

مقایسه ویژگی‌های زادآوری زنبورهای پرورش آزمایشگاهی و طبیعی *Trichogramma brassicae* Bezd. (Hym., Trichogrammatidae)

محمد رضا عطاران* محمود شجاعی** ابراهیم ابراهیمی***

چکیده

ویژگی‌های زیستی زنبور پارازیتوئید *T. brassicae* Bezd. جمع‌آوری شده از روی میزبان طبیعی *Ostrinia nubilalis* Hubner (WT) با نتاج همین زنبورها در پنجمین نسل پرورش آزمایشگاهی (LR) روی تخم‌های *Sitotroga cerealella* Olivier به عنوان میزبان واسط آزمایشگاهی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. با استفاده از این داده‌ها، پارامترهای جمعیت پایدار محاسبه گردیدند. نتایج نشان داد که اغلب پارامترهای ارزیابی شده در جمعیت زنبورهای WT بالاتر و بهتر از زنبورهای LR بوده و لیکن تنها طول عمر زنبورهای LR (۶/۵۹ روز) به طور معنی‌داری بیشتر از WT (۵/۲۳ روز) بود. نرخ ذاتی رشد جمعیت (rm) در زنبورهای WT و LR به ترتیب ۰/۳۱۵ و ۰/۲۹۸۹ برآورد گردید. میانگین تخم‌ریزی زنبورهای WT، ۷۷/۶۵ و LR، ۶۸/۳۸ عدد و نسبت جنسی زنبورهای WT، ۶۸/۵ و LR، ۶۷/۹ درصد افراد ماده بود که تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. بیشترین میزان تخم‌ریزی زنبورها (WT، ۶۰/۷۴٪ و LR، ۴۹/۶۶٪ از کل تخم‌ریزی) در همان روز اول زندگی اتفاق می‌افتد.

کلمات کلیدی: *Trichogramma brassicae* Bezd.، ویژگی‌های زادآوری

۱- این مقاله بخشی از پایان‌نامه دوره دکتری حشره‌شناسی است که در بخش تحقیقات مبارزه بیولوژیک موسسه تحقیقات آفات

و بیماری‌های گیاهی به انجام رسیده است.

*- دانشجوی دوره دکتری حشره‌شناسی کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران.

** - استاد گروه تخصصی حشره‌شناسی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران

*** - استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی وزارت جهاد کشاورزی

تاریخ دریافت مقاله ۸۰/۱۲/۱۶ تاریخ دریافت نسخه نهایی ۸۲/۷/۱۰

مقدمه

زنبور تریکوگراما اولین بار توسط Westwood در سال ۱۸۸۳ در قالب گونه تیپ *Trichogramma evanescens* Westwood توصیف گردید (Pinto & Staouthamer, 1994). از سال ۱۹۲۶ که Flanders روش تولید انبوه آن را ارائه نمود، کاربرد آن در برنامه‌های مبارزه بیولوژیک مورد توجه قرار گرفته است. به گونه‌ای که در سطحی معادل ۳۲ میلیون هکتار در ۳۰ کشور دنیا و علیه ۲۸ آفت پروانه‌ای استفاده شده است. (Li, 1994; Smith, 1996; Knuston, 1998).

زنبور *T. brassicae* یکی از حدود ۱۴۵ گونه جنس تریکوگراما بوده (Pinto & Staouthamer, 1994) و در بین ۱۰ گونه زنبوری قرار دارد که بیشترین سطح رهاسازی و کاربرد را علیه آفات در محصولات مختلفی نظیر ذرت، برنج و کلم به خود اختصاص داده است (Li, 1994). این گونه در بیشتر نقاط ایران گسترش داشته (ابراهیمی ۱۳۷۸) و در مناطق شمالی کشور از جمعیت بالاتری نسبت به سایر گونه‌ها برخوردار است و به عنوان گونه غالب این مناطق به‌شمار می‌رود (شجاعی ۱۳۶۸، شجاعی و همکاران ۱۳۶۹، ابراهیمی ۱۳۷۸).

در طول ۱۰۰ سال فعالیت جهانی بیش از هزار مقاله علمی روی زنبورهای تریکوگراما کاربرد آن به عنوان عوامل کنترل بیولوژیک منتشر شده است و آن‌را در دنیا به‌عنوان دشمن طبیعی معرفی کرده است که بیشترین پژوهش روی آن صورت گرفته است و بیش از دیگر گونه‌های حشره خوار در کنترل بیولوژیک حشرات مورد استفاده واقع شده است (Kunston, 1998).

زنبورهای تریکوگراما به عنوان پارازیتوئیدهای چندخواره تخم برخی از حشرات، اغلب در برنامه‌های کنترل بیولوژیک آفات روی میزبان‌های جایگزینی که از آفت یا آفات هدف متفاوت می‌باشند، پرورش داده می‌شوند و از آنجایی که گونه یا گونه‌های میزبان به میزان زیادی نرخ‌های رشدی (Developmental Rates)، نرخ‌های بقا (Survival Rates) و ویژگی‌های زادآوری زنبورهای خارج شده را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Lewis et al. 1976; Bigler et al. 1987; Kazmer & Luck 1991; Corrigan & Laing, 1994; Miura & Kobayashi, 1995) نیاز است تا ویژگی‌های زیستی زنبورهای تریکوگراما هم در میزبان‌های هدف و هم در میزبان‌های آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گیرد. یکی از ویژگی‌های مهم عوامل کنترل بیولوژیک، زادآوری آنهاست (Hagvar & Hofswang, 1990). که این ویژگی‌ها با استفاده از داده‌های جداول زیستی قابل مقایسه می‌باشند. (Pratissoli & Parra (2000) در بررسی جداول زیستی زنبور *T. pretiosum* Riely در دماهای مختلف روی دو آفت مهم گوجه فرنگی در نواحی جنوبی و مرکزی آمریکا نشان دادند که نرخ ذاتی رشد جمعیت (rm) برای هر دو میزبان با افزایش دما افزایش می‌یابد. ایشان استفاده از جداول زیستی را در مطالعات بیولوژیک بین و درون گونه‌ای با ارزش دانسته و آن‌را در درک دینامیک جمعیت یک گونه بسیار سودمند می‌دانند. (Nagarakatti & Nagaraja (1978)

ویژگی‌های زادآوری زنبورهای *T. confusum* Vigg. پرورش یافته در شرایط آزمایشگاهی (حدود ۲۰۰ نسل) و جمع آوری شده از روی تخم میزبان طبیعی (*Agrotis convulvuli* (L.)) را روی تخم‌های میزبان آزمایشگاهی *Corcyra cephalonica* Stainton بررسی کردند و نتیجه گیری نمودند که میزان ناباروری زنبورهای ماده در تیپ آزمایشگاهی بسیار بالاتر از تیپ طبیعی بود. همچنین نرخ ذاتی رشد جمعیت در تیپ آزمایشگاهی، ۰/۲۸۲۴ و در تیپ طبیعی ۰/۳۲۶۳ توسط این محققان محاسبه شده است. Xiong-Fei (1986) با استفاده از جداول زیستی خاصی که در آن نرخ بقاء بر حالت‌هایی از فاکتورهای مؤثر بر بقاء نظیر شکار شدن، پارازیت شدن و بیماری تقسیم می‌شد، برای ارزیابی کارایی زنبورهای تریکوگراما و دشمنان طبیعی دیگر استفاده نمود. (Miura & Kobayashi (1995) نیز زنبورهای *T. chilonis* Ishii حاصل از تخم‌های بید آرد و بید کلم (*Plutella xylostella* (L.)) را با استفاده از داده‌های جداول زیستی مقایسه کردند و دریافتند که تمام معیارهای ارزیابی شده در زنبورهای حاصل از بید آرد بیشتر از زنبورهای پرورش یافته روی بید کلم بود. ولیکن این اختلافات اغلب معنی‌دار نبودند.

در بسیاری از موارد، کاربرد زنبور تریکوگراما نتایج متغیری به همراه دارد که این به سبب نبود اطلاعات کافی از محدودیت‌های زنبور تریکوگراما نظیر پتانسیل و ویژگی‌های زادآوری است (Mills & Kuhlmann, 2000). غالباً در شرایط آزمایشگاهی به واسطه محدودیت‌هایی که از نظر شرایط محیط و میزبان نسبت به شرایط طبیعی وجود دارد (Bartlett 1985)، پرورش مکرر روی میزبان‌های آزمایشگاهی و شرایط مصنوعی ایجاد شده برای زنبورهای تریکوگراما، باعث ایجاد تغییراتی در زنبورها شده و نهایتاً به کاهش کارایی زنبورها پس از رهاسازی در مزرعه منجر خواهد شد (Bigler, et al. 1988; Rosh & Hopper, 1995). که ما در این تحقیق قصد داریم تفاوت‌ها و تغییرات ایجاد شده در دو تیپ آزمایشگاهی و طبیعی زنبورهای *T. brassicae* را با هم مقایسه نماییم.

مواد و روشها

در این بررسی زنبورها *T. brassicae* از منطقه شصت کلا گرگان روی تخم‌های *Ostrinia nubilalis* روی گیاه مستک (*Xanthium strumarium* L.) جمع آوری گردیدند. پس از این که زنبورها در شرایط آزمایشگاهی از تخم‌های اوسترینیا خارج شدند تعداد ۲۰ عدد از زنبورهای ماده (با حداکثر ۲۴ ساعت سن) تک تک شده و در داخل لوله‌های آزمایش به ابعاد ۱۰×۱۰۰ میلی‌متر که با شماره مشخص شده بودند، قرار داده شدند. به منظور تک تک نمودن زنبورها داخل تیوب‌ها، ابتدا آنها روی کاغذ سفید با ضربه زدن‌های ملایم قرار می‌گرفتند و قبل از این که فرصت پرواز داشته باشند روی

تک تک آنها تیوب‌هایی از قسمت دهانه قرار داده می‌شد تا زنبورها از دیواره تیوب‌ها بالا بروند. سپس درب این تیوب‌ها با پنبه بسته می‌شد و زیر بینوکولار برای تعیین جنسیت بررسی و زنبورهای ماده برای ادامه آزمایش انتخاب می‌شدند. برای این زنبورها روزانه تعداد حدود ۱۵۰ عدد تخم سیتوتروگا که روی دایره‌ای به قطر نیم سانتی متر چسبانده شده بودند جهت تخم‌ریزی قرار داده می‌شد. روزانه این تخم‌ها تعویض و تخم تازه در اختیار زنبورها قرار می‌گرفت و نسبت به ثبت زنده یا مرده بودن زنبورها اقدام می‌شد. تغذیه زنبورها نیز با استفاده از آب و عسل ۲۰٪ روزانه یا برحسب نیاز انجام می‌شد. بدین صورت که آب و عسل به صورت یک خط باریک توسط یک سوزن ظریف در قسمت دیواره داخلی تیوب‌ها کشیده می‌شد. تخم‌هایی که روزانه از اختیار زنبورها خارج می‌شدند در داخل تیوب‌های جداگانه قرار داده شده و پس از گذشت ۶ روز تخم‌های سیاه شده شمارش و هر تخم پارازیت شده به عنوان یک تخم گذاشته شده توسط زنبورهای ماده تلقی گردیدند. بعد از آن اجازه داده شد تا زنبورها از تخم‌های پارازیت شده خارج شوند. تعداد زنبورهای خارج شده، تعداد افراد نر، ماده و ناهنجار از نظر بال شمارش گردیدند. زنبورهای حاصل از این آزمایش برای مدت ۵ نسل روی تخم‌های سیتوتروگا پرورش داده شده و تعداد ۲۷ زنبور ماده در نسل آزمایشگاهی جدا نموده و تمامی مراحل فوق برای این زنبورها نیز انجام گردید. داده‌های حاصل بر اساس روش (Carey 1993, 2001) به منظور به دست آوردن نرخ ذاتی رشد جمعیت با تشکیل ستون‌های x ، lx و mx با استفاده از نرم افزار Excell مورد محاسبه قرار گرفتند. که در آن x بیانگر سن، lx نسبت افراد زنده مانده تا سن x ، و mx متوسط تعداد نتاج ماده حاصل از تولید مثل ماده ها در سن x می‌باشد. با برقرار نمودن معادله $\sum e^{-rx} l_x m_x = 1$ مقدار r محاسبه گردید و R_0 (نرخ خالص زادآوری)، T (متوسط زمان یک نسل)، DT (متوسط زمان دو برابر شدن جمعیت) و λ (نرخ متناهی افزایش جمعیت) با استفاده از فرمول‌های مربوطه محاسبه گردیدند. مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون t -test و با استفاده از نرم افزار MSTATC ارزیابی شدند.

نتایج و بحث

با محاسبه اجزای جدول زیستی زنبورهای LR و WT مشاهده گردید که اکثر این مقادیر در جمعیت WT بالاتر و بهتر از زنبورهای LR می‌باشد (جدول ۱- علی‌رغم این که طول عمر زنبورهای WT به طور معنی داری کمتر از زنبورهای LR بود ($P < 0.027$ t-test) ولیکن میزان R_0 همچنین متوسط تعداد تخم‌های گذاشته شده توسط هر ماده WT نسبت به LR بیشتر بود ($77/65$ در برابر $68/38$). نسبت ماده‌های حاصل به کل افراد در جمعیت WT بیشتر از جمعیت LR بود ولی این تفاوت معنی دار نبود. منحنی بقای زنبورهای WT و LR نیز به خوبی بیانگر تفاوت در زنده ماندن زنبورهای این دو

جمعیت می‌باشد (نمودار ۱). در این نمودار چنانچه ملاحظه می‌شود شیب هر دو منحنی یکی است و لیکن زنبورهای LR تقریباً یک روز عمر بیشتری نسبت به زنبورهای WT داشتند. افزایش طول عمر زنبورهای آزمایشگاهی در مطالعات (Nagarakatti & Nagaraja 1978) نیز مشاهده می‌شود. با مقایسه منحنی های m_x (نمودار ۲) تفاوت متوسط تعداد نتاج ماده به ازای هر ماده در دو جمعیت مورد بررسی مشخص می‌گردد. و بیانگر برتری جمعیت WT نسبت به LR می‌باشد. این تفاوت می‌تواند به سبب تأثیر نسل نیز باشد ولیکن در این آزمایش هم اثر نسل و هم اثر نوع میزبان به صورت توأم بدون تفکیک از یکدیگر لحاظ شده‌اند.

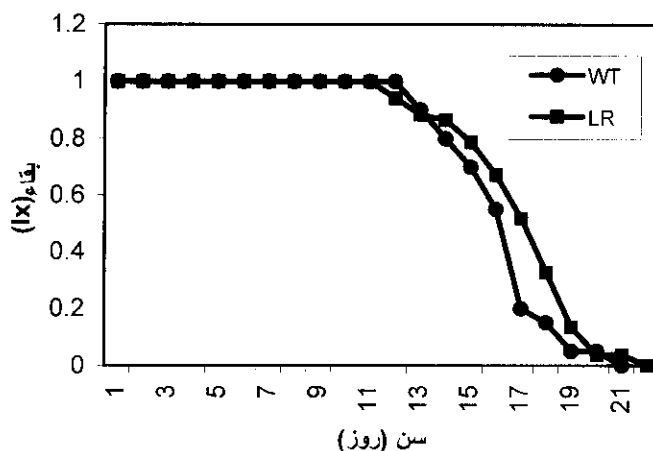
جدول-۱ مقایسه اجزای جدول زیستی جمعیت‌های LR و WT زنبور *T. brassicae*

واحد	LR	WT	پارامتر
ماده به ماده در نسل	۴۲/۳	۴۶/۰۴	$R_0 = \sum l_x m_x$
روز	۱۲/۵۲	۱۲/۱۵	$T = \frac{\ln R_0}{r_m}$
روز	۲/۳۲	۲/۲۰	$DT = \frac{\ln 2}{r_m}$
ماده/ماده/روز	۱/۳۶	۱/۳۸	$\lambda = e^{r_m}$
	۰/۲۹۸۹	۰/۳۱۵	r_m
درصد ماده	۶۷/۹	۶۸/۵	نسبت جنسی (ماده به کل) NS
روز	۶/۵۹	۵/۲۳	طول عمر (ماده)*

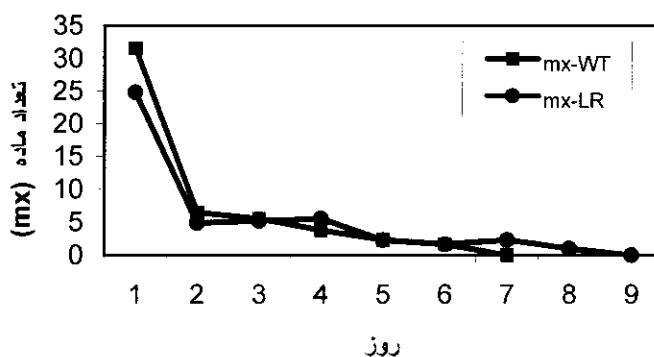
* تفاوت در سطح ۰.۵٪ معنی‌دار است

حداکثر تعداد تخم‌ریزی در زنبورهای WT به میزان ۱۴۲ (با طول عمر ۷ روز) و حداقل آن ۱۹ (با طول عمر ۳ روز) عدد شمارش گردید. این مقادیر برای زنبورهای LR، به ترتیب ۱۲۰ (با طول عمر ۹ روز) و ۶ (با طول عمر ۲ روز) عدد به دست آمد. بیشترین میزان تخم‌ریزی زنبورها در همان روزهای اول زندگی و به‌ویژه در اولین روز پس از خروج اتفاق می‌افتد (نمودار ۳). به گونه‌ای که زنبورهای WT، ۶۰/۷۴٪ و زنبورهای LR، ۴۹/۶۶٪ از کل تخم‌های خود را در همان روز اول گذاشتند. ۸/۸۴٪ کل تخم‌های گذاشته شده در طول عمر، در سه روز اول عمر زنبورهای WT و در چهار روز اول عمر

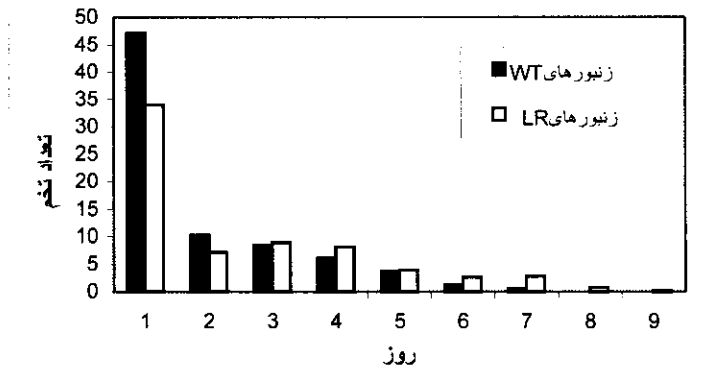
زنبورهای LR گذاشته شده بودند. با توجه به عدم تفاوت بین میزان تخم‌ریزی زنبورهای WT و LR ($P > 0.37$ t-test)، تخم‌ریزی بیشتر در روز اول زنبورهای WT احتمالاً مربوط به طول عمر کمتر آنها باشد. در این حالت زنبورها سعی می‌نمایند در کمترین مدت بیشترین میزان تخم‌ریزی را داشته باشند. با توجه به همبستگی مثبت بین میزان تخم‌ریزی روز اول با تخم‌ریزی کل در هر دو جمعیت، به نظر می‌رسد که بتوان از میزان تخم‌ریزی روز اول برای ارزیابی میزان کل تخم‌ریزی زنبورها استفاده نمود ($Y = 6.946 + 0.518X$ $r = 0.902$ برای زنبورهای WT و $Y = 16.94 + 0.249X$ $r = 0.698$ برای زنبورهای LR).



(LR) و پرورش آزمایشگاهی (WT) نمودار-۱: منحنی بقاء زنبورهای طبیعی



(LR) و پرورش آزمایشگاهی (WT) نمودار-۲: متوسط تعداد نتاج ماده در زنبورهای طبیعی



(LR) و پرورش آزمایشگاهی (WT) نمودار-۳: متوسط تعداد تخم‌ریزی در زنبورهای طبیعی

در مجموع مشاهده می‌شود که اغلب ملاک‌ها و معیارهای مورد بررسی در زنبورهای WT بالاتر از LR باشد. این مسئله تنها در مورد طول عمر زنبورها تفاوت می‌کرد و طول عمر زنبورهای WT بطور معنی داری کمتر از زنبورهای LR بود. مقایسه r_m این دو جمعیت بیانگر بالاتر بودن r_m در زنبورهای جمع‌آوری شده از روی میزبان طبیعی است و این نتیجه با برآوردهای (Nagarakatti & Nagaraja (1978) مطابقت دارد ولی با نتایج (Miura & Kobayashi (1995) متفاوت است. احتمالاً این تفاوت مربوط به اندازه میزبان باشد زیرا در تحقیق این محققان، اندازه تخم‌های بید کلم کوچکتر از تخم بید آرد می‌باشد. از دلایل دیگری که برای کاهش r_m می‌توان بدان توجه نمود تغییر میزبان برای زنبورهاست و البته نسل‌های پرورشی در آزمایشگاه نیز می‌تواند این تغییر را ایجاد نماید که بایستی در مطالعات آتی اثر نسل‌های پرورشی روی زنبورها و خصوصیات آنها بررسی گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی به‌واسطه تأمین امکانات و هزینه‌های این بررسی و کلیه همکاران بخش تحقیقات مبارزه بیولوژیک که امکان انجام این تحقیق را در آنجا فراهم نموده و از کمک‌های عملی و فکری ایشان در کلیه مراحل تحقیق بهره‌مند بودیم صمیمانه سپاسگزاری می‌نماید.

منابع و مأخذ

- ۱- ابراهیمی ا. ۱۳۷۸. مطالعه مرفولوژیک و آنزیماتیک گونه‌های جنس *Trichogramma* Westwood در ایران. رساله دکتری تخصصی حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس. ۱۴۸ ص.
- ۲- شجاعی، م، ۱۳۶۸. حشره‌شناسی، ج ۳. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۰۷ ص.

۳- شجاعی، م، تیرگری، س، آزما، م و نصراللهی، ع. ۱۳۶۹. تحقیقی در فون زنبورهای پارازیتوئید و مفید تریکوگراما در زمینه‌های زیست محیطی و کاربرد آنها در ایران. نشریه سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران. شماره ۱۸. ص ۴۷-۳۳.

- 4- Bartlett, A.C. 1985. Guidelines for genetics diversity in laboratory colony establishment and maintenance. In. Singh, P. and R.F. Moore (eds) Handbook of insect rearing. Elsevier. Pub. pp. 7-18.
- 5- Bigler, F; A. Meyer and S. Bosshart. 1987. Quality assessment in *Trichogramma maidis* reared from eggs of the factitious hosts *Ephestia kuehniella* and *Sitotroga cerealella*. Jour. Appl. Entomol. 104: 340-353.
- 6- Bigler, F; M.Bieri; A.Fritschy and K.Seidel.1988. Variation in locomation between laboratory strains of *Trichogramma maidis* and its impact on parasitism of eggs of *Ostrinia nubilalis* in the field. Entomol. Exp. Appl. 49:283-290.
- 7- Carey, J.R. 1993. Applied demography for biologists, with special emphasis on insects. Oxford University Press 205 pp.
- 8- Corey, J.R. 2001. Insect biodemography Ann. Rev. Entomol. 46: 79-110.
- 9- Corrigan, J.E. and J.E. Laing. 1994. Effects of the rearing host species and the host species attacked on performance by *Trichogramma minueum* Riley (Hym. Trichogrammatidae). Envir. Entomol. 23(3) 755-760.
- 10- Hagvar, E.B. and T. Hofsvang. 1990. Fecundity and intrinsic rate of incese of the aphid parasitoid *Ephedrus cerasicola* (Hym. Aphelinidae) Jour. Appl. Entomol. 109: 262-67
- 11- Kazmer, D.J. and R.F. Luck.1991. Female body size, fitness and biological control quality: field experiments with *Trichogramma pretiosum*..INRA Les Colloques No:56, 37-40.
- 12- Knuston, A. 1998. The Trichogramma manual. Texas Agricultural Extension Service (on line) Available on WWW.entowww.tamu.edu/extension/bulletins/b-6071.html.
- 13- Lewis, W.J.; D.A. Nordlund; H.R.Gross Jr., W.D. Perkins; E.F. Knipling and J. Voegelé. 1976. Production and performance of Trichogramma reared on eggs of *Heliothis zea* and other hosts. Environ. Entomol. 5: 449-452.
- 14- Li, L.Y. 1994. World wide use of Trichogramma for biological control on different crops: A survey In E. Wajnberg, and S.A. Hassan, (eds). Biological control with egg parasitoids CAB International. pp. 37-53.

- 15- Mills, N.J. and U. Kuhlmann. 2000. The relationship between egg load and fecundity among *Trichogramma* parasitoids. *Ecol. Entomol.* 25: 315-324.
- 16- Miura, K. and M. Kobayashi. 1995. Reproductive properties of *Trichogramma chilonis* females on Diamondback moth eggs. *Appl. Entomol. Zool.* 30(3) 393-400.
- 17- Nagarakattis, S. and H. Nagaraja. 1978. Experimental comparison of laboratory reared vs wild type *Trichogramma confusum* (Hym. Trichogrammatidae). L. Fertility, fecundity and longevity. *Entomophaga.* 23(2) 129-136.
- 18- Pinto, J. D. and R. Staouthamer. 1994. Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*. In E. Wajnberg, and S.A. Hassan, (eds). *Biological control with egg parasitoids* CAB International. pp. 1-36.
- 19- Pratissoli, D. and J.R.P. Parra, 2000. Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* (Hym., Trichogrammatidae) in eggs of *Tutta absoluta* and *Phtorimea operculella* (Lep., Gelechiidae) at different temperatures. *Jour. Appl. Entomol.* 124 339-342.
- 20- Rosh, R.T. and K.R. Hopper. 1995. Use of single family lines to preserve genetic variation in laboratory colonies. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 88: 713-7.
- 21- Smith, S.M. 1996. Biological control with *Trichogramma*: Advances, successes, and potential of their use. *Ann.Rev. Entomol.* 41: 375-406.
- 22- Xiong-Fei, P. 1986. Evolution of the effectiveness of *Trichogramma* and other natural enemies. *Les Colloques de INRA* No. 43, 442-449.