶ به طور قابل توجهی بیشتر از پارازیتوییدهای ماده باکره در همین گروه‌های سنی بوده است (شکل ۳). طول دوران تخم‌گذاری پارازیتوییدهای ماده جفت‌گیری نموده با وجود تفاوت‌های اندک در گروه‌های سنی ۱، ۹، ۱۸ و ۲۷ روز، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشته است؛ اما طول دوران تخم‌گذاری پارازیتوییدهای ماده ۳۶ روزه به طور معنی‌داری کاهش یافته است. در مورد پارازیتوییدهای ماده‌ی باکره، به طور واضح چهار وضعیت دوره‌ی تخم‌گذاری بلندمدت برای گروه‌های سنی ۱ روزه، میانه برای گروه‌های سنی ۹ و ۱۸ روزه، کوتاه‌مدت برای گروه سنی ۲۷ روزه و در نهایت بسیار کوتاه‌مدت برای گروه سنی ۳۶ روزه، مشاهده می‌شود. همچنین مقایسه طول دوره تخم‌گذاری برای هر گروه سنی میان دو گروه پارازیتوییدهای ماده باکره و جفت‌گیری نموده، نشان‌دهنده‌ی عدم تفاوت آماری در گروه‌های سنی ۱ ، ۹ و ۱۸ روز می‌باشد. تفاوت آماری قابل ملاحظه در گروه سنی ۲۷ و ۳۶ روزه مشخص نموده است که طول دوره‌ی تخم‌گذاری افراد ماده جفت‌گیری نموده در این گروه‌های سنی بیشتر از افراد ماده باکره بوده است (شکل ۳).



شکل ۲- روند تخم‌گذاری زنبور *Psix saccharicola* در طول دوره‌ی تخم‌گذاری وابسته به سن افراد بالغ ماده در دو وضعیت فیزیولوژیک جفت‌گیری نموده و باکره؛ رویه آماری برای مقایسه در هر گروه سنی GLM (Tukey HSD) که برای همه $p < ۰/۰۰۰۱$ بوده است.

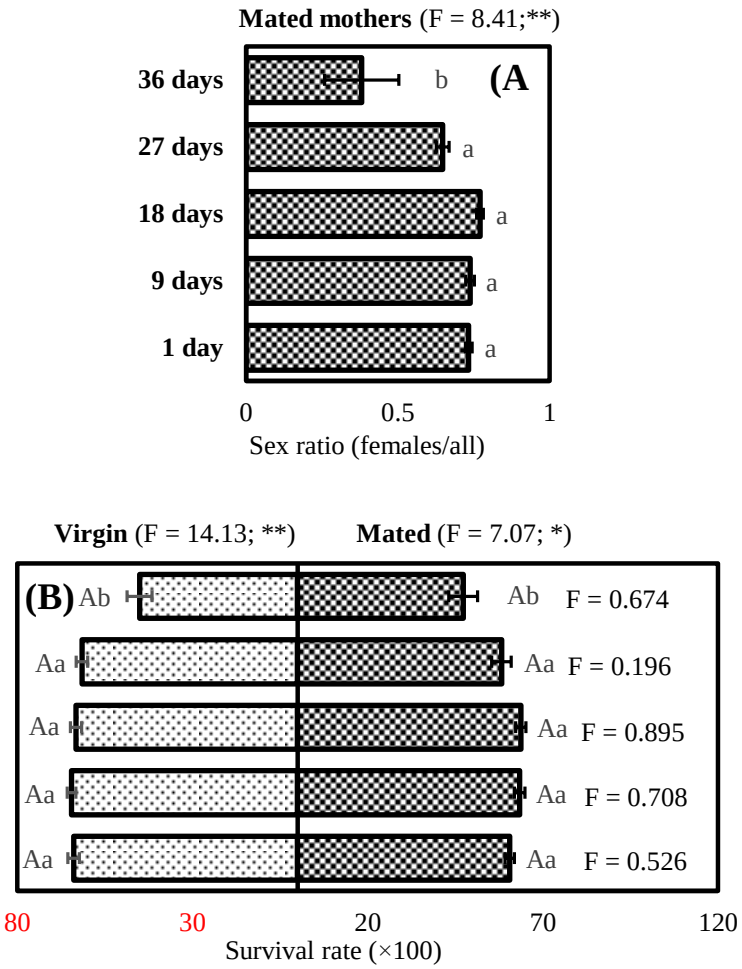
Figure 2- Oviposition trend of *Psix saccharicola* females in age-specific oviposition period depended to mating status, means separated using GLM Proc (Tukey HSD test) within age groups with $p < 0.0001$ for all.



شکل ۳- میزان بارآوری (A) و طول دوره تخم‌گذاری (B) وابسته به سن و وضعیت جفت‌گیری پارازیتوییدهای ماده *Psix saccharicola*؛ رویه آماری مقایسه برای هر وضعیت جفت‌گیری GLM (Tukey HSD) (حروف کوچک انگلیسی و ***: $p < ۰/۰۰۰۱$) و میان دو وضعیت جفت‌گیری برای هر گروه سنی T-test (حروف بزرگ انگلیسی و *: $p < ۰/۰۵$، **: $p < ۰/۰۰۱$، *** $p < ۰/۰۰۰۱$) بوده است.

Figure 3- Fecundity (A) and oviposition period (B) of *Psix saccharicola* related to female age and mating status; Analyze procedure within mating status was GLM Proc (Tukey HSD test) (small letters, $p < 0.0001$: ***) and for each age group was T-test (large letters, $p < 0.05$: *, $p < 0.001$: **, $p < 0.0001$: ***).

نرخ بقای نتاج پارازیتوییدهای ماده جفت‌گیری نموده و باکره در همه‌ی گروه‌های سنی مورد آزمون، با یکدیگر تفاوت مشخصی نداشته است. اما تجزیه آماری مقایسه نرخ بقای نتاج در سنین مختلف پارازیتوییدهای مادر، نشان‌دهنده‌ی کاهش چشمگیر بقای نتاج در سن ۳۶ روزگی برای مادران جفت‌گیری نموده و باکره می‌باشد (شکل ۴). طول عمر افراد بالغ ماده *P. saccharicola* بر نسبت جنسی نتاج اثرگذار بوده است. با توجه به اینکه پارازیتوییدهای باکره تنها نتاج نر تولید می‌نمایند، نسبت جنسی نتاج تنها برای مادران جفت‌گیری نموده تعیین شد. مقایسه این نرخ میان گروه‌های سنی مشخص نمود که تفاوت میانگین‌ها برای گروه‌های سنی ۱، ۹، ۱۸ و حتی گروه سنی ۲۷ روز که کمتر از سه گروه مذکور بوده است، از نظر آماری غیر قابل ملاحظه بوده است؛ در حالی که نسبت جنسی نتاج ماده برای پارازیتوییدهای مادر ۳۶ روزه به طور قابل توجهی کاهش یافته است (شکل ۴).



شکل ۴- (A) مقایسه میانگین نسبت جنسی افراد ماده وابسته به سن مادر با رویه آماری GLM (Tukey HSD) و (B) بقای نتاج پارازیتوییدهای ماده *Psix saccharicola* در دو وضعیت جفت‌گیری نموده و باکره در گروه‌های سنی مختلف؛ رویه آماری برای مقایسه در هر وضعیت جفت‌گیری GLM (Tukey HSD) (حروف کوچک انگلیسی، **: ۰/۰۰۱> p، ***: ۰/۰۰۰۱ > p) و میان دو وضعیت جفت‌گیری در هر گروه سنی T-test (حروف بزرگ انگلیسی) که ۰/۱ < p بوده است.

Figure 4- (A) progeny sex ratio (females/all) depended to mothers age GLM Proc (Tukey HSD, $p < 0.0001$: **)); (B) Progeny survival rate of *Psix saccharicola* in two mating status of mothers and different age group; means separated using GLM Proc (Tukey HSD) within mating status (small letters, $p < 0.001$: *, $p < 0.0001$: **) and T-test between mating status for each age (large letters) with $p > 0.1$ for all.

بحث

وضعیت جفت‌گیری و سن پارازیتوییدهای ماده *P. saccharicola* بر توان تولیدمثلی و نسبت جنسی نتاج، به طور قابل توجهی اثرگذار بوده است. نتایج تعیین روند تخم‌گذاری روزانه افراد ماده *P. saccharicola* در هر شرایط فیزیولوژیک جفت‌گیری و با سن مشخص، نشان داده است که پارازیتوییدهای ماده در همان اولین روز پس از خروج از میزبان یا در اولین تجربه رویارویی با تعداد مناسب میزبان، قادر به تولید بیشترین تعداد نتاج در مقایسه با سایر روزهای تخم‌گذاری و کل توان بارآوری هستند که نشان‌دهنده‌ی پرو-اویژنیک بودن پارازیتویید است. با در نظر گرفتن این نکته که تعداد زیادی از تخم‌های میزبان (۱۲۰ عدد) در اختیار پارازیتوییدهای ماده قرار داده شده بود، عدم ایجاد همه توان تولیدمثلی در اولین تجربه تخم‌گذاری و ادامه‌دار بودن دوره‌ی تخم‌گذاری، مشخص می‌نماید که این پارازیتویید به طور نسبی سین-اویژنیک هم بوده و بخشی از فعالیت به بلوغ رساندن تخم‌ها و یا حتی تولید تخم، در دوران بلوغ پارازیتوییدهای ماده *P. saccharicola* انجام می‌شود. با توجه به عدم یا پایین بودن توانایی پارازیتوییدهای با ویژگی‌های پرو-اویژنیک در تولید و ذخیره‌سازی تخم‌ها و نیاز به وجود همه شرایط خاص به منظور تولید تخم افراد سین-اویژنیک (Richard and Casas 2009 ،Guo *et al.* 2011)، افزایش سن و تأخیر در انجام تخم‌گذاری پارازیتوییدهای ماده منجر به کاهش بارآوری و حتی کاهش نرخ بقای نتاج می‌گردد (Kant *et al.* 2013، Sabbatini Peverieri *et al.* 2012، Steigenga and Fischer 2007)؛ بنابراین، دسترسی به میزبان در زمان مناسب که منجر به بهبود وضعیت بارآوری پارازیتوییدهای ماده *P. saccharicola* می‌گردد، اهمیت بیشتری خواهد یافت. اگر توان اصلی تولیدمثل افراد ماده معادل تولیدمثل افراد باکره باشد (Mills and Kuhlmann 2000)، آنگاه تفاوت میان تولیدمثل افراد ماده جفت‌گیری نموده و افراد ماده باکره، نشان‌دهنده‌ی افزایش توان تخمدان‌های فرد ماده جفت‌گیری نموده برای تشکیل یا به بلوغ رساندن تخم‌های نابالغ در اوواریول‌ها می‌باشد. به طور کلی اگرچه در افراد بالغ ماده تازه خارج شده از میزبان، وضعیت جفت‌گیری اثری بر تولید نتاج نداشته است؛ اما در طولانی مدت، به تدریج، تفاوت تولید نتاج بین دو گروه مادران جفت‌گیری نموده و باکره افزایش یافته است و به طور قابل توجهی توان تولید نتاج در مادران جفت‌گیری نموده بیشتر از مادران باکره بوده است. این تفاوت در توان تولید نتاج اهمیت وضعیت جفت‌گیری بر توان تولیدمثل پارازیتوییدهای ماده *P. saccharicola* و سایر گونه‌های مطالعه شده را نشان می‌دهد (Kasamatsu and Abe 2015، Navasero and Oatman 1989، Ridley 1988). به عبارتی، انجام عمل جفت‌گیری منجر به تحریک تخمدان‌های فرد ماده برای به بلوغ رساندن تخم‌های موجود در اوواریول‌ها و یا حتی تولید تخم‌های جدید می‌گردد (Ridley 1988). نتایج برخی مطالعات مشابه نشان داده است که جفت‌گیری افراد ماده بر بارآوری اثرگذار نبوده است (Silva *et al.* 2018، Sousa and Spence 2000، Túler *et al.* 2017)؛ در این مطالعات تنها محدوده زمانی محدودی از عمر افراد ماده آزمون شده است درحالی که در پژوهش حاضر اثرگذار بودن جفت‌گیری بر بارآوری افراد ماده در طولانی مدت و سنین مختلف پارازیتویید *P. saccharicola* نشان داده شده است. مسلم است که مسیرهای آنزیمی و محرک‌های مختلفی در هر فعالیت فیزیولوژیک حشرات نقش دارند که برای هر گونه متفاوت و ویژه می‌باشد (Leather 2018). اگرچه تاکنون فیزیولوژی دقیق اثر جفت‌گیری بر تولید تخم افراد ماده مشخص نشده است؛ اما بروز تغییرات در بیان ژن‌های حشرات و افزایش برخی ترکیبات مربوط به اسپرماتیکا، پس از انجام عمل جفت‌گیری، مشخص نموده است که وضعیت جفت‌گیری حشرات منجر به بیان ژن‌های جدید ویژه‌ی اسپرماتیکا و حتی تغییر سیستم ایمنی بدن در حشرات می‌گردد (Gotoh *et al.* 2017، Oku *et al.* 2019). انجام آزمون‌های عملی مانند پژوهش حاضر، اثر افزاینده جفت‌گیری افراد ماده بر توان تولیدمثلی و بارآوری افراد ماده را مشخص نموده است؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که بیان ژن‌های ویژه‌ی اسپرماتیکا، پس از انجام جفت‌گیری، به نوعی با افزایش تولید تخم

در افراد ماده ارتباط دارد. مشابه نتایج پژوهش‌های دیگر که اثر افزایش عمر افراد ماده بر توان تولیدمثلی نشان‌دهنده‌ی کاهش بارآوری بوده است (Jia and Liu 2018، Mills and Kuhlmann 2000، Pan *et al.* 2017)، افزایش سن پارازیتوییدهای ماده *P. saccharicola* در هر دو وضعیت فیزیولوژیک جفت‌گیری نموده و باکره، منجر به کاهش تدریجی بارآوری شده است. با توجه به اینکه هورمون‌های پایه برای تولید و بلوغ تخم‌ها، هورمون جوانی و هورمون اکدایسون هستند که با افزایش سن غلظت آن‌ها در بدن فرد کاهش می‌یابد، کاهش توان تولیدمثلی قابل انتظار است (Leather 2018). کاهش کیفیت تخم‌ها با افزایش سن افراد ماده نیز که منجر به کاهش بقای افراد نابالغ شده است نیز می‌تواند به همین دلیل باشد. همچنین مشخص شد که با افزایش سن افراد ماده جفت‌گیری نموده *P. saccharicola*، نسبت نتاج ماده تولید شده که با تلقیح تخم‌ها بدست می‌آیند، به تدریج کاهش یافته است. افراد ماده‌ی حشرات، گامت‌های نر را بعد از انجام جفت‌گیری داخل اسپرماتیکا ذخیره می‌نمایند که دو بخش اصلی این اندام ذخیره گامت نر در افراد ماده، کیسه ذخیره گامت[3] و یک یا دو غده‌ی ترشحی[4] هستند (Pascini and Martins 2017). به طور کلی ترکیبات تولید شده توسط غده ترشحی اسپرماتیکا که به کیسه ذخیره گامت رهاسازی می‌شوند، نقش تغذیه‌کننده برای گامت‌های نر موجود در کیسه ذخیره را بر عهده دارند که می‌تواند در تمام مدت عمر افراد ماده انجام شود (Leather 2018، Pascini and Martins 2017). اما مطالعات جدید نشان داده‌اند که مایع تولیدشده توسط غدد ضمیمه اندام تولیدمثلی افراد نر که در زمان جفت‌گیری به اسپرماتیکا منتقل می‌شود، نقش بسیار مهمی برای تغذیه و تکمیل گامت‌های نر نابالغ دارد (Gotoh and Furukawa 2018، Liberti *et al.* 2018). با توجه به محدود بودن مقدار این مایع و محدودیت تعداد دفعات جفت‌گیری افراد ماده *P. saccharicola*، بقای گامت‌های نر در بدن افراد ماده با افزایش سن و گذشت زمان از وقوع جفت‌گیری کاهش خواهد یافت؛ در نتیجه تعداد فرزندان ماده‌ی دیپلوئید تولید شده نیز کاهش می‌یابد. اگرچه، باید فرضیه دیگری با نام صرفه‌جویی گامتی[5] را نیز در نظر گرفت که افراد ماده بال‌غشائیان که سن آن‌ها افزایش یافته است، هنگام رویارویی با میزبان مناسب و تخم‌گذاری، از تعداد کمتری گامت نر برای تلقیح گامت‌های ماده استفاده می‌نمایند (Baer *et al.* 2016).

نتیجه‌گیری کلی

افزایش سن پارازیتوییدهای ماده *P. saccharicola* باعث کاهش بارآوری افراد ماده جفت‌گیری نموده و باکره شده است. از طرفی جفت‌گیری افراد ماده منجر به افزایش توان بارآوری و تولید نتاج بیشتر شده است. نسبت نتاج ماده تولید شده توسط پارازیتوییدهای جفت‌گیری نموده کاهش یافته است که می‌تواند به دلیل کاهش بقای گامت‌های نر موجود در اندام ذخیره گامت در افراد ماده باشد. با توجه به نکات مذکور و نظر به این که پارازیتویید مورد مطاله ویژگی‌های نزدیک به پرو-اویژنیک را دارا می‌باشد، دسترسی بهینه به میزبان برای *P. saccharicola*، در زمان مناسب که در این پژوهش از اولین روز خروج از میزبان تا ۲۷ روزگی پیشنهاد می‌شود، برای افزایش کارایی این عامل کنترل بیولوژیک اهمیت زیادی خواهد داشت. از این رو، توجه به سن پارازیتوییدهای ماده به منظور افزایش کارایی پارازیتویید و اثر بهتر عامل کنترل بیولوژیک بر جمعیت آفت، یکی از عوامل مهم در تعیین شرایط پرورش و زمان نگهداری پارازیتوییدهای ماده در آزمایشگاه و تعیین زمان مناسب برای رهاسازی پارازیتویید به منظور افزون‌سازی در طبیعت می‌باشد. از طرفی برای برنامه‌های کنترل بیولوژیک تلقیحی و رهاسازی متعدد نیز توجه به طول عمر مفید پارازیتوییدهای رها شده در طبیعت، اهمیت زیادی خواهد داشت.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از نتایج پژوهش رساله‌ی دانشجوی دکتری نگارنده اول و به راهنمایی نگارنده دوم و مشاوره نگارنده سوم مقاله می‌باشد که در آزمایشگاه بیواکولوژی

3. Spermathecal reservoir
4. Spermathecal gland
5. Gamete maintenance

و رفتارشناسی گروه گیاهپزشکی و با هزینه دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان انجام شده است. بدین‌وسیله از همیاری مسئولین گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و معاونت پژوهشی دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان که در انجام و تهیه وسایل و امکانات لازم برای انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، سپاسگزاری می‌شود.

REFERENCES

Baer B, Collins J, Maalaps K, den Boer SPA (2016) Sperm use economy of honeybee (*Apis mellifera*) queens. Ecology and Evolution 6(9): 2877-2885.

Bannerman JA, Gillespie DR, Roitberg BD (2011) The impacts of extreme and fluctuating temperatures on trait-mediated indirect aphid–parasitoid interactions. Ecological Entomology 36(4): 490-498.

Boivin G (2010) Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. Neotropical Entomology 39(4): 457-463.

Chidawanyika F, Mudavanhu P, Nyamukondiwa C (2019) Global climate change as a driver of bottom-up and top-down factors in agricultural landscapes and the fate of host-parasitoid interactions. Frontiers in Ecology and Evolution 7(80): 1-13.

Chirault M, Bressac C, Goubault M, Lécureuil C (2019) Sperm limitation affects sex allocation in a parasitoid wasp *Nasonia vitripennis*. Insect Science 26(5): 853-862.

Fischbein D, Lantschner MV, Corley JC (2019) Modelling the distribution of forest pest natural enemies across invaded areas: Towards understanding the influence of climate on parasitoid establishment success. Biological Control 132(1): 177-188.

Gotoh A, Furukawa K (2018) Journey of sperms from production by males to storage by queens in *Crematogaster osakensis* (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Insect Physiology 105(1): 95-101.

Gotoh A, Shigenobu S, Yamaguchi K, Kobayashi S, Ito F, Tsuji K (2017) Transcriptome profiling of the spermatheca identifies genes potentially involved in the long-term sperm storage of ant queens. Scientific Reports 7(1): 59-72.

Guo J-y, Dong S-z, Ye G-y, Li K, Zhu J-y, Fang Q, Hu C (2011) Oosorption in the Endoparasitoid, Pteromalus puparum. Journal of Insect Science 11(90): 1-11.

Heimpel GE, de Boer JG (2008) Sex determination in the Hymenoptera. Annual Review of Entomology 53(1): 209-230.

Henri DC, Seager D, Weller T, van Veen FJF (2012) Potential for climate effects on the size-structure of host-parasitoid indirect interaction networks. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 367(1605): 3018-3024.

Hilker M, Fatouros NE (2015) Plant responses to insect egg deposition. Annual Review of Entomology 60(1): 1-23.

Hoffmann KH (2018) Oogenesis and the female reproductive system .*In:* Leather SR (Ed.), Insect reproduction. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 1-32.

I**rvin NA, Hoddle MS** (2009) Egg maturation, oosorption, and wing wear in *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of the glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae). Biological Control 48(2): 125-132.

Jervis MA, Ellers J, Harvey JA (2008) Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. Annual Review of Entomology 53(1): 361-385.

Jervis MA, Heimpel GE, Ferns PN, Harvey JA, Kidd NA (2001) Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. Journal of Animal Ecology 70(3): 442-458.

Jia Y-J, Liu T-X (2018) Dynamic host-feeding and oviposition behavior of an aphid parasitoid *Aphelinus asychis*. BioControl 63(4): 533-542.

Jones WA (1988) World review of the parasitoids of the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). Annals of the Entomological Society of America 81(2): 262-273.

Kant R, Minor M, Sandanayaka M, Trewick S (2013) Effects of mating and oviposition delay on parasitism rate and sex allocation behaviour of *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae). Biological Control 65(2): 265-270.

Kasamatsu E, Abe J (2015) Influence of body size on fecundity and sperm management in the parasitoid wasp *Anisopteromalus calandrae*. Physiological Entomology 40(3): 223-231.

Leather SR (2018) Insect Reproduction. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Liberti J, Baer B, Boomsma JJ (2018) Rival seminal fluid induces enhanced sperm motility in a polyandrous ant. BMC Evolutionary Biology 18(1): 1-28.

Louâpre P, Le Lann C, Hance T (2019) When parasitoids deal with the spatial distribution of their hosts: consequences for both partners. Insect Science 26(5): 923-931.

Mehrnejad MR, Linnavuori RE, Alavi SH (2013) Hemipteran bugs associated with pistachio trees and notes on major species. Zoology and Ecology 23(1): 29-40.

Mills NJ, Kuhlmann U (2000) The relationship between egg load and fecundity among *Trichogramma* parasitoids. Ecological Entomology 25(3): 315-324.

Mohammadpour M, Jalali MA, Michaud JP, Ziaaddini M, Hashemirad H (2014) Multiparasitism of stink bug eggs: competitive interactions between *Ooencyrtus pityocampae* and *Trissolcus agriope*. BioControl 59(3): 1-8.

Mohammadpour M, Ziaaddini M, Jalali MA, Hashemirad H, Mohammadi-Khoramabadi A (2016) Egg parasitoids of the pistachio green stink bug, *Brachynema germari* (Hemiptera: Pentatomidae) in Kerman province, Iran. Zoology and Ecology 26(1): 28-34.

Navasero RC, Oatman ER (1989) Life history, immature morphology and adult behavior of *Telenomus solitus* (Hymenoptera: Scelionidae). Entomophaga 34(2): 165-177.

Oku K, Price T, Wedell N (2019) Does mating negatively affect female immune defences in insects? Animal biology 69(1): 117-136.

Orr TJ, Brennan PLR (2015) Sperm storage: distinguishing selective processes and evaluating criteria. Trends in Ecology & Evolution 30(5): 261-272.

Pan M-Z, Wang L, Zhang C-Y, Zhang L-X, Liu T-X (2017) The influence of feeding and host deprivation on egg load and reproduction of an aphid parasitoid, *Aphidius gifuensis* (Hymenoptera: Braconidae). Applied Entomology and Zoology 52(2): 255-263.

Pascini TV, Martins GF (2017) The insect spermatheca: an overview. Zoology 121(1): 56-71.

Pourian H-R, Talaei-Hassanloui R, Ashouri A, Lotfalizadeh H, Nowzari J (2014) Ontogeny and reproductive biology of *Diadegma semiclausum* (Hym.: Ichneumonidae), a larval endoparasitoid of Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae). Arthropod Structure & Development 44(1): 69-76.

Pourkhatoon S, Ziaaddini M, Alizadeh A, Amin Jalali M, Ebrahimi M (2016) Biological Characteristic of *Brachynema germari* (Hemiptera: Pentatomidae): Comparative Study of Composite and Natural Diet. Journal of Economic Entomology. 109(3): 1273–1282.

Price PW, Denno RF, Eubanks MD, Finke DL, Kaplan I (2011) Insect ecology: behavior, populations and communities. Cambridge University Press. Cambridge.

Richard R, Casas J (2009) Stochasticity and controllability of nutrient sources in foraging: host-feeding and egg resorption in parasitoids. Ecological Monographs 79(3): 465-483.

Ridley M (1988) Mating frequency and fecundity in insects. Biological Reviews, 63(4): 509-549.

Romo CM, Tylianakis JM (2013) Elevated temperature and drought interact to reduce parasitoid effectiveness in suppressing hosts. PloS one 8(3): e58136.

Sabbatini Peverieri G, Furlan P, Simoni S, Strong WB, Roversi PF (2012) Laboratory evaluation of *Gryon pennsylvanicum* (Ashmead) (Hymenoptera, Platygastridae) as a biological control agent of *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Heteroptera, Coreidae). Biological Control 61(1): 104-111.

Silva GV, BUENO AdF, Neves PMOJ, Favetti BM (2018) Biological Characteristics and Parasitism Capacity of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygastridae) on Eggs of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). Embrapa Soja-Artigo em periódico indexado (ALICE) 10(8): 210-220.

Sousa JM, Spence JR (2000) Effects of Mating Status and Parasitoid Density on Superparasitism and Offspring Fitness in *Tiphodytes gerriphagus* (Hymenoptera: Scelionidae). Annals of the Entomological Society of America 93(3): 548-553.

Steigenga MJ, Fischer K (2007) Ovarian dynamics, egg size, and egg number in relation to temperature and mating status in a butterfly. Entomologia Experimentalis et Applicata 125(2): 195-203.

Túler AC, Silva-Torres CSA, Torres JB, Moraes RB, Rodrigues ARS (2017) Mating system, age, and reproductive performance in Tenuisvalvae notata, a long-lived ladybird beetle. Bulletin of entomological research 108(5): 616-624.

Vinson SB (2010) Nutritional ecology of insect egg parasitoids. *In:* Consoli FL, Parra JRP, Zucchi RA (Ed.), Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on *Trichogramma*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 25-55.

Vinson SB, Iwantsch G (1980) Host suitability for insect parasitoids. Annual Review of Entomology 25(1): 397-419.

Waage JK (1982) Sib-mating and sex ratio strategies in scelionid wasps. Ecological Entomology 7(1): 103-112.