

بررسی اثر قارچ *Beauveria bassiana* (Balsamo) بر واکنش تابعی و ترجیح میزبانی زنبور پارازیتوئید *Cephalonomia tarsalis* (Ashmead) در جمعیت لاروهای شپشه‌دندانه‌دار *Oryzaephilus surinamensis* L. در شرایط آزمایشگاهی

مسعود لطیفیان^{۱*}، ابراهیم سلیمان نژادیان^۲، مهران غزوی^۳، محمد سعید مصدق^۲، بهار راد^۱

۱- استادیار، موسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور، اهواز
۲- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
۳- استادیار، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران

چکیده

لاروهای سوسک شپشه‌دندانه‌دار در شرایط طبیعی مورد حمله زنبور *Cephalonomia tarsalis* و قارچ *Beauveria bassiana* قرار می‌گیرند. فعالیت و اثر متقابل این دو دشمن طبیعی می‌تواند روی کارایی آن‌ها در فرآیند تنظیم جمعیت آفت تاثیر بگذارد، رفتارهای ترجیح میزبانی و واکنش تابعی زنبور پارازیتوئید *C. tarsalis* روی لاروهای سالم و بیمار میزبان در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نوع واکنش تابعی زنبورهای پارازیتوئید روی هر دو نوع لارو از نوع واکنش تابعی نوع سوم بود. زنبور پارازیتوئید روی لاروهای میزبان سالم و بیمار وابسته به انبوهی عمل می‌کرد. میانگین ضرایب ترجیح پارازیتوئید برای لاروهای سالم ۱/۸۶ و برای لاروهای بیمار ۰/۵۷ بود که نشان دهنده ترجیح لاروهای سالم بود. واکنش تابعی زنبور پارازیتوئید در حالت مخلوط لاروهای سالم و بیمار از روندی عکس یکدیگر تبعیت می‌کردند. در شرایطی که نسبت لاروهای بیمار به سالم ۱/۵ برابر باشد، زنبور به نسبت مساوی از دو جمعیت را پارازیته می‌کرد. در نسبت‌های بالاتر روند به سمت افزایش پارازیتیسیم جمعیت بیمار تغییر می‌یافت. زنبور پارازیتوئید لکه‌های غذایی را انتخاب می‌کرد که تعداد لاروهای بیمار در آن‌ها کمتر بود. در هیچ‌کدام از شرایط مورد بررسی زنبور پارازیتوئید به‌طور کامل از پارازیته کردن لاروهای بیمار صرف نظر نمی‌کرد. در چنین سیستمی ارتباط بین قارچ و زنبور پارازیتوئید اکثراً به‌صورت رقابتی بوده لذا کاربرد هم‌زمان زنبور پارازیتوئید و قارچ عامل بیمارگر از دیدگاه مدیریت کنترل آفت اثرات تکمیل‌کننده دارد.

واژه‌های کلیدی: *Oryzaephilus surinamensis*، *Cephalonomia tarsalis*، *Beauveria bassiana*، واکنش تابعی، ترجیح میزبانی

*نویسنده رابط، پست الکترونیکی: Masoudlatifian@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله (۸۹/۹/۸) - تاریخ پذیرش مقاله (۹۰/۵/۵)

مقدمه

زنبورهای پارازیتوئید و قارچ‌های بیمارگر حشرات از جمله عوامل کلیدی در برنامه‌های مدیریت آفات در محیط‌های پایدار نظیر شرایط گلخانه‌ای و انباری می‌باشند (Fransen, 1993; Fransen et al., 1999). از این عوامل در انبارهای محصولات کشاورزی در موارد متعددی استفاده شده است (Brower et al., 1996; Moore et al., 2000). موفقیت استفاده توأم از این دو گروه از عوامل بیولوژیک وابسته به عدم وجود اثرات منفی قارچ بر توانایی پارازیتوئید می‌باشد. در چنین شرایطی زنبورپارازیتوئید باید یا نسبت به قارچ حساسیت نداشته باشد و یا توانایی اجتناب از تماس با میزبان‌های آلوده را دارا باشد. چرا که بسیاری از زنبورها به‌صورت فیزیولوژیکی نسبت به قارچ *Beauveria bassiana* حساسیت دارند. زنبورهای اجتماعی دارای رفتاری ویژه‌ای نظیر قدرت نظافت، تهویه لانه، ترشح مواد ضد میکروبی و سیستم تنظیم حرارت می‌باشند که باعث اجتناب از آلودگی یا به حداقل رساندن اثرات عوامل بیمارگر می‌گردند (Goettel et al., 1990; Oi et al., 1993). در مقابل زنبورهای پارازیتوئید فاقد چنین الگوهای رفتاری در شرایط آزمایشگاهی نسبت به قارچ *B. bassiana* حساسیت نشان می‌دهند (Danafa et al., 1999; Valk 1999; Dela Rosa et al., 1997). عوامل بیمارگری نظیر *B. bassiana* که دارای دامنه میزبانی وسیع می‌باشند نه تنها ممکن است به‌صورت مستقیم باعث مرگ زنبورهای پارازیتوئید گردند بلکه می‌توانند روی توانایی تخم‌گذاری زنبورهای ماده نیز موثر باشند. حتی اگر زنبورهای پارازیتوئید نسبت به عامل بیمارگر حساسیت نداشته باشند، ممکن است میزبان‌های آلوده برای رشد و نمو نتاج آن‌ها کیفیت لازم را نداشته باشند. بنابراین بعضی از زنبورهای پارازیتوئید دارای توانایی تشخیص و اجتناب از میزبان‌های آلوده به عوامل بیمارگر می‌باشند (Fransen et al., 1993; Jones et al., 1996).

از آنجایی که لاروهای سوسک شپشه‌دندانه‌دار *O. surinamesis* به‌عنوان یک آفت انباری مهم خرما مورد حمله زنبور پارازیتوئید *C. tarsalis* و قارچ *B. bassiana* قرار می‌گیرند (Latifian et al., 2009). لذا رفتار ترجیح میزبانی و واکنش تابعی زنبور پارازیتوئید مزبور روی لاروهای سالم و بیمار شپشه‌دندانه‌دار مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

زنبور *C. tarsalis* و شپشه‌دندانه‌دار از طریق نمونه‌برداری از انبارهای خرماي رقم سایر در استان خوزستان جمع‌آوری گردیدند. پرورش سوسک در دمای 27 ± 5 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد درون اتاقک رشد و درون ظروف پلاستیکی درب دار به ابعاد $7/5 \times 8/5$ سانتی‌متر که در قسمت درب آن‌ها سوراخی جهت تهویه در نظر گرفته شده بود روی خرماي رقم سایر انجام گرفت. زنبور پارازیتوئید نیز در شرایط آزمایشگاهی درون ظروف استوانه‌ای درب‌دار به قطر ۷ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر که حاوی لارو شپشه‌دندانه‌دار، خرما (برای تغذیه لارو) و پنبه آغشته به عسل ۵۰ درصد رقیق شده (برای تغذیه حشرات کامل زنبور) بود در درجه حرارت 30 ± 1 درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۶ : ۸ (D : L) پرورش داده شدند.

قارچ عامل بیمارگر

جدایه ایرانی قارچ *B. bassiana* بنام Iran441c که از طریق موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه گردیده بود، مورد استفاده قرار گرفت. برای تکثیر جدایه این قارچ از محیط غذایی SDAY استفاده شد. بعد از اسپورزایی کامل (کشت ۱۴-۱۲ روزه) سطح محیط کشت به وسیله سوزن انتقال خراش داده شد و در داخل ارلن‌های جداگانه که حاوی ۱۰ سی سی آب مقطر استریل با محلول ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰^۱ بود، جمع‌آوری گردید. محیط کشت با اتوکلاو در فشار ۱/۵ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی گردید (Daoust *et al.*, 1982). برای آلوده سازی لاروها، آن‌ها را به مدت ۲۰ ثانیه درون سوسپانسیون اسپور با غلظت ۱۰^۳ اسپور در میلی لیتر فرو برده شدند.

بررسی اثرات بیماری بر اجزاء واکنش تابعی زنبور پارازیتوئید

برای این منظور ظروف استوانه‌ای پلاستیکی به قطر ۷ و ارتفاع ۱۰ سانتی متر تهیه شد. یک سوراخ جهت تهویه هوا در قسمت درب ظرف ایجاد کرده و سوراخ‌ها با پارچه نظیف پوشانده شد. درون هر ظرف یک زنبور ماده جفت‌گیری داده با تعداد ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ عدد از لاروهای سالم یا بیمار را قرار داده شد. هر تیمار سه بار تکرار گردید. این بررسی در شرایط آزمایشگاهی و در دمای ۲۷±۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰±۵ درصد انجام گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت تعداد لاروهای سالم و پارازیته در هر گروه و در هر تیمار و تکرار به صورت جداگانه ثبت گردیدند.

الف- تحلیل داده‌ها

واکنش تابعی با استفاده از نرم‌افزار SAS (SAS Institute, 1999) و به روش جولیانو^۲ در دو مرحله انتخاب و تست فرضیه نیز انجام شد. انتخاب مدل عبارتست از شناسایی نوع واکنش تابعی به کمک رگرسیون لجستیک نسبت لاروهای پارازیته شده (N_e) به تعداد لاروهای اولیه (N_0) می‌باشد. تست فرضیه شامل برآورد پارامترهای واکنش تابعی و مقایسه آن‌ها در واکنش‌های تابعی مختلف می‌باشد. برای این منظور مدل ترجیحی رگرسیون غیرخطی حداقل مربعات^۳ تعداد لاروهای پارازیته شده (N_e) به تعداد لاروهای اولیه شده (N_0) برای برآورد پارامترها به کار گرفته شد. تکنیک مزبور روی داده‌های تغییر نیافته اعمال شد (Hassel *et al.*, 1977; Hassel, 1981).

ب- معادله دیسک هولینگ (Hassel *et al.* 1977)

$$N_e = \frac{d' T N_i P_i}{1 + d' T_h N_i}$$

در این معادله N_e معادل N_a در نظر گرفته شده است.

1- Tween 80

2 - Juliano

3- Nonlinear least squares regression

ج- معادله جستجوی تصادفی (Hassel 1981)

$$N_e = N_t [1 - \exp(\frac{-a'TP_t}{1+a'T_h N_t})]$$

در معادلات فوق N_e تعداد لاروهایی که با زنبورها مواجه شدند، N_a تعداد لاروهای که مورد حمله زنبورها قرار گرفتند، p_t تعداد زنبورها در زمان آزمایش (t) ، a' قدرت جستجوگری آبی یا ثابت حمله یا کارایی جستجو، T کل زمان موجود در اختیار زنبورهای پارازیتوئید، Nt تعداد لارو در زمان آزمایش (t) ، T_h زمان دستیابی می‌باشند. طبق نظر هسل (Hubbard *et al.*, 1978) اگر a' تابعی از تراکم میزبان باشد:

$$a' = \frac{bN_t}{1 + CN_t}$$

از روی معادله دیسک هولینگ می‌توان واکنش تابعی نوع سوم را برآورد نمود (Hassel *et al.*, 1977; Hassel, 1981). جولیانو در حالت کلی a' را یک تابع هذلولی از N_t به صورت زیر بیان می‌کند:

$$N_e = \frac{d + bN_t}{1 + CN_t}$$

این معادله بیان می‌کند که وقتی d برابر صفر باشد، همان رابطه پیشنهادی هسل به دست آمد (Hassel *et al.*, 1977; Hassel, 1981). از جایگذاری این معادله در معادله هالینگ رابطه زیر نتیجه می‌شود:

$$N_e = \frac{dTP_t N_t + bTP_t N_t^2}{1 + CN_t + dT_h N_t + bT_h N_t^2}$$

که در آن b ، c و d مقادیر ثابت هستند. پارامترهای برآورد شده $(a'$ و T_h) در انواع لاروهای سالم و بیمار با هم مقایسه شدند و به عنوان معیاری برای ارزیابی کارایی زنبورها به کار رفتند. a' عبارتست از نسبتی از لاروهای در دسترس زنبور که در واحد زمان جستجو با آن‌ها مواجه می‌شوند. T_h عبارت از تمام عملیات پارازیتیسیم غیر از جستجو شامل تعقیب و تسلیم کردن، پارازیته کردن، تمیز کردن، خودآرایی و استراحت ناشی از عمل پارازیتیسیم توسط پارازیتوئید می‌باشد که از زمان مشاهده لارو میزبان تا از سرگیری مجدد جستجو صورت می‌گیرد. T/T_h نیز حداکثر نرخ حمله می‌باشد (Hassel *et al.*, 1977; Hassel, 1981).

بررسی ترجیح میزبانی زنبور پارازیتوئید در لاروهای بیمار و سالم جمعیت

آزمایش‌ها در دو گروه لاروهای سالم و بیمار انجام گردید. در هر گروه برای انجام آزمایش ترجیح مخلوطی از دو نوع لارو سالم و بیمار (جمعاً ۵۰ عدد) را در یک لکه قرار گرفتند. تراکم مجموع دو نوع لارو میزبان را ثابت در نظر گرفته ولی فراوانی نسبی در بین تیمارها تغییر می‌کند. تیمارها شامل ترکیب $(۴۰، ۱۰)$ ، $(۳۰، ۲۰)$ و $(۲۵، ۲۵)$ از دو نوع (سالم و بیمار) به ترتیب بودند. یعنی جمعاً شش تیمار در دو آزمایش وجود داشت. هر تیمار سه بار تکرار شد. سپس همانند آزمایش قبل و در ظروف و شرایط مشابه روی هر تکرار در هر تیمار یک عدد زنبور پارازیتوئید رهاسازی شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت تعداد لارو سالم و پارازیته در هر گروه و هر تیمار به صورت جداگانه ثبت شد.

روش تحلیل داده‌ها

آسان‌ترین راه محاسبه شاخص ترجیح (C) استفاده از تیمار نسبت مساوی از لاروهای سالم و بیمار یعنی تیمار ۲۵ سالم و ۲۵ بیمار است، بود. سپس با استفاده از مدل مورداک درصد ترجیح و پارازیتسم زنبور پارازیتوئید بر روی هر نوع لارو با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Lewls et al., 1990).

$$C = \frac{E_1 / E_2}{N_1 / N_2}$$

در رابطه فوق C شاخص ترجیح پارازیتوئید، N_1 و N_2 تعداد اولیه میزبان‌های سالم و بیمار و E_1 و E_2 تعداد میزبان‌های پارازیت شده لاروهای سالم و بیمار می‌باشند. چنانچه زنبور پارازیتوئید در محیطی قرار داشته باشد که در لکه غذایی آن علاوه بر لاروهای سالم، لاروهای بیمار با میزان سودمندی متفاوت وجود داشته باشد و این لاروها به صورت تصادفی در لکه غذایی پراکنده باشند و چنانچه زمان دستیابی لارو سالم برابر T_n و زمان دستیابی لارو بیمار برابر T_a در نظر گرفته شود (این دو پارامتر در آزمایش‌ها قبلی برآورد شده اند)، آنگاه واکنش تابعی آن‌ها که نشان‌دهنده نسبت مصرف از لارو سالم و لارو بیمار است به صورت زیر بیان می‌شود (Murdoch, 1969):

$$f_n(N, A) = \frac{N}{1 + T_n N + p T_a A}$$

$$f_a(N, A) = \frac{p A}{1 + T_n N + p T_a A}$$

در این رابطه p احتمال پیدا کردن لارو سالم در محدوده لکه غذایی (با استفاده از مدل بینومال و نسبت‌های مصرف لارو سالم به لارو بیمار محاسبه می‌گردد). N تراکم لارو سالم و A تراکم لارو بیمار است.

چنانچه شاخص ترجیح برای لارو سالم را C_n و برای لارو بیمار C_a در نظر گرفته شود، میانگین تعداد میزبان به دست آمده برای زنبور پارازیتوئید بر اساس فرضیه جستجوی غذای مناسب به صورت زیر محاسبه شد (Lewls et al., 1990):

$$g(N, A) = C_n f_n(N, A) + C_a f_a(N, A) = \frac{C_n N + p C_a A}{1 + T_n N + p T_a A}$$

تابعی که در بالا توصیف گردید، اولین بار توسط وارنر و هال در سال ۱۹۷۴ تحت عنوان تابع نرخ دستیابی^۱ نامگذاری گردیده است (Lewls et al., 1990).

چنانچه زنبور پارازیتوئید در هر لکه غذایی به طور کامل از تغذیه از لارو بیمار صرف نظر کند در این صورت رابطه زیر برقرار بود (Lewls et al., 1990):

$$\frac{C_a}{T_a} > \frac{C_n}{1 + T_n N}$$

چنانچه تراکم لاروهای بیمار به حد تراکم آستانه^۲ برسد، این آستانه به صورت زیر محاسبه می‌گردد (Lewls et al., 1990):

$$N_s = \frac{C_a}{C_n T_a - C_a T_n}$$

1- Gain rate function
2- Threshold density

این مدل اولین بار توسط استفن و کریس در سال ۱۹۸۶ مطرح گردید و تحت عنوان قانون صفر- یک^۱ نامیده شد (Lewis *et al.*, 1990).

برای بررسی ترجیح پارازیتیسیم در تراکم‌های مختلف لاروهای سالم و بیمار براساس تئوری جستجوی غذای مناسب با در نظر گرفتن آستانه جمعیت لارو بیمار و قانون صفر- یک میزان پارازیتیسیم جمعیت لاروهای سالم در تراکم‌های مختلف خواهیم داشت (Lewis *et al.*, 1990):

$$f_n(N, A) = \frac{N}{1 + T_n N} \quad N > N_s$$

$$f_n(N, A) = \left[\frac{N}{1 + T_n N + T_a A}, \frac{N}{1 + T_n N} \right] \quad N = N_s$$

$$f_n(N, A) = \frac{N}{1 + T_n N + T_a A} \quad N < N_s$$

و برای میزان پارازیتیسیم جمعیت لاروهای بیمار در تراکم‌های مختلف خواهیم داشت:

$$f_a(N, A) = 0 \quad N > N_s$$

$$f_a(N, A) = \left[0, \frac{A}{1 + T_n N + T_a A} \right] \quad N = N_s$$

$$f_a(N, A) = \frac{A}{1 + T_n N + T_a A} \quad N < N_s$$

نتایج و بحث

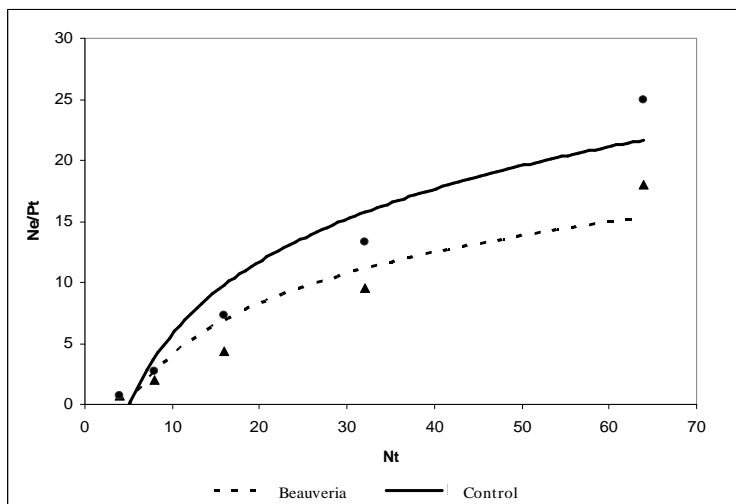
اثرات بیماری بر اجزاء واکنش تابعی زنبور پارازیتوئید لارو

در تحلیل واکنش تابعی، داده‌های دو گروه لاروهای سالم و بیمار میزبان با استفاده از رگرسیون لجستیک تجزیه شدند که تمام پارامترهای هر دو گروه اختلاف معنی‌داری با صفر داشتند. لذا واکنش تابعی نوع ۳ برای هر دو گروه زنبور برآورد شد (شکل ۱) مطابق نظر هسل (Hassel, 1981) واکنش تابعی نوع ۳ تا آستانه‌ای از تراکم میزبان وابسته به انبوهی بوده و می‌تواند در پایداری روابط متقابل پارازیتوئید- میزبان مشارکت کند. هر دو گروه زنبور در تراکم‌های ۴-۱۴ لارو میزبان سالم و بیمار وابسته به انبوهی عمل می‌کردند. با توجه به این موضوع می‌توان نتیجه گرفت که در صورت وجود نسبت مناسب پارازیتوئید - میزبان، زنبور پتانسیل ایجاد تعادلی پایدار با میزبان را خواهد داشت.

دو دلیل را برای بروز واکنش تابعی تیپ ۳ محتمل می‌دانند. یکی اختصاص نسبت فزاینده‌ای از کل زمان در دسترس زنبور به زمان فعالیت‌های دیگری غیر از جستجو در تراکم‌های پایین میزبان موثر می‌باشد (Hubbard *et al.*, 1978). رفتار میزبان خواری توسط حشرات کامل که قسمتی از وقت خود را صرف تغذیه مستقیم از میزبان می‌کنند، دوم زنبورهای پارازیتوئید تمایل کمی به پارازیته کردن لاروهای بیمار در جمعیت‌های پایین داشتند. لذا قدرت جستجوی زنبور در جمعیت لاروهای بیمار کمتر از لاروهای سالم بود. زمان دستیابی در جمعیت لاروهای بیمار کمتر از لاروهای سالم بود. این موضوع به دلیل کاهش دفاع و تحرک لاروهای بیمار نسبت به لاروهای سالم بود. از طرفی نرخ برخورد زنبور پارازیتوئید با لاروهای بیمار بیشتر از لاروهای سالم بوده زیرا زنبور به دنبال یافتن لاروهای سالم بود. زیرا برای بقاء بیشتر

1- Zero- one principal

نتایج خود می‌باشد. در موارد ابتدایی زنبور در برخورد با لارو بیمار از پارازیت‌ها کردن آن صرف نظر می‌کند. ولی در اثر تکرار برخورد نهایتاً میزان خود را پارازیت می‌کند. با توجه به این موضوع تعداد برخوردها در واحد زمان افزایش یافته بدون این که موجب افزایش درصد پارازیت‌سیسم گردد.



شکل ۱- مدل واکنش تابعی زنبورهای *C. tarsalis* در جمعیت لاروهای بیمار و سالم شپشه‌دنداندار *O. surinamensis*

Fig. 1- Functional response model of *C. tarsalis* on infected and non-infected larval population of *O. surinamensis*

پارامترهای واکنش تابعی زنبور پارازیتوئید در جمعیت لاروهای سالم و بیمار شپشه‌دنداندار در جدول ۱ درج گردیده است.

جدول ۱- ضرایب و پارامترهای واکنش تابعی در زنبورهای *C. tarsalis* فعال در جمعیت لاروهای سالم و بیمار شپشه‌دنداندار

O. surinamensis

Table 1- Coefficients and parameters of functional response model of *C. tarsalis* on non-infected and infected larval population of *O. surinamensis*

Parasitoid Group	T/T_h	$T_h(h)$	$a(h^{-1})$	R^2
Non infected larvae	46.15	0.52	0.012	0.99
Infected Larvae	47.1	0.51	0.009	0.98

ترجیح میزبانی زنبور پارازیتوئید در جمعیت لاروهای بیمار و سالم

شاخص ترجیح میزبانی (C) زنبور پارازیتوئید بر روی لاروهای سالم (به‌عنوان میزبان دوم) N_2 و لاروهای بیمار (به‌عنوان میزبان اول) N_1 در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- شاخص‌های ترجیح میزبانی (C) زنبور پارازیتوئید *C. tarsalis* روی لاروهای سالم (به‌عنوان میزبان دوم) و لاروهای

بیمار (به‌عنوان میزبان اول)

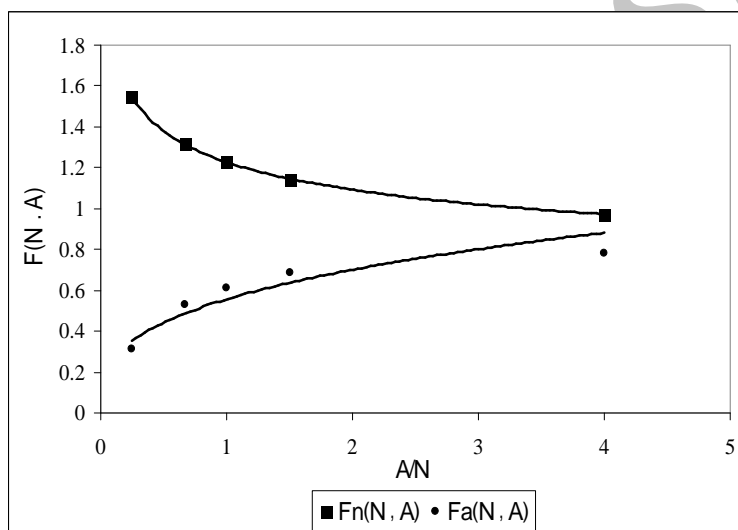
Table 2- Host preference indices (C) of *C. tarsalis* on non-infected larvae (the first host) N_1 and infected larvae (the second host) N_2

N_1	N_2	E_1	E_2	C_1	C_2
10	40	2.67	23	0.46	2.16
20	30	5.00	14.67	0.51	1.96
25	25	5.67	11.67	0.48	2.06
40	10	9.67	2.67	0.91	1.10
30	20	7.33	10	0.49	2.04
Mean				0.57	1.86

در جدول ۲ C_1 و C_2 به ترتیب شاخص ترجیح میزبان بیمار و سالم، N_1 و N_2 به ترتیب تعداد میزبان بیمار و سالم و E_1 و E_2 تعداد لاروهای بیمار و سالم پارازیته بود.

همان‌طور که در جدول ۲ ملاحظه می‌گردد، میانگین ضرایب ترجیح پارازیتوئید برای لاروهای سالم $1/86$ و برای لاروهای بیمار $0/57$ بود. مقادیر صفر تا یک برای ترجیح میزبان بیمار و بزرگتر از یک برای میزبان سالم نشان دهنده ترجیح لاروهای سالم توسط زنبور پارازیتوئید بود.

با توجه به این که در آزمایشات انجام شده زنبور پارازیتوئید در لکه‌هایی فعال بود که در آن‌ها علاوه بر لاروهای سالم، لاروهای بیمار با میزان سودمندی متفاوت به صورت تصادفی پراکنده بودند و با در نظر گرفتن این که زمان دستیابی لارو سالم برابر $T_n=0/52$ و زمان دستیابی لارو بیمار برابر $T_a=0/51$ برآورد گردید. لذا واکنش تابعی زنبور پارازیتوئید در لکه‌های غذایی مخلوط نشان دهنده نسبت مصرف از لارو سالم و لارو بیمار است. در شرایط لکه‌های غذایی مخلوط تغییرات جمعیت‌های سالم و بیمار برآورد گردید که نتایج محاسبات آن در شکل ۲ درج گردیده است. در این شکل $f_n(N,A)$ احتمال پیدا کردن لارو سالم و $f_a(N,A)$ احتمال پیدا کردن لارو بیمار در محدوده لکه غذایی، N تراکم لارو سالم و A تراکم لارو بیمار است.



شکل ۲- توابع واکنش تابعی زنبور پارازیتوئید *C. tarsalis* در لکه‌های غذایی لاروهای سالم و بیمار

O. surinamensis

Fig 2- Functional response models of *C. tarsalis* on non-infected and infected larval population of *O. surinamensis*

همان‌طور که در شکل ملاحظه می‌گردد واکنش‌های تابعی لاروهای سالم و بیمار در حالت مخلوط از روندی عکس یکدیگر تبعیت می‌کردند. این موضوع نشان داد که زنبور پارازیتوئید ابتداء لاروهای سالم را انتخاب می‌کند و سپس به تدریج با کاهش تراکم جمعیت لارو سالم و افزایش نسبت لاروهای بیمار به سالم، زنبور به تدریج لاروهای بیمار را نیز پارازیته می‌کند. به عبارت دیگر در شرایطی که نسبت لاروهای بیمار به سالم $1/5$ برابر باشد، زنبور به نسبت مساوی از دو جمعیت پارازیته می‌کرد. در نسبت‌های بالاتر روند افزایش پارازیتسیم جمعیت به سمت افزایش پارازیتسیم جمعیت بیمار تغییر یافت.

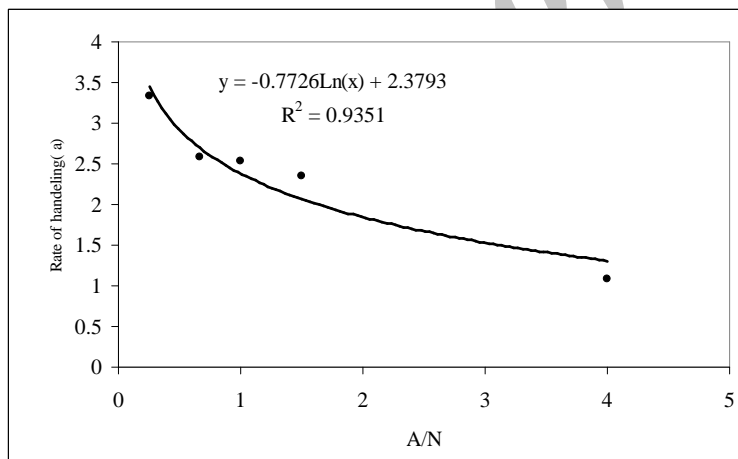
چنانچه شاخص ترجیح برای لارو سالم C_n و برای لارو بیمار C_a در نظر گرفته شود، میانگین تعداد میزبان به دست آمده برای زنبور پارازیتوید در نتیجه پارازیتسم براساس فرضیه جستجوی بهینه تحت عنوان تابع نرخ دستیابی^۱ محاسبه می شد. نتایج این محاسبات در جدول ۳ درج گردیده است.

جدول ۳- میانگین میزبان به دست آمده برای زنبور پارازیتوید *C. tarsalis* در نتیجه پارازیتسم در لکه های غذایی جمعیت های لاروهای سالم و بیمار *O. surinamensis*

Table 3- Mean of Gain food for *C. tarsalis* based on parasitism in patch food infected and non-infected larvae of *O. surinamensis*

N	A	$f_n(N, A)$	$f_a(N, A)$	C_n	C_a	A/N	G(N, A)
40	10	1.55	0.31	2.16	0.02	0.25	3.33
30	20	1.32	0.53	1.95	0.02	0.67	2.59
25	25	1.23	0.61	2.06	0.01	1	2.53
10	40	0.97	0.78	1.10	0.02	4	1.09
20	30	1.14	0.68	2.04	0.01	1.5	2.34

در این جدول $G(N,A)$ تابع نرخ دستیابی بوده و بقیه پارامترها مشابه جدول ۲ تعریف می شوند. این جدول نرخ دست آوری زنبور پارازیتوید در لکه های غذایی با نسبت های مختلف لاروهای سالم و بیمار برآورد گردید که نتایج آن در شکل ۳ نشان داده شده است.

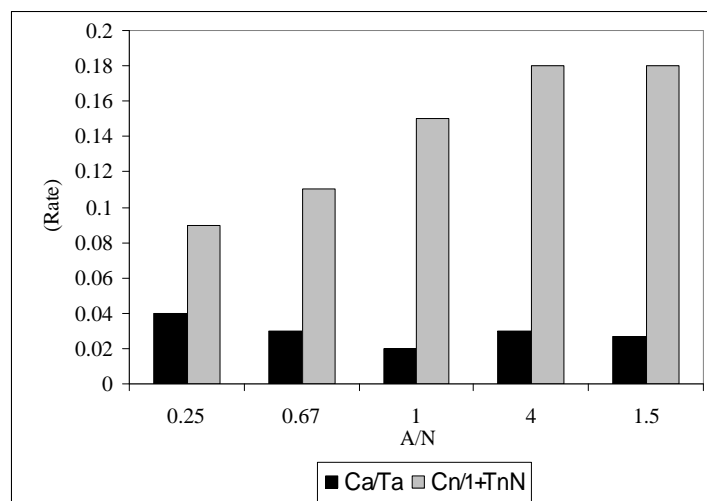


شکل ۳- تغییرات نرخ دستیابی زنبور پارازیتوید *C. tarsalis* در لکه های غذایی با تراکم مختلف لاروهای بیمار به سالم *O. surinamensis*
Fig. 3- Gain rate of *C. tarsalis* at a food patch with different density of infected and non-infected larvae of *O. surinamensis*

با توجه به تغییرات نرخ دستیابی ملاحظه می گردد که با افزایش نسبت لاروهای بیمار در لکه غذایی، نرخ دستیابی که معرف مقدار بهره وری فعالیت میزبان یابی زنبور پارازیتوید در هر لکه به تدریج کاهش می یابد. لذا زنبور تلاش می کند لکه هایی را انتخاب کند که تعداد لاروهای بیمار در آنها کمتر باشد. با توجه به این موضوع و بر اساس تئوری جستجوگری بهینه میزبان (Hubbard & Cook, 1978) زنبور پارازیتوید در هر لکه غذایی تلاش می کند تا حداکثر مقدار نسبت میزبان مورد نیاز خود را از طریق تغذیه از لاروهای سالم تامین کند و به طور کامل از تغذیه از لاروهای بیمار صرف

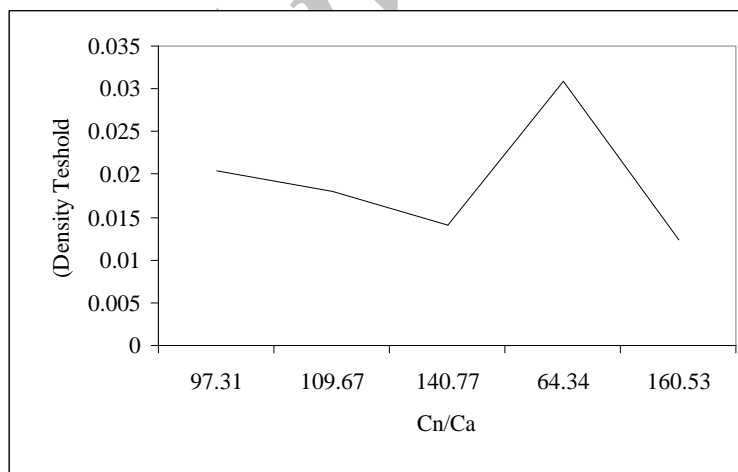
1 - Gain rate function

نظر می‌کند. برای مشخص نمودن احتمال بروز چنین شرایطی در آزمایشات انجام شده از مقایسه دو نسبت C_n/T_a و $C_n/(1+T_nN)$ استفاده شد که نتایج آن در شکل ۴ درج گردیده است.



شکل ۴- C_n/T_a و $C_n/(1+T_nN)$ در لکه‌های غذایی مورد آزمایش
 Fig 4- C_n/T_a and $C_n/(1+T_nN)$ in $C_n/(1+T_nN)$ in treatment nich food

همان‌طور که در شکل ۴ ملاحظه می‌شود در هیچ یک از نسبت‌های موجود در لکه‌های سالم و بیمار شرایط فراهم نبوده، لذا در هیچ کدام از شرایط مورد بررسی در این آزمایش زنبور پارازیتوئید به طور کامل از تغذیه از لاروهای بیمار صرف نظر نمی‌کرد. آستانه تراکم لاروهای بیمار که در آن شرایط میزان سودمندی لکه غذایی برای زنبور به گونه‌ای است که نیاز خود را تنها با پارازیته کردن لارو سالم به دست می‌آورد، در نسبت‌های مختلف دو جمعیت محاسبه شد که نتایج آن در شکل ۵ نشان داده شده است.



شکل ۵- آستانه تراکم در لکه‌های مختلف با نسبت‌های متفاوت از تراکم جمعیت‌های لاروهای سالم و بیمار *O. surinamensis*
 Fig 5- Threshold density in a patch with different rate of infected and non-infected larvae of *O. Surinamensis*

برای بررسی ترجیح پارازیتسم در تراکم‌های مختلف لاروهای سالم و بیمار براساس تئوری جستجوگری میزبان بهینه پارازیتوئید با در نظر گرفتن آستانه جمعیت لارو بیمار و قانون صفر-یک (Hurd 1993). میزان پارازیتسم جمعیت لاروهای سالم و بیمار در تراکم‌های مختلف در جدول ۴ و ۵ درج گردیده است.

جدول ۴- میزان پارازیتسم جمعیت لاروهای سالم *O. surinamensis* در تراکم‌های مختلفTable 4- Rate of parasitism of non infected larvae of *O. surinamensis* in different densities

N	A	$F_n(N, A)(N \gg N_s)$	$F_n(N, A)(N = N_s)$	$F_n(N, A)(N < N_s)$
40	10	1.83	0.02	1.49
30	20	1.81	0.01	1.12
25	25	1.78	0.01	0.93
10	40	1.61	0.03	0.37
20	30	1.75	0.01	0.75

جدول ۵- میزان پارازیتسم جمعیت لاروهای بیمار در تراکم‌های مختلف *O. surinamensis*Table 5- Rate of parasitism of infected larvae of *O. surinamensis* in different densities

N	A	$F_a(N, A)(N \gg N_s)$	$F_a(N, A)(N = N_s)$	$F_a(N, A)(N < N_s)$
40	10	0	0.02	0.37
30	20	0	0.02	0.75
25	25	0	0.01	0.93
10	40	0	0.03	1.50
20	30	0	0.01	1.12

بسیاری از حشرات راسته بال‌غشاییان نسبت به عفونت توسط *B. bassiana* حساس هستند. ولی بال‌غشاییان اجتماعی دارای مکانیسم‌های رفتاری مختلفی هستند که از عفونت پاتوژن جلوگیری می‌کنند (Goettel et al., 1990). در زنبورهای پارازیتوئید چنین رفتارهایی محدود شده و در محیط‌های آزمایشگاهی بیمارگری قارچ *B. bassiana* روی آن‌ها به اثبات رسیده است (Danfa et al., 1999).

در رابطه با اثرات قارچ *B. bassiana* بر روی حشرات کامل زنبورهای پارازیتوئید مطالعات اندکی انجام شده است. در پژوهشی که در این رابطه انجام شده دزهای $5/39 \times 10^6$ تا $6/9 \times 10^7$ به‌عنوان دز ۵۰ درصد کشندگی قارچ بر روی حشرات کامل زنبور *C. tarsalis* گزارش شده است (De la Rosa et al., 1997). در مطالعه دیگری کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از پودر قارچ در گندم طی مدت ۳ ساعت مرگ و میری معادل ۵۲/۷ درصد در جمعیت زنبور مزبور ایجاد نموده است (Lord, 2001). با توجه به مطالعات انجام شده مشخص گردید که حشرات کامل زنبور *C. tarsalis* نیز به اندازه حشرات آفات انباری به قارچ *B. bassiana* حساس هستند. از آنجا که تغذیه حشرات کامل زنبور *C. tarsalis* لاروهای سوسک‌های انباری به صورت شکارگری نیز است، خواص ضد تغذیه‌ای قارچ *B. bassiana* در این رفتار زنبورها نیز اختلال ایجاد می‌کند. مطالعات سایر محققین نیز نشان داده‌است که زنبور پارازیتوئید مورد بررسی توانایی تخم‌گذاری در لاروهای شپشه داندانه دار آلوده به قارچ *B. bassiana* را دارد. البته تمایل زنبور به تخم‌گذاری در بدن لاروهای بیمار با افزایش پیشرفت بیماری در بدن لارو کاهش می‌یابد. در صورتی که تخم‌گذاری زنبور پارازیتوئید در لاروهای آلوده دارای بیماری پیشرفته صورت گیرد، لاروهای پارازیتوئید توانایی تکمیل زندگی خود را نداشته و تلف می‌شوند (Lord, 2001; 2006). در صورتی که لاروهای زنبور پارازیتوئید موفق به زندگی خود در بدن میزبان آلوده شوند، زنبورهای حاصله از قدرت باروری و تخم‌گذاری کافی برخوردار نبوده و توانایی پارازیتسم آن‌ها نسبت به سایر زنبورهای پرورش یافته در بدن لاروهای سالم کاهش می‌یابد (Lord, 2001; 2006). بسیاری از جدایه‌های قارچ *B. bassiana* به هنگام مرگ میزبان تولید پیگمان‌های قرمز رنگ دی‌بنزو کوئینون و اوسپرین می‌کنند (Viring et al., 1862). زنبورهای پارازیتوئید به‌صورت واضحی از تخم‌گذاری در بدن این گروه از لاروها اجتناب می‌کنند. نوع جدایه

عامل بیمارگر نیز در ایجاد تغییرات رفتاری در میزبان‌یابی و تخم‌گذاری زنبور پارازیتوئید موثر است (Lord, 2001; 2006). در بسیاری از تحقیقات انجام شده پیرامون سیستم‌های میزبان - پارازیتوئید - قارچ عامل بیمارگر، نشان داده شده که قارچ عامل بیماری زنبور پارازیتوئید را آلوده نمی‌کند (Brobyn *et al.*, 1988; Powell *et al.*, 1986). در چنین سیستم‌هایی ارتباط بین قارچ و زنبور پارازیتوئید اکثراً به جای پارازیتسم به صورت رقابتی گزارش گردیده است. یکی از مثال‌های بارز در این زمینه اجتناب زنبورهای *Encarsia formosa* Gahan از پارازیته کردن لاروهای مگس سفید گلخانه آلوده به قارچ *Aschersonia aleyroidis* Webber می‌باشد (Fransen *et al.*, 1999). چنین مکانیزم‌هایی در قارچ‌های با دامنه میزبانی وسیع نظیر *B. bassiana* که توانایی آلوده کردن میزبان و پارازیتوئید را دارند بیشتر مشاهده شده است. به عنوان مثال مشخص گردیده که زنبور پارازیتوئید *Entermocerus sp* که پارازیتوئید *Bemesia argentifolii* Bellows از پارازیته کردن میزبان‌های آلوده به قارچ *B. bassiana* اجتناب می‌کند (Gones *et al.*, 1996). نظیر چنین واکنش‌هایی در رابطه با لاروهای *Pieris brassicae* Raopen و زنبور پارازیتوئید آن *Apanteles glomeratus* L. (Fuhrer *et al.*, 1979)، لاروهای *Spodoptera littoralis* Boisduval و زنبور پارازیتوئید آن *Micropiltis rufiventris* Kok (El. Marghrahay *et al.*, 1988) نسبت به قارچ *B. bassiana* گزارش شده است. زنبور *C. tarsalis* می‌تواند به کمک شاخک‌های خود از طریق نشانه‌های شیمیایی که از طریق کوتیکول و میزان تحرک میزبان خود دریافت می‌کند بین میزبان‌های سالم و بیمار انتخاب مناسب داشته باشد (Howard *et al.*, 1998) همچنین ثابت شده است که نوع رنگدانه‌های تجمع یافته در جلد میزبان در اثر فعالیت *B. bassiana* می‌تواند این زنبور را در تشخیص لاروهای سالم و بیمار کمک کند و به‌عنوان یک فرکانس نوری متفاوت توسط زنبورهای ماده قابل تشخیص باشد (Powell, 1938).

با توجه به موارد ذکر شده و نتایج این تحقیق زنبور پارازیتوئید *C. tarsalis* ترجیح می‌دهد، میزبان‌های خود را از لاروهای سالم شپشه دندانه دار تمیز دهد. لذا گرچه یک حالت رقابتی بین قارچ و پارازیتوئید مشاهده می‌شود ولی کاربرد هم‌زمان آن‌ها از دیدگاه مدیریت کنترل آفت می‌تواند اثرات تکمیل‌کننده‌ای بر کنترل شپشه دندانه‌دار داشته باشد.

References

- Fransen, J. J. 1993. Development of integrated crop protection in glasshouse ornamentals Pesticide Science. 36, 329-333.
- Fransen, J. J., and van Lenteren, J. C. 1993. Host selection and survival of the parasitoid *Encarsia formosa* on greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, in the presence of hosts infected with the fungus *Aschersonia aleyroidis*. Entomological Experimental Applied. 69,239-249.
- Brower, J. H., Smith, L., Vail, P. V., and Flinn, P. W. 1996. Biological control. In "Integrated Management of Insects in Stored Products" (Bh. Subramanyam and D. W. Hagstrum, Eds.), pp. 223-286. Dekker, New York.
- Daoust, R. A. and Robert. D. W. 1983. Studies on the prolonged storage of *Metarhizium anisopliae* conidia effect of growth substrate on conidial survival and virulence against mosquitoes. Journal of Invertebrate Pathology. 41: 161-170.
- Danfa, A., and van der Valk, H. C. H. G. 1999. Laboratory testing of *Metarhizium spp.* and *Beauveria bassiana* on Sahelian non-target arthropods. Biocontrol Science Technology. 9, 187-198.
- De la Rosa, W., Godinez, J. L., Alatorre, R., and Trujillo, J. 1997. Susceptibility of the parasitoid *Cephalonomia stephanoides* to different strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Southwest Entomology. 22, 233-242.
- El-Maghraby, M. M. A., Hegab, A., and Yousif-Khalil, S. I. 1988. Interactions between *Bacillus thuringiensis* Berl., *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. and the host/parasitoid system *Spodoptera littoralis* (Boisd.)/*Microplitis rufiventris* Kok. Journal of Applied Entomology. 106:417-421.

- Goettel, M. S., Poprawski, T. J., Vandenberg, J. D., Li, Z., and Roberts, D. W. 1990.** Safety to non-target invertebrates of fungal biocontrol agents. In "Safety of Microbial Insecticides" (M. Laird, L. A. Lacey, and E. W. Davidson, Eds.), pp. 209–231. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Hassel, M. P. 1981.** Arthropods predator – prey systems. In: May, R. M. Theoretical ecology: Principles and applications. Sinauerland, Mass. Pp. 105-131.
- Hassel, M. S. and Beddington J. R.. 1977.** Sigmoid functional responses by invertebrate's predators and parasitoids. *Journal Animal Ecology*. 46: 249-62.
- Howard, R. W., Charlton, M., and Charlton, R. E. 1998.** Host-finding, host-recognition, and host-acceptance behavior of *Cephalonomia tarsalis* (Hymenoptera: Bethyridae). *Annal of Entomological Societe of America*. 91, 879–889.
- Hubbard, S.F. and Cook. R.M. 1978.** Optimal foraging by parasitoid wasps. *Journal of Animal Ecology*. 17:593-604.
- Hurd, H. 1993.** Reproductive disturbances induced by parasites and pathogens of insects, pp. 87-105. In Beckage, N.F.S.N. Thompson, and B.A. Federici, (des.). Parasites and pathogens of insects, Volume 1. Parasites. Academic press. New York.
- Jones, W. A., and Wraight, S. P. 1996.** Effects of fungal pathogen applications in vegetables on the foraging activity of native parasitoids. In "Silverleaf Whitefly, 1996 Supplement to the Five-Year National Research and Action Plan. USDA, ARS 1996-01" (T. C. Henneberry, N. C. Toscano, and R. M. Faust, Eds.), p. 119.
- Latifian, M. Sol3yman-Nejadian, E. Ghazavi, M. Mosadegh. M. S. And J. Hayati. 2009.** Evaluation three Strains of *Beauveria bassiana* on sawtoothed beetle *Oryzaephilus surinamensis* and the effect of different temperature on their germination and mycelium growth. *Journal of Disease and pest research of Iran*.
- Lewis, W. J. L., E. M. Vet, J. H. Tumlinson, J.C. van Lenteren, and D. R. Papaj. 1990.** Variations in parasitoid foraging behavior: essential element of a sound biological control theory. *Environmental Entomology*. 19:1183-1193.
- Lord, J.C. 2001.** Response of the wasp *Cephalonomia tarsalis* (Hymenoptera: Bethyridae) to *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) as free conidia or infection in its host, the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae). *Biological Control*. 21(3): 300-304.
- Lord, J.C., 2006.** Interaction of *Mettesia oryzaephili* with *Cephalonomia* spp and their host *Cryptolestes ferrugineus* and *Oryzaephilus surinamensis*. *Biological Control*. 37: 167-172.
- Moore, D., Lord, J. C., and Smith, S. 2000.** Pathogens, In "Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM" (Bh. Subramanyan and D. W. Hagstrum, Eds.), pp. 193–227. Kluwer Academic, New York.
- Murdoch, W.W. 1969.** Switching in general predators: Experiments on predator specificity and stability of prey populations. *Ecological monographs*. 39: 335-354.
- Oi, D. H., and Pereira, R. M. 1993.** Ant behavior and microbial pathogens (Hymenoptera: Formicidae). *Florida Entomology* 76, 63–74.
- Powell, D. 1938.** The biology of *Cephalonomia tarsalis* (Ash.), a vespoid wasp (Bethyridae: Hymenoptera) parasitic on the sawtoothed grain beetle. *Annal of Entomological Society of America*. 31: 44–48.
- SAS Institute, 1999.** SAS Institute. Carey, NC.

Effect of the fungus, *Beauveria bassiana* (Balsamo) on the functional response and host preference of the parasitoid *Cephalonomia tarsalis* (Ashmead) in larval population of the sawtoothed beetle *Oryzaephilus surinamensis* L.

M. Latifian^{1*}, E. Soleymannejadian², M. Ghazavy³, M. S. Mosadegh², B. rad¹

1- Assistant Professor, Date Palm and Tropical Fruits Research Institute, Ahwaz, Iran

2- Associate Professor, Plant Protection Department, Agricultural faculty, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

3- Assistant Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran

Abstract

The larvae of the Sawtoothed beetle are attacked by the ecto-parasitoid, *Cephalonomia tarsalis*, and the entomophagous fungi, *Beauveria bassiana* in natural habitats. Interaction of simultaneous activities of the both natural enemies may affect the efficiency and predation behavior of the parasitoid in regulating the pest population. Therefore, the two important behaviors of the parasitoid, the functional response and host preference, were studied under laboratory conditions. For this purpose, the infested and non-infested pest larvae were used in separate and mixed conditions. Type III Holling's model was fitted on data obtained for infested or non-infested larvae of the Sawtoothed beetle. The parasitoid preferred the non-infested larvae. The functional response in condition of using the mixed pest larvae, showed an inverse trend of parasitism. An equal number of larvae from both groups were parasitized when the number of infested larvae was 1.5 times of non-infested ones. In higher proportions of infested larvae, the parasitism increased in favor of infested larvae. In all conditions, the wasp did not reject the infested larvae absolutely. It is concluded that there is a competitive relationship between the wasp and the fungus and this is a promising future for using the both in biological control of the Sawtoothed beetle in IPM programs.

Key words: *Beauveria bassiana*, *Cephalonomia tarsalis*, *Oryzaephilus surinamensis*, functional response, host preference

*Corresponding Author, E-mail: Masoudlatifian@yahoo.com

Received: 29 Nov. 2010 – Accepted: 16 Aug. 2011