Archive of SID

تحقیقات آفات گیاهی
۳۵- ۲۵ :(۲) ۷- ۱۳۹۶

# بررسی اثر مادری دما بر القای دیاپوز در زنبور پارازیتویید *Trichogramma brassicae* غیرآلوده و آلوده به باکتری *Wolbachia*

**سمیه رحیمی کلده[۱]، احمد عاشوری[۱*]، علیرضا بندانی[۱] و سید علی مدرس حسنی[۱]**

۱- بخش حشره‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۲۱)

**چکیده**

در این تحقیق اثر مادری دما به عنوان یک عامل اکولوژیک محیطی و نیز اثر آلودگی به ولباخیا به عنوان یک عامل ژنتیکی-درونی بر درصد دیاپوز زنبور پارازیتویید *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hym.: Trichogrammatidae) مورد مطالعه قرار گرفت. نسل مادری دو جمعیت آلوده به باکتری ولباخیا (تک‌جنسی) و غیرآلوده (دوجنسی) *T. brassicae* در دو دمای ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس به صورت جداگانه پرورش یافت. یک روز پس از اوج خروج حشرات کامل نسل مادری، ۴۰ زنبور ماده تک‌جنسی و ۴۰ زنبور ماده دوجنسی جفت‌گیری کرده (هر دو یک‌روزه و آماده تخم‌گذاری) به‌طور جداگانه در لوله‌های آزمایش شیشه‌ای قرار داده شدند. کارت‌های مقوایی حاوی ۱۰۰ عدد تخم میزبان شش ساعته، *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae)، در اختیار ماده‌های تخم‌گذار تا زمان مرگ آن‌ها قرار داده شد. بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، آلودگی به ولباخیا و دمای پرورش نسل مادری دارای اثر معنی‌دار بر درصد دیاپوز بود، به طوری‌که افزایش دمای پرورش نسل مادری (دمای ۲۰ درجه سلسیوس) منجر به افزایش درصد دیاپوز در مقایسه با دمای پایین‌تر (۱۴ درجه سلسیوس) شد. درصد دیاپوز در جمعیت دوجنسی بیش از جمعیت تک‌جنسی بود که این امر نشان‌دهنده اثر منفی آلودگی به ولباخیا بر درصد دیاپوز این پارازیتویید است. احتمالاً حضور باکتری ولباخیا سبب از بین رفتن قسمتی از انرژی مورد نیاز جهت مقاومت زنبور پارازیتویید در برابر دمای پایین می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** پارازیتویید، دما، دیاپوز، *Trichogramma brassicae*، *Wolbachia*

*نویسنده مسئول: ashouri@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID



**مقدمه**

زنبورهای پارازیتویید جنس *Trichogramma* نه تنها به عنوان عوامل کنترل بیولوژیک بسیاری از آفات کلیدی راسته بالپولکداران بلکه به عنوان مدلی مناسب، در مطالعات اکولوژیکی و فیزیولوژیکی مورد توجه بسیاری از محققان در سراسر جهان هستند (Smith, 1996). دیاپوز در مرحله پیش‌شفیرگی یکی از مهم‌ترین نشانه‌های تنظیم رشد فصلی و تأمین‌کننده بقای این زنبورها است (Boivin, 1994). از آنجاکه زنبورهای پارازیتویید این جنس، از پرکاربردترین عوامل کنترل بیولوژیک حشرات آفت هستند، داشتن هر گونه اطلاعاتی در مورد شرایط القاکننده یا بازدارنده دیاپوز در این زنبورها می‌تواند دارای ارزش کاربردی زیادی باشد (Boivin, 1994).

دمای حاکم بر مرحله جنینی و لاروی نسل دیاپوزگذران مهم‌ترین عامل القای دیاپوز در زنبورهای پارازیتویید جنس تریکوگراما است. دما یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی تاثیرگذار روی رشد و نمو، رفتار و فیزیولوژی حشرات است (Jarosik *et al*., 2011; Denlinger *et al*., 2012). عامل دیگر، طول دوره نوری حاکم بر شفیره‌ها و حشرات کامل نسل مادری است (Reznik *et al*., 2011). دما و طول دوره نوری هر دو از عوامل اکولوژیک مؤثر بر القای دیاپوز هستند که بیشترین تمرکز نیز تاکنون بر بررسی اثر همین عوامل اکولوژیک بر دیاپوز زنبورهای جنس *Trichogramma* بوده است. اگرچه اثر مادری طول دوره نوری نسبت به اثر مستقیم دمای پایین، از اهمیت کمتری در القای دیاپوز در زنبورهای پارازیتویید جنس تریکوگراما برخوردار است (Sorokina and Maslennikova, 1987; Laing and Corrigan, 1995).

دما همچون طول دوره نوری دارای اثر مادری در القای دیاپوز است. اثر مادری دما نسبت به طول دوره نوری ضعیف‌تر بوده و کمتر مورد توجه قرار گرفته است (Saunders *et al*., 2002; Tachibana and Numata, 2004; Fukumoto *et al*., 2006; Reznik *et al*., 2008; Shintani and Higuchi, 2008). قرارگیری در طول روز کوتاه در مناطق معتدله سبب القای دیاپوز در یکسری از حشرات می‌شود، در این گروه از حشرات دمای پایین سبب القای دیاپوز و دمای بالا سبب ممانعت از ورود به دیاپوز می‌شود (Tauber *et al*., 1986; Chernysh, 1995). بنابراین دو عامل روز کوتاهی و دمای پایین دارای اثر تشدید کنندگی در القای دیاپوز هستند.

مطالعه همه جانبه دیاپوز در زنبورهای جنس *Trichogramma* می‌تواند کمک شایانی در اقتصادی کردن پرورش انبوه این حشرات مفید داشته باشد. یکی دیگر از نکات مهم در تولید انبوه زنبورهای این جنس، انتخاب مؤثرترین گونه یا جمعیت است که از اهمیت به سزایی در میزان موفقیت کنترل بیولوژیک آفات با این گروه از پارازیتوییدها برخوردار است (Smith, 1996). زنبور *T. brassicae* گونه غالب جنس تریکوگراما در ایران است (Ebrahimi *et al*., 1998) که در این مطالعه به عنوان گونه مدل مورد استفاده قرار گرفته است. این گونه همانند اغلب گونه‌های این جنس، دارای دو سیستم تولیدمثلی مجزا، هاپلودیپلویید[1] (دوجنسی) و ماده‌زا[2] (تک-جنسی) است. آلودگی به یک باکتری همزیست درونی به نام *Wolbachia* منجر به تولید زنبورهای ماده‌زا در این گونه شده است، این باکتری به افراد ماده این امکان را می-دهد تا از تخم‌های تلقیح نشده و غیربارور، نتاج ماده تولید کنند (Farrokhi *et al*., 2010). این باکتری‌ها عامل تعدادی از تغییرات تولیدمثلی شامل ناسازگاری سیتوپلاسمی بین استرین‌ها و گونه‌های مرتبط، تلقیح بکرزایی، کشتن نرها و مونث‌سازی ژنتیکی نرها در میزبان‌هایشان هستند (Hurst *et al*., 2000). تغییرات تولیدمثلی میزبان، باعث پراکنش بیشتر باکتری در محیط می‌شود. زنبورهای تریکوگرامای آلوده به *Wolbachia* دارای دو مزیت نسبی در مقایسه با زنبورهای غیرآلوده هستند، اول، تولید زنبورهای ماده‌زا، به دلیل تولید نتاج ماده ارزان‌تر است و دوم، استقرار زنبورهای ماده‌زا در برنامه‌های کنترل بیولوژیک کلاسیک راحت‌تر صورت می‌گیرد

[1]. Arrhenotokous
[2]. Thelytokous

www.SID.ir

Archive of SID



(Huigens, 2003). نکته قابل تأمل در مورد زنبورهای پارازیتویید آلوده به باکتری *Wolbachia* این است که با وجود تمام این مزایا تنها ۱۸ گونه از ۱۸۰ گونه زنبور تریکوگراما آلوده به این باکتری هستند (Almeida, 2004). پدیده‌ی ماده‌زایی تحت تأثیر آلودگی به باکتری *Wolbachia* در جمعیت‌های متعلق به گونه *T. brassicae* نشان داده شده است (Poorjavad, 2011). سؤالی که در این‌جا مطرح می‌شود این است که چرا با وجود تمام مزایای آلودگی به باکتری ولباخیا، فراوانی ماده‌های آلوده در طبیعت کمتر است؟ بنابر اظهارات کیشانی و همکاران (Kishani *et al*., 2015)، زنبورهای تک‌جنسی قادر به ارزیابی کیفیت میزبان نبوده وتخم‌های باکیفیت و بی‌کیفیت میزبان ارزش غذایی مشابهی را برای زنبورهای ماده تخم-گذار دارند ولی زنبورهای دوجنسی پچ‌های باکیفیت را به پچ‌های بی‌کیفیت جهت تخم‌گذاری ترجیح می‌دهند. به همین جهت زنبورهای تک‌جنسی به دلیل عدم توانایی تفکیک کیفیت میزبان، شانس زنده‌مانی نتاج خود را کاهش می‌دهند. در این تحقیق فرضیه احتمالی دیگری وجود دارد که پیشنهاد می‌کند باکتری ولباخیا در طبیعت از طریق ایجاد اختلال در رویارویی با دمای پایین سبب کاهش فراوانی زنبورهای پارازیتویید تریکوگراما می‌شود.

هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر دمای پرورش نسل مادری به عنوان یک عامل اکولوژیک محیطی و نیز آلودگی به ولباخیا به عنوان یک عامل ژنتیک درونی بر درصد دیاپوز زنبور *T. brassicae* به منظور بررسی توانایی دیاپوزگذرانی دو جمعیت است. در بیشتر بررسی‌هایی که تاکنون در رابطه با بررسی اثر دما بر درصد دیاپوز صورت گرفته است، دما به عنوان یک عامل مستقیم تأثیرگذار بر القای دیاپوز در نظر گرفته شده است، در این مطالعه سعی بر بررسی اثر غیرمستقیم (مادری) دما بر درصد دیاپوز در دو جمعیت دوجنسی و تک‌جنسی *T. brassicae* شده است.

## مواد و روش‌ها

### پرورش آزمایشگاهی *Trichogramma brassicae*

در این تحقیق از دو جمعیت آزمایشگاهی *T. brassicae* (دارای دو سیستم تولیدمثلی متفاوت، هاپلودیپلویید و ماده‌زا) موجود در آزمایشگاه اکولوژی و رفتارشناسی دانشگاه تهران استفاده شد. هر دو جمعیت از مزارع ذرت استان مازندران (جنوب دریاچه خزر) جمع-آوری شد. هر دو جمعیت مورد مطالعه در شرایط آزمایشگاهی، دمای ۱ ± ۲۰ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۷۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی: ۸ ساعت تاریکی روی تخم‌های شب‌پره آرد *Ephestia kuehniella* برای بیش از ۱۰۰ نسل پرورش یافتند. جهت ایجاد بیشترین تشابه ژنتیکی از نتاج مربوط به یک ماده اولیه استفاده شد. به‌منظور ایجاد کلنی اولیه، یک کارت مقوایی به ابعاد ۱×۵ سانتی‌متر حاوی ۵۰ عدد تخم میزبان ۲۴ ساعته به‌طور جداگانه در اختیار یک زنبور ماده جفت‌گیری کرده دوجنسی (غیرآلوده) و یک زنبور ماده تک‌جنسی (آلوده) قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت زنبورهای تخم‌گذار حذف و کارت‌های مقوایی به طور جداگانه درون لوله‌های آزمایش تا زمان خروج حشرات کامل نسل جدید، در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شد. به منظور اطمینان از ماده‌زا بودن زنبورهای تک‌جنسی، جنسیت نتاج مورد بررسی قرار گرفت.

### پرورش آزمایشگاهی *E. kuehniella*

در این پژوهش از بیدآرد *E. kuehniella* به‌عنوان میزبان آزمایشگاهی استفاده شد. برای پرورش میزبان، میزان ۰/۳ گرم تخم بیدآرد به ظروف مستطیلی شکل به ابعاد ۱۰ × ۱۶ × ۲۳ سانتی‌متر محتوی یک کیلوگرم آرد سبوس‌دار همراه با مخمر که به منظور تهویه، درپوش آن‌ها با منفذی به ابعاد ۷ × ۱۴ سانتی‌متر ایجاد و با توری مسدود شده بود، اضافه شد. پرورش در دمای ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۱۰ ± ۵۰ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی: ۸ ساعت تاریکی انجام گرفت. حشرات کامل پس از ظهور، جمع‌آوری و به قیف‌هایی که انتهای آن‌ها با توری مسدود شده بود به‌منظور تخمریزی منتقل شدند. تخم‌ها هر ۲۴ ساعت یک‌بار از روی بشقاب‌های تعبیه شده

www.SID.ir

Archive of SID



زیر قیف‌ها جمع‌آوری شده و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد.

## بررسی اثر مادری دما بر درصد دیاپوز دو جمعیت *T. brassicae*

با توجه به اثر مادری طول دوره نوری بر القای دیاپوز در زنبورهای جنس *Trichogramma*، نسل مادری هر دو جمعیت در دوره نوری ۱۰ ساعت روشنایی: ۱۴ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۵ ± ۷۰ درصد و دو دمای ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس به صورت جداگانه پرورش یافت. پرورش نسل مادری در دوره نوری ۱۰ ساعت روشنایی: ۱۴ ساعت تاریکی سبب افزایش درصد دیاپوز نسل دیاپوزگذران می‌شود (داده‌های منتشر نشده). خروج حشرات کامل نسل مادری در دمای ۲۰ درجه سلسیوس، ۱۷–۱۸ روز پس از پارازیته شدن و در دمای ۱۴ درجه سلسیوس، ۴۵–۵۰ روز پس از پارازیته شدن مشاهده شد. یک روز پس از اوج خروج حشرات کامل نسل مادری در هر یک از دماهای مورد مطالعه، کارت‌های مقوایی به ابعاد ۱ × ۵ سانتی‌متر، هر یک حاوی ۱۰۰ عدد تخم باکیفیت *E. kuehniella* (شش ساعته) در اختیار ۴۰ زنبور ماده *T. brassicae* (یک‌روزه و آماده تخم‌گذاری) از هر دو جمعیت به صورت انفرادی قرار گرفت. کارت‌های مقوایی حاوی تخم‌های پارازیته *E. kuehniella* به شرایط القای دیاپوز در دمای ۱۰ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۷۰ درصد و تاریکی مطلق به مدت ۶۰ روز منتقل شد. پس از گذشت این مدت زمان، کارت‌های مقوایی به دمای ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۷۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی: ۸ ساعت تاریکی جهت شکستن دیاپوز منتقل شد. ۱۰ روز پس از مشاهده اوج خروج، تمامی تخم‌های پارازیته از لحاظ وجود سوراخ خروجی حشرات کامل مورد بررسی قرار گرفته و تخم‌های فاقد سوراخ خروجی تشریح شد. میزان تلفات در هر یک از مراحل حشره‌کامل، شفیره و پیش‌شفیره شمارش شد. درصد دیاپوز برای هر یک از کارت‌های مقوایی حاوی تخم پارازیته از طریق تقسیم تعداد تخم‌های دارای سوراخ خروجی به تعداد تخم‌های پارازیته (سیاه شده) محاسبه شد. از آنجاکه حشرات ماده تخم‌گذار جنس تریکوگراما تنها یک تخم در تخم بیدآرد می‌گذارند (Garcia and Tavares, 2001)، تعداد حشرات کامل خارج شده برابر با تعداد تخم‌های *E. kuehniella* دارای سوراخ خروجی در نظر گرفته شد. درصد تلفات در هر یک از مراحل حشره‌کامل، شفیره و پیش‌شفیره نیز از طریق تقسیم تعداد حشره‌کامل، شفیره و پیش‌شفیره مرده به تعداد تخم‌های پارازیته (سیاه شده) محاسبه شد. داده‌های مربوط به هر کارت مقوایی به عنوان یک تکرار جداگانه ثبت شد.

## تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های مربوط به اثر دما و آلودگی به ولباخیا به طور جداگانه با استفاده از آزمون t-test به منظور مقایسه میانگین تخمگذاری و درصد دیاپوز تجزیه و تحلیل شد. به منظور بررسی اثر دما روی نسبت جنسی افراد خارج شده (تعداد ماده به تعداد کل حشرات کامل)، تعداد افراد ماده خارج شده در دمای ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس با تعداد افراد ماده خارج شده مورد انتظار با استفاده از آزمون کای اسکوئر مقایسه شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم افزار آماری SAS (ver. 9.2) انجام شد. جهت نرمال کردن داده‌های مربوط به درصد دیاپوز از رابطه Arc sin (√X/100) استفاده شد. بررسی فرض نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و نرم‌افزار آماری Minitab (ver. 16) انجام شد.

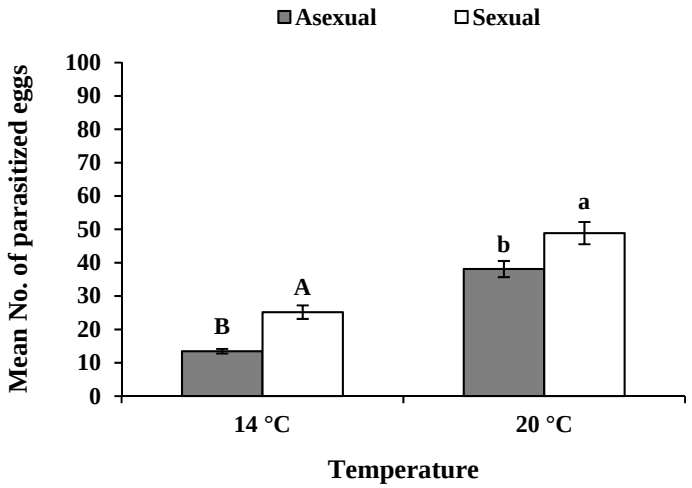
## نتایج

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که میانگین تخمگذاری (میانگین تعداد تخم به ازای هر حشره ماده) *T. brassicae* به دمای پرورش نسل مادری بستگی دارد ($t$ = ۹/۷۷، df = ۱۵۸، $P$ = < ۰/۰۰۱) و از طرف دیگر، تفاوت آماری معنی‌دار در میانگین تخمگذاری دو جمعیت دوجنسی و تک‌جنسی مشاهده شد ($P$ = < ۰/۰۰۱، $t$ = ۳/۷۳، df = ۱۵۸) (شکل ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

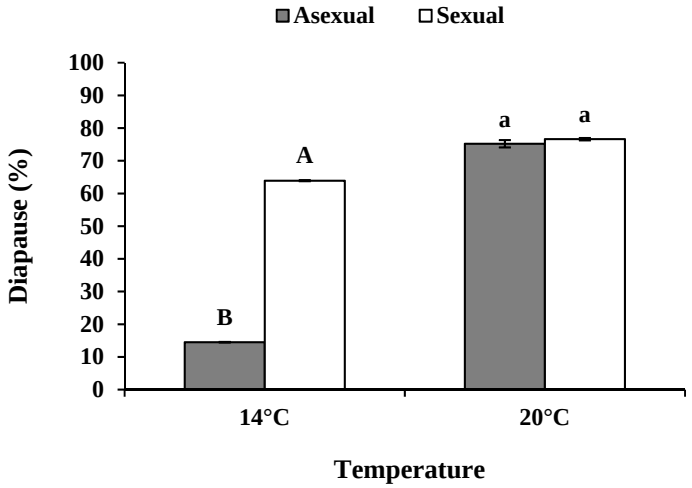





شکل ۱- مقایسه میانگین تخم‌های پارازیته شده توسط زنبورهای پارازیتویید دوجنسی و تک‌جنسی *Trichogramma brassicae* که نسل مادری آن‌ها در دماهای ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس پرورش یافته بود

Figure 1. Comparison of mean number of parasitized eggs by asexual (infected) and sexual (uninfected) *Trichogramma brassicae* populations which their maternal generation reared at 14 and 20°C

همچنین نتایج نشان داد که درصد دیاپوز در این گونه به دمای پرورش نسل مادری بستگی دارد ($P = < ۰/۰۰۱$، ۱۵۸ = df، $t = ۱۳/۸۷$). تفاوت آماری معنی‌داری در درصد دیاپوز بین دو جمعیت دوجنسی و تک‌جنسی نیز مشاهده شد ($P = < ۰/۰۰۱$، ۱۵۸ = df، $t = ۳/۹۸$) (شکل ۲).




شکل ۲- مقایسه درصد دیاپوز زنبورهای پارازیتویید دوجنسی و تک‌جنسی *Trichogramma brassicae* که نسل مادری آن‌ها در دماهای ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس پرورش یافته بود

Figure 2. Comparison of diapause percentage between asexual (infected) and sexual (uninfected) *Trichogramma brassicae* populations which their maternal generation reared at 14 and 20°C

نتایج به دست آمده نشان داد که میزان ورود به دیاپوز در دو جمعیت دوجنسی (۷۵/۲۰) و تک‌جنسی (۷۶/۶۲) که نسل مادری آن‌ها در دمای ۲۰ درجه سلسیوس پرورش یافته بود مشابه و برابر با یک چهارم کل افراد پارازیته شده بود و به دنبال آن، میزان تلفات در هر یک از مراحل پیش-شفیرگی، شفیرگی و حشره‌کامل مشابه و بیشترین میزان تلفات در مرحله پیش‌شفیرگی در هر دو جمعیت دوجنسی ($P = < ۰/۰۰۱$، ۱۱۷ و ۲ = df، $F = ۱۳۴/۱۲$) و تک‌جنسی

www.SID.ir

Archive of SID



($F = ۸۴/۸۷$ ،df = ۲ و ۱۱۷ ،$P = < ۰/۰۰۱$) مشاهده شد. در رابطه با افرادی که نسل مادری آن‌ها در دمای ۱۴ درجه سلسیوس پرورش یافته بودند، میزان ورود به دیاپوز در جمعیت دوجنسی برابر با ۶۳/۹۰ درصد و در جمعیت تک-جنسی برابر با ۱۴/۵۰ درصد از کل افراد پارازیته بود. این نتایج بیانگر پاسخ متفاوت دو جمعیت در میزان ورود به دیاپوز در صورت پرورش نسل مادری در دمای ۱۴ درجه سلسیوس و پاسخ مشابه دو جمعیت در صورت پرورش نسل مادری در دمای ۲۰ درجه سلسیوس بود. در واقع، جمعیت تک‌جنسی در مقایسه با جمعیت دوجنسی به میزان بسیار کمتری در صورت پرورش نسل مادری در دمای ۱۴ درجه سلسیوس وارد دیاپوز شد. میزان تلفات در دو جمعیت در صورت پرورش نسل مادری در دمای ۱۴ درجه سلسیوس در مراحل لاروی، پیش‌شفیرگی و حشره‌کامل مشابه و تنها تفاوت افزایش چشمگیر میزان تلفات در مرحله شفیرگی در جمعیت تک‌جنسی در مقایسه با جمعیت دوجنسی است که بیانگر این حقیقت است که کاهش میزان ورود به دیاپوز در جمعیت تک‌جنسی به علت افزایش تلفات در مرحله شفیرگی بوده است. در صورت پرورش نسل مادری در دمای ۱۴ درجه سلسیوس، بیشترین میزان تلفات در مرحله پیش‌شفیرگی برای جمعیت دوجنسی ($P = < ۰/۰۰۱$، ۱۱۷و $F = ۳۷۱/۵۱$ ،df = ۲) و مرحله شفیرگی برای جمعیت تک‌جنسی ($F = ۶۲/۲۰$ ،df = ۲ و ۱۱۷ ،$P = < ۰/۰۰۱$) مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه (٪) دیاپوز و (٪) تلفات در هر یک از مراحل پیش‌شفیرگی، شفیرگی و حشره‌کامل زنبور پارازیتویید *Trichogramma brassicae* دوجنسی و تک‌جنسی که نسل مادری آن‌ها در دماهای ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس پرورش یافته بودند. $W^+$ معرف پارازیتوییدهای آلوده به ولباخیا و $W^-$ معرف پارازیتوییدهای غیرآلوده است.

Table 1. Comparison of diapause and mortality percentage of *Trichogramma brassicae* in pre-pupal, pupal and adult stages in both asexual (infected) and sexual (uninfected) populations which their maternal generation reared at 14 and 20°C. $W^+$ shows *Wolbachia*-infected parasitoids and $W^-$ shows *Wolbachia*-uninfected parasitoids.

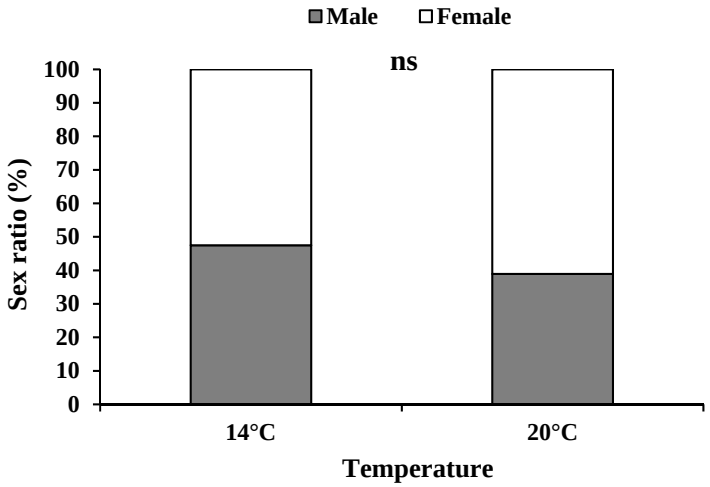
| Maternal Temperature | Mortality of different developmental stages (%) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Diapause (%) at 10°C | | Prepupae | | Pupae | | Adult | |
| | $W^+$ | $W^-$ | $W^+$ | $W^-$ | $W^+$ | $W^-$ | $W^+$ | $W^-$ |
| **14 °C** | 63.90±0.18 | 14.50±0.11 | 32.56±0.13 | 33.09±0.16 | 1.62±0.02 | 51.12±0.37 | 1.72±0.02 | 1.30±0.02 |
| **20 °C** | 76.62±0.38 | 75.20±1.12 | 21.38±0.13 | 22.05±0.18 | 0.79±0.02 | 1.10±0.05 | 1.21±0.04 | 1.65±0.05 |

بر اساس نتایج به دست آمده با افزایش دمای پرورش نسل مادری نسبت افراد ماده به نر افزایش یافت (شکل ۳). با وجود این، تفاوت آماری معنی‌داری در نسبت افراد ماده به کل افراد نسبت به مقدار مورد انتظار (۵۰٪) در دمای ۱۴ (۱ = P، ۱۷۵ = df، ۶۶/۲۶ = $\chi^2$) و ۲۰ درجه سلسیوس (۱ = P، ۱۷۵ = df، ۷۲/۲۸ = $\chi^2$) مشاهده نشد.

www.SID.ir

Archive of SID






شکل ۳- مقایسه درصد افراد ماده: نر زنبور پارازیتوییدTrichogramma brassicae دوجنسی در دو دمای ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس

Figure 3. Comparison of female/male percentage in sexual (uninfected) *Trichogramma brassicae* at 14 and 20°C

## بحث

با توجه به نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، جمعیت تک‌جنسی در مقایسه با جمعیت دوجنسی از توانایی کمتری در ورود و خروج از دیاپوز برخوردار است. به بیان دیگر جمعیت تک‌جنسی در صورت رویارویی با دمای پایین از تلفات بیشتری برخوردار خواهد بود (جدول ۱). نتایج مشابهی توسط سایر پژوهشگران در ارتباط با مقایسه دو جمعیت غیرآلوده و آلوده به باکتری ولباخیا به دست آمده است. در رابطه با زنبور پارازیتوییدNasonia *vitripennis* (Walker) (Hym.: Pteromalidae)، زنبورهای آلوده به ولباخیا (تک‌جنسی) از تلفات بیشتری در صورت قرارگیری در دمای پایین برخوردار بودند (Bordenstein and Werren, 2000). همچنین نتایج به دست آمده توسط پینتوریو و همکاران (Pintureau *et al*., 2003) حاکی از افزایش میزان تلفات *T. oleae* Voegele and Pointel آلوده به ولباخیا در مقایسه با افراد غیرآلوده در دمای پایین بود.

با توجه به یکسان بودن منشأ جغرافیایی (مزارع ذرت در استان مازندران) دو جمعیت تک‌جنسی و دوجنسی در این تحقیق به نظر می‌رسد که تنها عامل متفاوت، حضور باکتری ولباخیا در جمعیت تک‌جنسی باشد که منجر به پاسخ متفاوت دو جمعیت شده است. بنابر نتایج به دست آمده، آلودگی به ولباخیا نه تنها از طریق کاهش درصد دیاپوز بلکه از طریق تغییر الگوی پاسخ زنبورهای مادری بر دیاپوز نتاج زنبور پارازیتوییدنیز تأثیر می‌گذارد. بر این اساس، درصد دیاپوز در جمعیت تک‌جنسی در صورت پرورش نسل مادری در دو دمای ۱۴ و ۲۰ درجه سلسیوس دارای اختلاف چشمگیری در مقایسه با جمعیت دوجنسی بود.

نسبت جنسی پارازیتوییدها 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 به شمار 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 صورت پرورش نسل مادری در دمای ۲۰ درجه سلسیوس، نسبت افراد ماده (دیپلوئید) بیش از افراد نر (هاپلوئید) است. از طرفی نسبت جنسی افرادی که نسل مادری آن‌ها در دمای ۱۴ درجه سلسیوس رشد یافته‌اند، برابر با ۰/۰۳ ± ۴۵ درصد (تعداد ماده به تعداد کل افراد خارج شده) بود که نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID



دمای ۲۰ درجه سلسیوس (۰/۰۲ ± ۵۲ درصد) افزایش تلفات افراد ماده را در برداشت. اگرچه کاهش افراد ماده به دنبال کاهش دمای نسل مادری فاقد اثر معنی‌دار بود، اما نشان‌دهنده اثرگذاری دمای پرورش نسل مادری بر افزایش میزان تلفات نتاج ماده در مقایسه با نتاج نر بود، به‌طوری که سبب کاهش نسبت افراد ماده شد.

بر اساس نتایج به دست آمده، هر دو فرضیه این تحقیق شامل درصد دیاپوز کمتر جمعیت تک‌جنسی فارغ از دمای پرورش نسل مادری و افزایش درصد دیاپوز همراه با افزایش دمای پرورش نسل مادری به اثبات رسید. نتایج مشابه با تحقیق حاضر در سایر مطالعات نیز مشاهده شد، زمانی‌که دما در پاییز در حدود ۱۵-۱۰ درجه سلسیوس است، زنبورهای تریکوگراما وارد دیاپوز می‌شوند (Ma and Chen, 2006; Reznik *et al*., 2008; Sorokina, 2010). در این تحقیق، با افزایش دمای پرورش نسل مادری از ۱۴ به ۲۰ درجه سلسیوس میزان دیاپوز نیز افزایش یافت. از طرف دیگر، این‌طور به نظر می‌رسد که رشد نسل مادری در دمای ۱۴ درجه سلسیوس نسبت به دمای ۲۰ درجه سلسیوس نیازمند انرژی بیشتری بوده که سبب کاهش عملکرد آن در تولید نتاج مقاوم به دمای پایین شده است.

بررسی اثر مادری دما در گونه‌های مختلف جنس تریکوگراما، نتایج به طورکامل متناقضی را نشان داده است، به طوری‌که نه تنها الگو و دامنه بلکه نوع واکنش نیز در گونه‌های مختلف متفاوت بود. در برخی موارد با افزایش دما میزان دیاپوز افزایش (Sorokina, 2010) و در سایر موارد، با افزایش دمای نسل مادری به صورت چشمگیری کاهش یافت (Mai and Zaslavskii, 1983; Sorokina and Maslennikova, 1986; 1987). نتایج مشابه با تحقیق حاضر در رابطه با گونه‌های *T. semblidis* (Auriv.) و *T. embryophagum* Htg. مشاهده شد (Zaslavski and Umarova, 1990; Voinovich *et al*., 2002). نتایج مشابه با این تحقیق در رابطه با گونه *T. telegani* نیز مشاهده شد، به‌طوری‌که با افزایش دمای پرورش نسل مادری، درصد نتاج دیاپوزگذران افزایش یافت. در این گونه دمای آستانه برای القای دیاپوز در نسل مادری برابر با ۲۷-۲۵ درجه سلسیوس و دمای آستانه برای القای دیاپوز در نسل دیاپوزگذران پایین‌تر از ۱۵ درجه سلسیوس بود (Vaghina *et al*., 2014).

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، دیاپوز نتاج در هر دو جمعیت تک‌جنسی و دوجنسی *T. brassicae* تحت‌تأثیر دمای پرورش نسل مادری است. بر این اساس، پرورش نسل مادری فارغ از آلودگی به ولباخیا در دمای ۱۴ درجه سلسیوس منجر به کاهش نسبت افراد دیاپوزگذران شد. در دمای ۱۴ درجه سلسیوس، درصد دیاپوز جمعیت تک‌جنسی دارای کاهش چشمگیری در مقایسه با جمعیت دوجنسی بود. حال آن‌که درصد دیاپوز دو جمعیت تک‌جنسی و دوجنسی در دمای ۲۰ درجه سلسیوس تفاوت ناچیزی را نشان داد. بنابر این نتایج به‌نظر می‌رسد تراکم باکتری ولباخیا در بدن ماده‌های تخم‌گذار در دمای ۱۴ درجه سلسیوس افزایش و در دمای ۲۰ درجه سلسیوس کاهش می‌یابد. بر این اساس، انتظار می‌رود که رفتار ماده‌های تک‌جنسی در دمای ۲۰ درجه سلسیوس به ماده‌های دوجنسی نزدیک‌تر شود که نتایج حاصل نیز تأییدکننده این امر است. به طور مسلم حضور باکتری ولباخیا در جمعیت آلوده، هزینه‌هایی را بر پارازیتویید تحمیل می‌کند که سبب کاهش انرژی لازم جهت مقابله با دمای پایین شده و حساسیت مرحله مقاوم به دمای پایین را افزایش می‌دهد و در نهایت منجر به افزایش تلفات در صورت رویارویی با دمای پایین و کاهش جمعیت در طبیعت می‌شود. به بیان دیگر آلودگی به ولباخیا علاوه بر کاهش درصد دیاپوز سبب تغییر نوع پاسخ جمعیت تک-جنسی در مقایسه با جمعیت دوجنسی در میزان ورود به دیاپوز تحت‌تأثیر دمای پرورش نسل مادری نیز می‌شود.

## سپاسگزاری

این پژوهش با استفاده از امکانات پژوهشی گروه گیاه پزشکی دانشگاه تهران و با استفاده از حمایت‌های مالی قطب علمی کنترل بیولوژیک آفات گیاهی و همچنین موسسه پژوهشی کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های

www.SID.ir

Archive of SID



دانشگاه تهران انجام شده است. از خانم دکتر نفیسه پورجواد، استادیار دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان بخاطر مساعدت‌هایشان در شناسایی هر دو جمعیت تک‌جنسی و دوجنسی زنبور پارازیتوییید *T. brassicae* سپاسگزاری می‌شود.

**References**

**Almeida, R.** 2004. *Trichogramma* and its relationship with *Wolbachia*: Identification of *Trichogramma* species, phylogeny, transfer and costs of *Wolbachia* symbionts. PhD. Thesis. Wageningen University.

**Boivin, G.** 1994. Overwintering strategies of egg parasitoids. In Wajnberg, E. and Hassan, S. A. (Eds.). Biological control with egg parasitoids. CAB International, Wallingford. pp. 219-244.

**Bordenstein, S. R. and Werren, J. H.** 2000. Do *Wolbachia* influence fecundity in *Nasonia vitripennis*? **Heredity** 84: 54-62.

**Chernysh, S. I., Simonenko, N. P. and Numata, H.** 1995. Sensitive stage for the diapause-averting effect of high temperature in the blowfly, *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy (Diptera: Calliphoridae). **Applied Entomology and Zoology** 30: 498-499.

**Denlinger, D. L., Yocum, G. D. and Rinehart, J. P.** 2012. Hormonal control of diapause. In Gilbert, L. I. (Ed.). Insect Endocrinology. Elsevier, UK. pp. 430-463.

**Ebrahimi, E., Pintureau, B. and Shojai, M.** 1998. Morphological and enzymatic study of the genus *Trichogramma* in Iran. **Applied Entomology and Phytopathology** 66: 39-43.

**Farrokhi, S., Ashouri, A., Shirazi, J., Allahyari, H. and Huigens, M. E.** 2010. A comparative study on the functional response of *Wolbachia*-infected and uninfected forms of the parasitoid wasp *Trichogramma brassicae*. **Journal of Insect Science** 10 (167): 1-11.

**Fukumoto, E., Numata, H. and Shiga, S.** 2006. Effects of temperature of adults and eggs on the induction of embryonic diapause in the band-legged ground cricket, *Dianemobius nigrofasciatus*. **Physiological Entomology** 31: 211-217.

**Garcia, P. and Tavares, J.** 2001. Effect of host viability on *Trichogramma cordubensis* (Insecta: Hymenoptera) reproductive strategies. **Arquipelago–Life and Marine Sciences Suppl (Part B)** 2: 43-49.

**Heimpel, G. E. and Lundgren, J. G.** 2000. Sex ratios of commercially reared biological control agents. **Biological Control** 19: 77-93.

**Huigens, M. E.** 2003. On the evolution of *Wolbachia*-induced parthenogenesis in *Trichogramma* wasps. PhD. Thesis. Wageningen University.

**Hurst, G. D. D., Johnson, A. P., Schulenburg, J. H. G. V. D. and Fuyama, Y.** 2000. Male-killing *Wolbachia* in Drosophila: a temperature-sensitive trait with a threshold bacterial density. **Genetics** 156: 699-709.

**Jarosik, V., Honek, A., Magarey, R. D. and Skuhrovec, J.** 2011. Developmental database for phenology models: related insect and mite species have similar thermal requirements. **Journal of Economic Entomology** 104: 1870-1876.

**Kishani Farahani, H., Ashouri, A., Goldansaz, S. H., Farrokhi, S., Ainouche, A. and van Baaren, J.** 2015. Does *Wolbachia* infection affect decision-making in a parasitic wasp? **Entomologia Experimentalis et Applicata** 155 (2): 102-116.

**Laing, J. E. and Corrigan, J. E.** 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.

**Ma, C. S. and Chen, Y. W.** 2006. Effects of constant temperature, exposure period, and age on diapause induction in *Trichogramma dendrolimi*. **Biological Control** 36: 267-273.

**Mai, F. K. and Zaslavskii, V. A.** 1983. Photoperiodic and thermal responses of *Trichogramma euproctidis* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Zoologicheskii Zhurnal** 62: 1676-1680.

**Pintureau, B., Pizzol, J. and Bolland, P.** 2003. Effects of endosymbiotic *Wolbachia* on the diapause in *Trichogramma* hosts and effects of the diapause on *Wolbachia*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 106: 193-200.

www.SID.ir

Archive of SID



**Poorjavad, N.** 2011. Morphological, molecular and reproductive compatibility studies on the systematic of the genus *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Tehran and Mazandran province (Iran). PhD. Thesis. University of Tehran.

**Reznik, S. Y., Vaghina, N. P. and Voinovich, N. D.** 2008. Diapause induction in *Trichogramma embryophagum* Htg. (Hymenoptera, Trichogrammatidae): the dynamics of thermosensitivity. **Journal of Applied Entomology** 132: 502-509.

**Reznik, S. Y., Vaghina, N. P. and Voinovich, N. D.** 2011. Maternal influence on diapause induction in *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae): the dynamics of photosensitivity. **Journal of Applied Entomology** 135: 438-445.

**Saunders, D. S., Steel, C. G. H., Vafopoulou, X. and Lewis, R. D.** 2002. Insect clocks (3rd ed.). Elsevier, Amsterdam.

**Shintani, Y. and Higuchi, H.** 2008. Developmental parameters and photoperiodism in *Trigonotylus tenuis* (Reuter) (Heteroptera: Miridae**). Applied Entomology Zoology** 43: 259-264.

**Smith, S. M.** 1996. Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. **Annual Review of Entomology** 41: 375-406.

**Sorokina, A. P. and Maslennikova, V. A.** 1986. The peculiarities of photo-thermal reactions in selected species of the genus *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Vestnik Leningrad Gos University** 3 (1): 9-14.

**Sorokina, A. P. and Maslennikova, V. A.** 1987. Temperature optimum for diapause induction in species of the genus *Trichogramma* Westw. (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Entomologicheskoe Obozrenie** 66 (4): 689-699.

**Sorokina, A. P.** 2010. Photo-thermal reactions controlling diapause in three species of *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) from Leningrad province. **Vestnik Zasch Rast** 3: 51-54.

**Stouthamer, R. and Kazmer, D. J.** 1994. Cytogenetics of microbe-associated parthenogenesis and its consequences for gene flow in *Trichogramma* wasps. **Journal of Heredity** 73: 317-327.

**Tauber, M. J., Tauber, C. A. and Masaki, S.** 1986. Seasonal Adaptations of Insects. Oxford University Press, New York.

**Tachibana, S. I. and Numata, H.** 2004. Parental and direct effects of photoperiod and temperature on the induction of larval diapause in the blow fly *Lucilia sericata*. **Physiological Entomology** 29: 39-44.

**Vaghina, N. P., Voinovich, N. D. and Reznik, S. Y.** 2014. Maternal thermal and photoperiodic effects on the progeny diapause in *Trichogramma telengai* Sorokina (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Entomological Science** 17: 198-206.

**Voinovich, N. D., Umarova, T. Y., Kats, T. S. and Reznik, S. Y**. 2002. The role of endogenous factors in diapause induction in *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Entomological Review** 82 (9): 1233-1237.

**Voinovich, N. D., Vaghina, N. P. and Reznik, S. Y.** 2013. Comparative analysis of maternal and grand-maternal photoperiodic responses of *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **European Journal of Entomology** 110: 451-460.

**Zaslavskii, V. A. and Umarova, T. Y.** 1990. Environmental and endogenous control of diapause in *Trichogramma* species. **Entomophaga** 35: 23-29.

www.SID.ir

Archive of SID



Plant Pest Research
2017- 7(2): 25-35

# The maternal effect of temperature on diapause induction in *Wolbachia*-infected and uninfected *Trichogramma brassicae*

**S. Rahimi Kaldeh[1], A. Ashouri[1*], A. Bandani[1] and S. A. Modarres Hasani[1]**

**1.** Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: March 17, 2017- Accepted: August 12, 2017)

**Abstract**

In present study, the maternal effect of temperature as an ecologic factor and the effect of *Wolbachia* infection as an inner-genetic factor on diapause percentage of *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hym.: Trichogrammatidae) were investigated. Maternal generation of both infected (asexual) and uninfected (sexual) populations were reared separately at 14 and 20°C. After maximum adult emergence (24 hours), asexual females and sexual-mated females (both 24h old) were separately selected and placed in glass test tubes. Each of them were supplied with a cardboard which included 100 eggs of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae) (6 hours old). The results revealed that *Wolbachia* infection and rearing temperature of maternal generation had significant effect on diapause percentage of *T. brassicae*. When rearing temperature increased, the diapause percentage had increased too. Diapause percentage in uninfected (sexual) population was higher than infected (asexual) ones which show the negative effect of *Wolbachia* infection. Probably, presence of *Wolbachia* causes energy reduction in facing low temperature.

**Key words:** Diapause, parasitoid, temperature, *Trichogramma brassicae*, *Wolbachia*

*Corresponding author: ashouri@ut.ac.ir

www.SID.ir