

اثر ذخیره‌سازی در سرما روی پارامترهای رشد جمعیت پایدار زنبور *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae)

مریم علی‌خانی^{۱*}، سید علی صفوی^۱، روزین احمدی^۱ و آیدا جوانمرد^۱

۱- گروه گیاه‌پژوهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه-۲- دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m.alikhani20@gmail.com

Cold storage effects on stable population growth parameters of *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae)

M. Alikhani^{1&*}, S. A. Safavi¹, R. Ahmadi¹ and A. Javanmard²

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, 2. Former postgraduate student of Agriculture Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

*Corresponding author, E-mail: m.alikhani20@gmail.com

چکیده

استفاده از دماهای پایین جهت ذخیره‌سازی حشرات به عنوان ابزاری ارزشمند در پرورش انبوه و رهاسازی مهار زیستی می‌باشد. اثرات ذخیره‌سازی قابل توجه بوده و عوامل مختلفی می‌تواند باعث کاهش کیفیت بعد از دوره ذخیره‌سازی گردد. این عوامل می‌تواند سیکل زندگی عامل زیستی یا موقیت برنامه رهاسازی را تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین در این تحقیق تاثیر دوره‌های مختلف ذخیره‌سازی در سرما $4\pm2^\circ\text{C}$ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی $70\pm5\%$ درصد و ۲۴ ساعت تاریکی (شامل ۰، ۱۰، ۱۵ و ۲۳ روز ذخیره‌سازی) حشرات *H. hebetor* روی ویژگی‌های رشد جمعیت پارازیتولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده ذخیره‌سازی در سرما نرخ خالص و ناخالص تولید مثال زنبور را تحت تاثیر قرار داد. نتایج نشان داد افزایش جمعیت پارازیتولوژیکی (R_0) در افراد ذخیره‌سازی شده در سرما در مقایسه با شاهد به شدت کاهش یافته و بعد از ۱۵ روز ذخیره‌سازی حدود ۲۳ برابر از یک نسل به نسل دیگر می‌گردد. مقدار نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m) در طول دوره‌های مختلف ذخیره‌سازی در سرما تفاوت معنی‌داری نشان نداد. بر اساس نتایج به دست آمده در این بررسی ذخیره‌سازی زنبور *H. hebetor* تا ۱۵ روز در دمای $4\pm2^\circ\text{C}$ درجه سلسیوس تاثیری بر کارایی آن ندارد.

واژگان کلیدی: ذخیره‌سازی در سرما، رشد جمعیت، *H. hebetor*

Abstract

Use of low temperatures storage has proved to be a valuable tool in mass rearing of insects and biological control agents delivery to the release site. The effects of cold storage can be considerable and various factors can be taken into account to reveal possible reduced post-storage quality, which can have a significant impact on the life cycle after release or on the success of mass rearing. Therefore in this research effects of 0 (control), 5, 10 and 15 days cold storage ($4\pm2^\circ\text{C}$, $70\pm5\%$ RH and in full darkness) of *H. hebetor* adults were studied on characteristics of population growth of parasitoid. The results indicated that different cold storage durations had significantly effect on net reproduction and gross reproduction rates. Increasing rate of population parasitoid (R_0) decreased with long term of cold storage and was 23 equal initial population after 15 days storage. Storage durations had no significant effect on intrinsic rate of increase (r_m) of parasitoid. Our data showed that cold storage *H. hebetor* in $4\pm2^\circ\text{C}$ for 15 days had no effect on the performance of the parasitoid.

Key words: cold storage, population grows, *H. hebetor*

مقدمه

حشرات پارازیتولوژیک به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل مهار زیستی آفات محسوب می‌شوند. تولید انبوه این عوامل، برای استفاده در برنامه‌های کنترل بیولوژیک به‌ویژه در رهاسازی اشباعی ضروری می‌باشد (Van Lenteren & Tommasini., 2002). در زمان رهاسازی، دشمنان طبیعی باید به تعداد کافی و در زمان مورد نیاز فراهم باشند. بدین منظور از روش‌های ذخیره‌سازی حشرات در دماهای پایین، استفاده می‌شود (Venkatesan et al., 2000). این روش‌ها باید به گونه‌ای باشند که تولید دشمنان طبیعی با کیفیت را فراهم سازند (Leopold., 1998).

یکی از اجزای مهم و لازم در مدیریت تلفیقی آفات آگاهی از ویژگی‌های زیستی دشمنان طبیعی و تعیین مقادیر کمی آن‌ها می‌باشد که تحت عنوان دموگرافی و پارامترهای زیستی مطرح است. دموگرافی دارای کاربردهای وسیعی از جمله تاثیر کنترل شیمیایی روی دینامیسم جمعیت، تجزیه و تحلیل علل مرگ و میر، مقایسه جمعیت‌های آزمایشگاهی و وحشی، مقایسه

و ارزیابی دشمنان طبیعی آفات در مهار زیستی می‌باشد (Carey., 1982). مهم‌ترین پارامتر تعیین کننده‌ی رشد جمعیت، نرخ ذاتی افزایش جمعیت می‌باشد که یک شاخص استاندارد بوده و بیشترین میزان رشد جمعیت یک گونه را تحت شرایط فیزیکی معین نشان می‌دهد. در محاسبه نرخ ذاتی افزایش جمعیت میزان بقا نیز دخالت داده می‌شود. کاهش در میزان بقا و باروری منجر به کاهش در نرخ ذاتی افزایش جمعیت می‌شود. طول مدت ذخیره‌سازی در دماهای پایین می‌تواند تاثیر زیادی روی بقا و ویژگی‌های تولیدمثیل عوامل مهار زیستی داشته باشد (Van Baaren et al., 2005). پارامترهای مختلفی برای محاسبه کیفیت این عوامل، در زمان قبل و بعد از رهاسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پارامترها شامل بقا، طول دوره‌های تخریزی، بارآوری، زادآوری، نسبت جنسی نتاج، پراکنش و قدرت پرواز عامل مهار زیستی و توانایی جستجوگری میزان می‌باشد (Leopold., 1998; Lopez-Arroyo et al., 2000; Kostal & Havelka., 2001).

زنبور (*Habrobracon hebetor* Say (Hym.: Braconidae) یکی از پارازیتوئیدهای مهم برای مهار زیستی لارو شبپره‌های خانواده Pyralidae و Noctuidae بوده و می‌تواند یکی از عوامل مهم کترل بیولوژیک در مدیریت تلفیقی آفات انباری باشد. این حشره همراه با زنبور تریکوگراما جهت کترل کرم غوزه در مزارع پنبه مورد استفاده قرار می‌گیرد. تخم‌های انگلی نشده‌ای کرم غوزه توسط زنبور تریکوگراما که به لارو تبدیل می‌شوند، توسط این زنبور مورد حمله قرار گرفته و از بین می‌روند. در پرورش انبوه این زنبور از میزان‌هایی استفاده می‌شود که به راحتی و با کمترین هزینه پرورش می‌یابند. زنبور *H. hebetor* توانایی سازگاری با دماهای پایین را دارد. ۶۹ درصد شفیره‌های این زنبور و ۷۵ درصد حشرات کامل بعد از ۱۰ روز ذخیره‌سازی در پنج درجه سلسیوس باقی می‌مانند (Carrillo et al., 2005).

در ایران پرورش انبوه این زنبور روی لاروهای بید آرد، *Anagasta kuehniella* (Zeller) صورت می‌گیرد. مناسب‌ترین مرحله برای ذخیره‌سازی این زنبور، مرحله حشره کامل بوده و مطالعات مختلف نشان دهنده مرگ و میر کمتر پارازیتوئید در این مرحله نسبت به مرحله شفیرگی در طول مدت ذخیره‌سازی می‌باشد (Chen et al., 2011). این تحقیق با هدف بررسی تاثیر دوره‌های مختلف ذخیره‌سازی روی برخی پارامترهای زیستی زنبور *H. hebetor* انجام شد.

مواد و روش

پرورش حشره میزان

جمعیت اولیه شبپره مدیترانه‌ای آرد از پرورش‌های موجود در اینسکتاریوم ارومیه تهیه شد. شبپره مدیترانه‌ای در داخل ظروف پلاستیکی به ابعاد $30 \times 20 \times 10$ سانتی‌متر پرورش داده شد. آرد گندم به ارتفاع سه سانتی‌متر در داخل هر ظرف ریخته شد. سپس مقدار $0.2 \text{ g}/\text{رم تخم}$ بید آرد به صورت یکنواخت روی آرد پخش و ظروف پرورش در اتاق پرورش در شرایط دمایی 25 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی قرار گرفت.

پرورش زنبور پارازیتوئید *H. hebetor*

جمعیت اولیه زنبور *H. hebetor* از پرورش‌های موجود در اینسکتاریوم ارومیه تهیه شد. برای پرورش زنبورهای براکون از ظروف پتری پلاستیکی شفاف به قطر ۱۰ سانتی‌متر استفاده شد. تغذیه حشرات کامل با لایه نازکی از آب عسل مالیده شده روی نوارهای کاغذی به ابعاد 5×20 میلی‌متر که در هر ظرف پتری قرار داده می‌شد، صورت می‌گرفت. در داخل هر ظرف پتری نه عدد لارو سن آخر شبپره مدیترانه‌ای و سه عدد زنبور ماده‌ی براکون جفت‌گیری کرده رهاسازی کرده و سپس

ظروف پرورش در اتاقک رشد در دمای 28 ± 1 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند. پس از ۲۴ ساعت، زنبورها با استفاده از آسپیراتور دستی خارج و ظروف حاوی لاروهای انگلی شده‌ی بید آرد تا زمان ظهور حشرات کامل نسل جدید زنبور در شرایط مذکور نگهداری می‌شدند.

مطالعه تاثیر دوره‌های مختلف ذخیره‌سازی روی پارامترهای دموگرافی زنبور *H. hebetor*

زنبورهای پارازیتوئید حداکثر ۲۴ ساعته و تغذیه شده با آب عسل به سردهخانه با دمای 4 ± 2 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 70 ± 5 درصد و ۲۴ ساعت تاریکی منتقل شدند. تعداد ۲۰ جفت زنبور (شاهد)، ۱۰، ۵ و ۱۵ روز ذخیره‌سازی شده در سرما جهت انجام آزمایش به ظروف پتروی شش سانتی‌متری محتوی دو عدد لارو سن آخر بید آرد و آب عسل جهت تغذیه حشرات کامل منتقل شدند. سپس ظروف پرورش در اتاقک رشد در دمای 28 ± 1 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت زنبورها به داخل ظروف جدید و با همان شرایط ذکر شده منتقل شدند. این عمل تا پایان عمر زنبورهای نر و ماده ادامه یافت. تعداد تخم‌های گذاشته شده توسط زنبورها به صورت روزانه ثبت شد. جهت تعیین مدت زمان نشوونمای مراحل نابالغ زنبور، تعداد ۱۰۰ تخم به ترتیب در هر یک از دوره‌های ذخیره‌سازی از روی لاروهایی که در اختیار زنبور بودند انتخاب و تا زمان خروج حشرات کامل به صورت روزانه بررسی و نتایج ثبت گردید. برای تشکیل جدول زندگی، محاسبه و تجزیه و تحلیل پارامترهای مربوط به آن از روش (Carry 1993) استفاده شد. عملیات محاسباتی و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد. میانگین‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون (Student-Newman-Keuls) مقایسه گردید.

نتایج و بحث

پارامترهای رشد جمعیت پایدار از قبیل نرخ‌های تولیدمثل، نرخ‌های رشد و مدت زمان رشد در جدول ۱ نشان داده شده است. نرخ ناخالص تولیدمثل (GRR) که نشان‌دهنده تعداد کل ماده‌های تولید شده توسط یک ماده در طول عمر می‌باشد (مجموع m_x) بین دوره‌های مختلف ذخیره‌سازی اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0.01$). در واقع با افزایش طول دوره‌ی ذخیره‌سازی تعداد کل افراد ماده تولید شده توسط پارازیتوئید کاهش می‌یابد و بازوری زنبور به علت صرف انرژی و منابع حشره جهت بقا کاهش می‌یابد. علاوه بر این گرسنگی و کمبود آب باعث کاهش طول عمر پارازیتوئید می‌شود. متابولیت‌های سمعی تولید شده در شرایط ذخیره‌سازی در سرما نیز باعث مرگ و میر می‌گردد.

مقادیر مربوط به پارامتر نرخ خالص تولیدمثل (R_0) به خاطر دخالت دادن نرخ بقا (λ) تفاوت زیادی با مقادیر نرخ‌های ناخالص تولیدمثل داشتند. با توجه به این‌که با افزایش سن موجود نرخ بقای آن کاهش می‌یابد، بنابراین نرخ خالص تولیدمثل همیشه کوچک‌تر از نرخ ناخالص تولیدمثل می‌باشد. پارامتر R_0 در روزهای ۱۰ و ۱۵ روز به دلیل نزدیک بودن مقادیر نرخ بقا در این دو دوره تفاوت معنی‌داری نداشت. با توجه به مقدار نرخ خالص تولیدمثل تا زمانی که پارازیتوئید در معرض سرما قرار نگرفته است (تیمار شاهد) جمعیت پارازیتوئید حدود ۸۰ برابر از یک نسل به نسل دیگر افزایش می‌یابد. افزایش جمعیت پارازیتوئیدها در زمان ذخیره‌سازی در سرما به شدت کاهش یافته و بعد از ۱۵ روز ذخیره‌سازی حدود ۲۳ برابر از یک نسل به نسل دیگر می‌گردد.

نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m) مهم‌ترین پارامتر برای تعیین نوع و میزان رشد جمعیت‌ها می‌باشد، که می‌تواند بیانگر رشد مثبت، منفی یا ثابت جمعیت باشد. این پارامتر یکی از معیارهای اصلی در تعیین کارایی پارازیتوئیدها محسوب می‌شود

که اگر برابر یا بیشتر از نرخ ذاتی رشد میزان باشد، آن پارازیتوئید به عنوان یک عامل کترلی موفق ارزیابی می‌شود (Roy *et al.*, 2003). مقدار این پارامتر در طول دوره‌های مختلف ذخیره‌سازی در سرما تفاوت معنی‌داری نشان نداد اما اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت ($P < 0.01$).

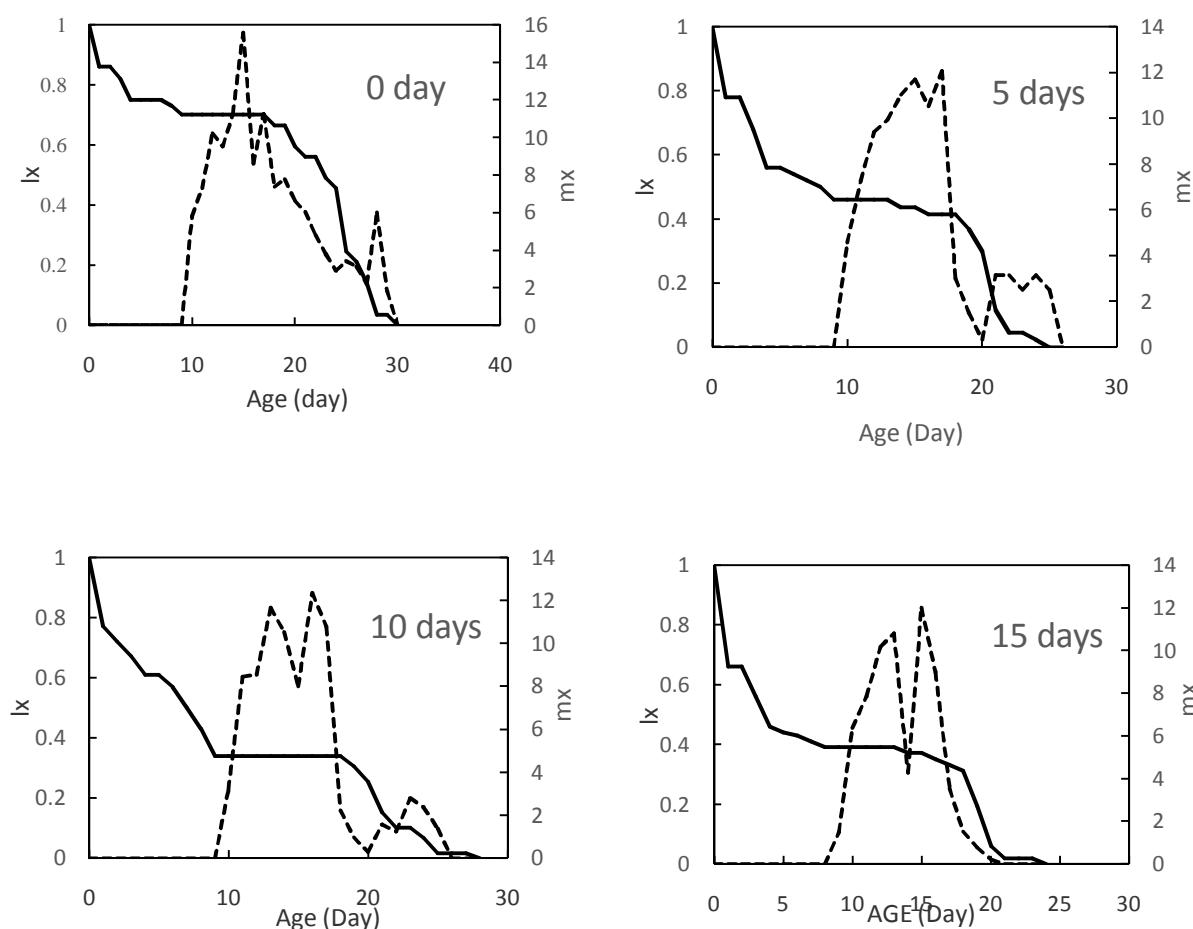
شکل ۱ نشان دهنده تغییرات m_x و l_x در هر یک از دوره‌های ذخیره‌سازی می‌باشد. در دوره‌های ذخیره‌سازی بیشترین کاهش بقا در اواخر طول دوره و در شاهد در اوایل دوره بود. بر اساس نتایج Chen *et al.* (2011) ذخیره‌سازی زنبور *H. hebetor* بعد از ۲۰ روز، باعث کاهش طول عمر و باروری می‌گردد و اوج باروری روزانه زنبور در حشرات ذخیره‌سازی شده سه تا ده روز بعد از خروج از ذخیره‌سازی و در زنبورهای شاهد در روز ششم مشاهده شد. در این بررسی نیز اوج تخم‌ریزی در شاهد روز ششم و در سایر تیمارها روز هشتم مشاهده گردید. بیشترین مقدار باروری روزانه در شاهد ۲۰۳ تخم به ازای هر فرد ماده به دست آمد که با تعداد تخم به دست آمده در بررسی Clark (1976) هم خوانی دارد. با توجه به نتایج و مقدار r_m به دست آمده در این بررسی ذخیره‌سازی زنبور *H. hebetor* تا ۱۵ روز در دمای $4 \pm 2^\circ\text{C}$ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 70 ± 5 درصد و ۲۴ ساعت تاریکی تاثیری بر کارایی آن ندارد.

جدول ۱ - پارامترهای رشد جمعیت زنبور *H. hebetor* در دوره‌های مختلف ذخیره سازی در دمای $4 \pm 2^\circ\text{C}$ درجه سلسیوس.

Table 1. Life table parameters (mean \pm SE) of *H. hebetor* at different storage durations in $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

Parameters	Storage Durations (Days)			
	0	5	10	15
Intrinsic rate of increase (r_m) (female/female/day)	0.308 \pm 0.002a	0.265 \pm 0.0003b	0.240 \pm 0.0007b	0.249 \pm 0.0002b
Net reproduction rate (R_0) (females/female)	80.142 \pm 0.12a	36.175 \pm 0.15b	26.93 \pm 0.07c	23.83 \pm 0.07c
Gross reproduction rate (GRR) (females/female)	133.725 \pm 1.14a	95.738 \pm 0.53b	86.29 \pm 1.101c	64.03 \pm 0.80d
Mean generation time (T) (day)	15.84 \pm 0.12a	13.52 \pm 0.005b	13.68 \pm 0.004b	12.70 \pm 0.007b
Doubling time (DT) (day)	2.24 \pm 0.01a	2.61 \pm 0.003b	2.87 \pm 0.002b	2.77 \pm 0.02b
Finite rate of increase (λ) (females/female/day)	1.36 \pm 0.003a	1.30 \pm 0.0004b	1.27 \pm 0.0002b	1.28 \pm 0.0003b

Means followed by the same letters in each row do not differ significantly using SNK test at $P < 0.05$.



شکل ۱- نرخ بقا (l_x) و زادآوری ویژه سنی (m_x) زنبور *H. hebetor* روی لارو *A. kuehniella* در دوره‌های مختلف ذخیره‌سازی در دمای 4 ± 2 درجه سلسیوس.

Fig. 1. Age specific survivorship (l_x) and fecundity (m_x) of *H. hebetor* on *A. kuehniella* at different storage durations in $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

منابع

- Carey, J.R. (1982) Demography and population dynamics of the mediterranean fruit fly. *Ecological modelling* 16, 125-150.
- Carey, J.R. (1993) *Applied demography for biologists with special emphasis on insects*. Oxford University Press, Inc. 205 pp.
- Carillo, M.A., Heimpel, G.E., Moon, R.D., Cannon, C.A & Hutchison, W.D. (2005) Cold hardiness of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of pyralid moths. *Journal of Insect Physiology* 51, 759-768.
- Chen, H., George, P.O., Sheng, & P Zhang, H.(2011) Maternal and progeny quality of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) after cold storage. *Biological Control* 58, 255-261.
- Clark, A.M and Smith, R.E. (1967) Egg production and adult life span in two species of *Bracon* (Hymenoptera: Braconidae). *Annals Entomological Society of America* 60, 903-905.
- Kostal, V & Havelka, J. (2001) Low temperature storage of larvae and synchronisation of adult emergence in the predatory midge *Aphidoletes aphidimyza*. *Cryobiology* 42, 112-120.

- Leopold, R. A.** (1998) Cold storage of insects for integrated pest management. In: Hallman, G.J., Denlinger, D.L. (Eds.), *Temperature Sensitivity in Insects and Application in Integrated Pest Management*. Westview Press, Boulder, pp. 235–267.
- Lo'pez-Arroyo, J. I., Tauber, C. A. & Tauber, M. J.** (2000) Storage of lacewing eggs: post-storage hatching and quality of subsequent larvae and adults. *Biological Control* 18, 165–171.
- Roy, M., Brodeur, J., Cloutier,C.** (2003) Effect of temperature on intrinsic rates of natural increase (r_m) of a coccinellid and its spider mite prey. *Biocontrol* 48, 57-72.
- Van Baaren, J., Outreman, Y & Boivin, G.** (2005) Effect of low temperature exposure on host oviposition behaviour and patch exploitation strategy in an egg parasitoid. *Animal Behaviour* 70, 153–163.
- Van Lenteren, J. & Tommasini, M.** (2002) Mass production, storage, shipment and quality control of natural enemies. In: Albajes, R., Gullino, M. L., van Lenteren, J.C. & Elad, Y. (Eds.) *Mass Production, Storage, Shipment and Quality Control of Natural Enemies, Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*. Springer, Netherlands, pp. 276–294.
- Venkatesan, T., Singh, S. P. & Jalali, S. K.** (2000) Effect of cold storage on cocoons of *Goniozus nephantidis* Muesebeck (Hymenoptera: Bethylidae) stored for varying periods at different temperature regimes. *Journal of Entomological Research* 24, 43–47.