

بیولوژی باکتری *Wolbachia* و نقش آن در کنترل بیولوژیک

راحیل اسدی^۱

چکیده

Wolbachia یک گروه معمول و گسترده از باکتری ها است که در بافت های تولید مثلی بسیاری از بندپایان دیده می شود (Werren, 1997). این باکتری اولین بار در سال 1924 بوسیله Herting and wolbach از *Culex pipiens* جداسازی و شناسایی شد (Herting and wolbach, 1924). این ریکتسیاها بعداً بنام *Wolbachia pipientis* نامگذاری شدند (Herting, 1936). آنالیز ژنوم این همزیست در مقایسه پلی ژنومیک با سایر باکتریهای درون سلولی، چشم انداز بسیار قابل توجهی راجع به بیولوژی متفاوت آن و کاربرد آن در کنترل بیولوژیک ایجاد کرد. *Wolbachia* یک باکتری درون سلولی گرم منفی است که در ارتباط آن با گونه های وسیعی از بی مهرگان شامل حشرات، کنه ها عنکبوتها، سخت پوستان خشکی زی و نماتدها شناسایی شده است. این باکتری از طریق اوواریول های مادری به نتاج منتقل می شود و با سرعت زیادی در جمعیت گسترش می یابد. حدود 20-75 درصد گونه های بی مهرگان به این باکتری آلوده هستند (Anonymous, 2004).

این باکتری بوسیله سیتوپلاسم تخم منتقل شده و منجر به تغییرات تولید مثلی شامل القای ناسازگاری سیتوپلاسمی (CI) بین استرین ها و گونه های وابسته، بکرزایی و تغییر نسبت جنسی به نفع نتاج ماده می شود (Pintureau et al., 2000). تحقیقات نشان داده که این باکتری در بیش از 16 تا 20 درصد گونه های حشرات وجود دارد (Werren, 1997). بطور کلی محققین اهمیت *Wolbachia* را در مطالعات به صورت زیر بیان کرده اند:

¹ - عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت

1) مراحل تکامل *Wolbachia* و همچنین پتانسیل آن در تخصصی شدن سریع روی میزبان، پراکندگی بسیار زیاد و اثرات متفاوت روی میزبان (Coyne, 1992).

2) مکانیسم عمل: این باکتری های درون سلولی منجر به رشد و نمو زود هنگام و تغییراتی در مراحل تقسیم میتوز میزبان می شوند (Werren, 1997).

3) تمایل زیاد به کاربرد *Wolbachia* در کنترل بیولوژیک به عنوان یک عضو جدید از دشمنان طبیعی مورد استفاده در کنترل بیولوژیک میکروبی (Stonthamer and kazmer, 1994; (Pintureau et al., 2002) و یا به عنوان یک ناقل برای ایجاد تغییرات ژنتیکی مورد نظر در جمعیت های حشرات (Beard and ONeil, 1993).

بطور کلی انتقال معمول و رایج در *Wolbachia* عمودی است (vertical transmission)، یعنی از مادر به نتاج بوسیله تخم (Stonthamer and kazmery, 1994)، اما شواهدی در مورد انتقال افقی بین افراد، که ممکن است بین افراد یک گونه یا چند گونه باشد، گزارش شده است (Huigens et al., 2000; Schilthuzen and stouthamer, 1997).

با توجه به اینکه تعدادی از استرین های این باکتری نقش مهمی در القاء پارتنوژنز دارند، شناخت این باکتری های همزیست و مطالعات گسترده تر درباره نقش آنها در طبیعت، تنوع زیستی، مساله هم تکاملی (co-evolution) و اثرات آنها روی بیولوژی پارازیتوئیدها و شکارگران، به محققین این فرصت را خواهد داد که این همزیست درون سلولی را در جهت منافع برنامه های کنترل بیولوژیک مدیریت نمایند (Pintureau et al., 2002).

1-1- مقدمه

Wolbachia یک باکتری درون سلولی گرم منفی است. ارتباط این باکتری با گونه های وسیعی از بی مهرگان شامل حشرات کنه ها، عنکبوتها، سخت پوستان خشکی زی و نماتدها اثبات شده

است (Anonymous, 2004; Pintereu *et al.*, 2002). در واقع *Wolbachia*، یک باکتری همزیست بندپایان مختلف است که اثرات مختلفی روی سیستم تولید مثل میزبان ایجاد می‌کند. از آنجایی که یکی از عمده‌ترین جنبه‌های جالب عوامل تعیین جنسیت در بسیاری از گروه‌های زنبورهای پارازیتوئید نقش میکروارگانیسم‌های داخلی است که در بسیاری موارد نسبت جنسی را تغییر می‌دهند.

کشف این مساله به سالها پیش بر می‌گردد، وقتی که پس از رهاسازی ماده‌های بعضی از استرین‌های تلی توکوس زنبورهای بالا خانواده Chalcidoidea مثل *Encarsia*، *Oenocyrtus*، *Muscidifurax* و *Trichogramma* در دماهای بالا حشرات نر تولید شدند (Flanders, 1942; Wilson and Woolcock, 1960). تأثیر مشابهی نیز بوسیله تغذیه زنبورهای ماده تلی توکوس با آنتی بیوتیک‌هایی چون تتراسایکلین، منجر به تولید نتاج نر می‌شود (Chori-fein *et al.*, 1992; Stouthamer, 1991).

این نوع اثرات درمانی که بصورت دائمی یا کوتاه مدت بودند، احتمال این مساله که به وجود یک نوع میکروارگانیسم منتهی می‌شد را قوی‌تر کرد. پس مطالعات گسترده سلولی روی حشرات بالغ و تخمهای آنها صورت گرفت.

مطالعات ژنتیکی مولکولی ژن SrDNA 16 (Stouthamer, 1991) و ژن سیکل سلولی (Cell-cycle) باکتری، *ftsZ* (Werren *et al.*, 1997) نشان داد که یک نوع میکروارگانیسم مسول همسانی‌والدی (uniparentality) در *Trichogramma* و *muscidifurax uniraptor* است. همچنین به نظر می‌رسید که این همزیست رابط نزدیکی با ارگانیسم‌های مسول ناسازگاری سیتوپلاسمی (Cytoplasmic incompatibility) در گروه کثیری از بی‌مهرگان و همچنین Feminization در سخت پوستان داشته است (Werren *et al.*, 1997).

و لباکیا یک پروتوباکتری آلفا (α - protobacterium) همزیست سیتوپلاسمی خیلی معمول در حشرات، سخت پوستان، کنه‌ها (mites) و بسیاری از نماتدها است (Taylor and Hoesauf, 1999).

Wolbachia pipientis بخاطر تغییراتی که در سیستم تولید مثل میزبان ایجاد می‌کند، بسیاری مورد توجه قرار گرفته است. این باکتری اعضای مختلفی از میزبان خود را آلوده می‌کند ولی مهمترین اعضا تخمدان و بیضه می‌باشد، بطور کلی 4 چهار جنبه از عملکرد این همزیست که مطالعاتی در دههٔ اخیر راجع به آنها صورت گرفته عبارتند از مرگ حشرات نر (نرهای آلوده)، Feminization (نمو نرهای آلوده مثل ماده‌ها)، پارتنوژنز (تولید مثل ماده‌های آلوده بدون نر) و ناسازگاری سیتوپلاسمی (عدم توانایی نرهای آلوده برای تولید مثل با ماده‌های غیر آلوده یا ماده‌های آلوده با استرین دیگری از ولباکیا) (Hurst et al., 2000). تمایلات زیادی به کاربرد ولباکیا در روشهای کنترل بیولوژیک وجود دارد (Pintereu et al., 2002).

با توجه به اینکه سیستم ژنتیکی زنبورها هاپلودیپلوئیدی است یعنی تخمهای لقاح یافته (دیپلوئید) به نتاج ماده و تخمهای لقاح نتاج ماده و تخمهای لقاح نیافته (هاپلوئید) نتاج نر تولید می‌کنند (Quick, 1997).

تعدادی از استرینهای این باکتری نقش مهمی در القاء پارتنوژنز (تلی توکوس) دارند، شناخت این باکتریهای همزیست و مطالعات گسترده‌تر درباره نقش آنها در طبیعت، تنوع زیستی، مساله هم تکاملی و اثرات آنها روی بیولوژی پارازیتوئیدها و شکارگران، به محققین این فرصت را خواهد داد که این همزیست درون سلولی را در جهت منافع برنامه‌های کنترل بیولوژیک مدیریت نمایند.

Wolbachia-1-2

این باکتری اولین بار در سال 1924 بوسیله Hertig and wolbach از *Culex pipiens* جداسازی و تحت شناسایی قرار گرفت. (Hertig and wolbach, 1924) و این ریکتسیاها بعداً بنام *wolbachia pipientis* نامگذاری شدند (Hertig, 1936).

آنالیز ژنوم این همزیست در مقایسه‌های پلی ژنومیک با سایر باکتریهای درون سلولی، چشم انداز بسیاری راجع بیولوژی و تکامل آن داده است. *wolbachia* یک باکتری درون سلولی گرم منفی است که در رابطه با گونه‌های وسیعی از بی‌مهرگان شامل حشرات، کنه‌ها عنکبوتها، سخت پوستان خشکی زی و نماتدها شناسایی شده است. این باکتری از طریق اوواریولهای مادری به نتاج منتقل می‌شود و با سرعت زیادی در یک جمعیت گسترش می‌یابد بطوریکه 75-20 درصد گونه‌های بی‌مهرگان به این باکتری آلوده هستند (Anonymous, 2004).

مهمترین نقش این باکتری در ارتباط با میزبان، اثرات مختلف آن روی سیستم تولید مثلی میزبان می‌باشد. که در حشرات مختلفی مورد مطالعه قرار گرفته است. در دهه 1950 Ghelelovitch و Laven, 1959 یک نوع ناسازگاری سیتوپلاسمی را در جفت‌گیری درون گونه‌ای پشه‌های *Culex* بیان کردند که آنها نتاج کم و یا هیچ نتاجی تولید نکردند، Laven, 1967 بیان کرد که فاکتور ناسازگاری دارای یک الگوی توارثی سیتوپلاسمی است (توارث بوسیله ماده‌ها نه نرها) و این پدیده را ناسازگاری سیتوپلاسمی نامید (cytoplasmic incompatibility). همچنین نقش این باکتری‌ها در القای پارتنوژنز در بسیاری زنبورهای پرازیتوئید و Feminization ژنتیکی در Isopods بسیار قابل توجه می‌باشد (Pintureau et al., 2000; Stouthamer et al., 1993).

2-2- مطالعات فیلوژنی *Wolbachia*

روابط فیلوژنیک *CI wolbachia* موجود در بافتهای تولید مثلی حشرات میزبان، تا اوایل دهه 1990 ناشناخته بود میکروارگانیزمهای تعیین کننده نسبت جنسی مثل پروتوزوا که باعث مرگ نتاج نر در پشه‌ها و پدیده فمینیسم در amphipods می‌شدند و سایر باکتریهای توارثی مادری که باعث مرگ نرها می‌شدند شامل اسپیروپلاسما (spiroplasms) در مگس‌های میوه، اینتروباکتری (entrobacteria) در زنبورها و ریکتسیا (Rickettsiae) در کفشدوزک‌ها هستند. دو یافته اساسی که مخصوصاً مربوط به ولباکیا است: اول، Legrund و همکاران دریافتند که فاکتورهای توارثی سیتوپلاسمی منجر به نوعی فمینیزشین در Isopoda می‌شود و دوم اینکه: Stouthamer و همکاران (1990) کشف کردند که پارتنوژنز ماده‌ها در بعضی زنبورهای *Trichogramma* با کاربرد آنتی بیوتیک‌ها متوقف شده و نتاج نر تولید می‌شود (Pintureau et al., 2002).

استرین‌های ولباکیای PI در هر دوزیر تقسیم A و B یافته شده‌اند و شواهد فیلوژنیک بیان کرده که PI کاملاً غیر وابسته به این باکتری‌ها بوده است.

یک هماهنگی بین *ftsZ* 16srDNA در طبقه‌بندی (تنظیم) استرین‌های ولباکیا به دو گروه A و B به چشم می‌خورد گروه‌بندی ارتباط ژنتیکی بین استرینها یک مساله مهم است، چون یک فرصت برای هزاران آلودگی به ولباکیا در گونه‌های مختلف میزبان است (Pintureau and Bolland, 2001). ولی یک سؤال که ذهن محققین را هنوز مشغول کرده این است که آیا استرین

های ولباکیا پیدا شده در میزبانهای متفاوت، گونه‌های مختلفی هستند؟

البته کاربرد عنوان گونه‌های بیولوژیک در مفهوم باکتری مشکل است، مخصوصاً اگر آنها بطور معمول تحت ارتباط ژنتیکی نباشند.

اطلاعات راجع به ساختار ژنتیکی ولباکیا بسیاری ابتدایی بوده است. بررسی‌های ژنتیکی مولکولی در *Drosophila spp* بطور اتفاقی دو ژن *ftsZ* و *DNA A* را در ولباکیا را نشان داد. بعلاوه توالی‌های تا حدودی کامل *16Sr DNA* و *23 SrDNA* تعیین شده است. ولی برخلاف اغلب باکتریها *16srDNA* و *23 SrDNA* به نظر نمی‌رسد که در یک مکان قرار گرفته باشند (Pintereu *et al.*, 2002).

مطالعات گسترده روی *16sr DNA* ، *23SrDNA* و ژن‌های *coding-Protein* نشان داده است که باکتری *PI, CI* و باکتری عامل فمینسیم در *Isopod* از یک گروه باکتریایی مونوفایلیتیک *wolbachia* بوده‌اند (Breeuwer *et al.*, 1992; Rousset *et al.*, 1992). تحقیقات روی ولباکیا بصورت در اماتیک در سال‌های اخیر افزایش یافته است. بعضی از ریکتسیاها را نمی‌توان خارج از محیط سلول میزبان کشت داد (Breeuwer *et al.*, 1992; Stouthamer *et al.*, 1993) ولی مطالعات مولکولی خصوصاً *PCR* و کاربرد توالی‌های *16SrDNA* فیلوژنی بررسی و شناخت این دسته از باکتریها را راحت کرده است.

مطالعات فیلوژنتیک با کاربرد *16srDNA* ثابت کرد که ولباکیا بصورت مونوفایلیتیک به سایر ریکتسیا نزدیک است. همچنین استرین‌های *PI, CI* و *Fem* ولباکیا از میزبانهای مختلف، تشکیل یک گروه مونوفایلیتیک نزدیک به ریکتسیای دیگری می‌دهد. بعلاوه واگرایی پایین توالی *16srDNA* (حدود 1-2 درصد) بین استرینهای ولباکیا موجود در بندپایان نزدیک نشان داده که این باکتریها تحت انتقال افقی بین تاسونهای بندپایان هستند (Pintereu *et al.*, 2002).

تجزیه‌های *Finer-scale* با کاربرد آشکارسازی سریع *bacterial cell- cycl genes (FtsZ)* اخیراً انجام گرفته توالی *fts2* برای 38 استرین مختلف ولباکیا از 33 گونه میزبان تعیین شده

است (Pintereu *et al.*, 2002) این مطالعات تفاوت قابل توجهی را بین استرین های ولباکیا آشکار می کند.

2-3- گسترش *Wolbachia*

ولباکیا دارای گسترش و فراوانی زیادی در طبیعت است بطوریکه در بیش از 80 گونه حشره (Werren and Windsor, 1995)، 17 گونه ایزوپودا (Rousset *et al.*, 1992) و در یک گونه کنه گزارش شده است (Werren, 1997). تعدادی از گونه های شناخته شده آلوده سریعاً در جوامع گسترش یافته اند ولی محدودیتهای توزیع یا گسترش این باکتریها شناخته نشده است (Werren, 1997).

مطالعات سیستماتیک گسترش و تنوع ولباکیا با استفاده از متدولوژی PCR امکان پذیر شده است (Werren and Windsor, 1995). مطالعه بر روی *ftsZ* و *16srDNA* ابزارهای مفیدی را در این بررسی ها تأمین می کنند که این ها در واقع پرایمرهای عمومی- تخصصی و ولباکیا هستند (Werren *et al.*, 1995) و ولباکیای A و B پرایمرهای تخصصی برای ژنهای *fts2* و *16srDNA* می باشند (Werren, 1997).

مطالعات دهه اخیر روی حشرات *neotropical* نشان داده که استرینهای ولباکیا در بیش از 16 درصد گونه های حشرات وجود داشته است. این مطالعه با ردیابی آلودگی در راسته های بال غشائیان، بال پولکداران و راست بالان صورت گرفت.

مطالعات روی حشرات *neotemperate* نیز درصد مشابهی را از آلودگی گونه های حشرات ارائه داد (Werren and Windsor, 1995). ولباکیا می تواند محیط های سلولی میزبان های مختلف را تحمل کند. این مساله براساس مطالعات مختلف انجام شده در رابطه با تزریق باکتری از گونه های آلوده به میزبان های جدید است (Boyle *et al.*, 1993; Werren, 1997) مثلاً انتقال CI B-

Wolbachia از *Aedes albopictus* به *D. Simulans* (Braige et al., 1994). دامنه میزبانی ممکن است بین استرین های باکتری متفاوت باشد ولی یک پیش گویی مدلل ایت است که استرین ولباکیا که درون یک میزبان هم تکاملی می یابد، پتانسیل آن برای انتقال افقی پایین است.

2-4- انتقال *Wolbachia*

2-4-1- انتقال عمودی **vertical transmission**

انتقال معمول و رایج در ولباکیا عمودی است، یعنی از مادر به نتاج بوسیله تخم (Stouthamer and kazmer, 1994)

2-4-2- انتقال افقی **Horizontal transmission**

انتقال افقی گاهی بین افراد، که ممکن است بین افراد یک گونه یا چند گونه باشد، اتفاق می افتد که شواهدی از آن گزارش شده است (Huigens et ; Schilthuzen and stouthamer, 1997) *al.*, 2000

مطالعات فیلوژنیکی مولکولی انجام شده با ایزوله های *Wolbachia* از بندپایان مختلف نشان داده که *congruence* خیلی کمی با فیلوژنی میزبان هایشان داشته اند و بیان شده که از انتقال افقی فراوانی و همیشگی بین گونه ها وجود داشته است (O Neil et al, 1992; Werren et *al.*, 1995)

انتقال فیلوژنی *ftsZ* انتقال افقی (بین تاکسون) *Wolbachia* را نشان می دهد. استرین *Adm* بطور خاصی انتقال افقی وسیعی را نشان می دهد (Werren, 1997). ایزوله های مختلف *Adm* که همانند (یکسان) هستند یا اخیراً در توالی ژنی *ftsZ* یکسان شده اند، از راسته های مختلفی از حشرات شامل سخت بالپوشان، دوبالان، بالا غشائیان و بالپولکداران پیدا شده اند (Werren, 1997).

انتقال افقی همچنین در *B- Wolbachia* ردیابی شده است، در جائیکه زنبور پارازیتوئید *Nasonia giraulti* و میزبانش *protocalliphora* هر دو پناهگاه (میزبان) خوبی برای استرینهای ولباکیا بودند که از نظر فیلوژنتیکی به هم وابسته و نزدیک بودند (Werren et al., 1995). این یافته، انتقال بین تاکسون (بین پارازیتوئید و میزبان) را بعنوان یک احتمال مکانیسم تبدیلی مطرح می‌کند.

مکانیسمی که انتقال افقی را بطور قطع توجیه می‌کند، ناشناخته است، ولی دو نظریه پیشنهادی عبارت است از :

نظریه اول: احتمال اینکه شکارگری یا تماس بعد از ایجاد زخم در انتقال افقی نقش داشته باشد. Rigaud and Juchault در سال 1995 نشان دادند که ایزوپودا می‌توانند آلوده شوند بوسیله ولباکیا پس از ایجاد زخم و تماس با خون.

این انتقال فقط بین افراد هم گونه یا اعضای گونه‌های بسیار نزدیک یک وابسته مدلل شده است، اما انتقال بین افراد جدا از هم شاید بسیار کم و نادر باشد. در ردیابی بوسیله آشکارساز نقش کنه‌های شکاری لارو دراز و فیلا نشان دهنده ناقل بودن این کنه‌ها برای *Wolbachia transposon* بوده است. بهر حال نقش شکارگران در انتقال افقی ولباکیا نیاز به تحقیقات گسترده و اثبات در طبیعت دارد.

نظریه دوم: در مورد نقش پارازیتوئیدها در انتقال افقی (Werren et al., 1995) می‌باشد. با توجه به اینکه پارازیتوئیدها حشراتی هستند که لاروشان رشد و نمو می‌یابند با تغذیه از بدن میزبان و بیشتر پارازیتوئیدها به یکسری از میزبان های وابسته از نظر تاکسونومیکی یا اکولوژیکی حمله می‌کنند (Stouthamer, 1997). در بسیاری گونه‌های پارازیتوئید تخم ها بوسیله افراد ماده با کاربرد تخم ریز مخصوص به درون بدن میزبان تزریق شده و لارو درون بدن میزبان (اندوپارازیت)

رشد و نمو می کند. این رابطه نزدیک رشد و نمو پارازیتوئید با بافت های میزبان، انتقال *Wolbachia* را از پارازیتوئید به میزبان یا از میزبان به پارازیتوئید را راحت تر می کند. اثبات این فرضیه در مورد نقش پارازیتوئید در یک بررسی روشن شده است. ولباکیای استخراج شده از مگس *Proticalliphora* sp. و زنبور پارازیتوئید آن *Nasonia giraulti* از نظر فیلوژنتیکی بسیار نزدیک به هم بودند و توالی ژنی کاملاً نزدیک داشتند (Werren *et al.*, 1995).

2-5- مکانیسم عمل

سه سیستم اصلی در سیستمهای ژنتیک حشرات وجود دارد: نرهای دیپلوئید (diplodiploidy)، نرهای هاپلوئید (Haplodiploidy) و بدون تولید نر (Tritytokus). سیستمهای مخلوط شامل Facultative switching بین تلی توکی و هر کدام از سایر سیستم ها می تواند اتفاق بیافتند. تلی توکی اجباری (obligate) از هر کدام از سیستم ها می تواند ناشی شده باشد (Normak, 2002).

باکتری های جنس *wolbachia* ریکتسیای سیتوپلاسمی به ارث رسیده از طریق سیتوپلاسم می بانند که در بافتهای تولید مثلی (تخمدان و بیضه) رنج وسیعی از بندپایان پیدا شده است (Quicke, 1997).

این باکتری ها منجر به اثراتی در بدن میزبان می شوند که شامل: ناسازگاری سیتوپلاسمی (CI) بین استرین ها و گونه های وابسته، القا پارتنوژنز (PI) و فمینیسم (Feminization) ژنتیکی نرها می باشد (Pintereu *et al.*, 2002). این تغییرات تولید مثلی یک سود نسبی انتخابی برای باکتری به شمار می رود.

2-5-1- ناسازگاری سیتوپلاسمی *Cytoplasmic Incompatibility*

در بسیاری حشرات و حداقل بعضی بندپایان، بعضی میکروارگانسیم‌ها عامل ایجاد استرین های ناسازگاری سیتوپلاسمی هستند (Rousset *et al.*, 1992). در این حالت وقتی تلقیح بین افرادی که استرین های متفاوتی از ارگانسیم ناسازگار را حمل می کنند، تخم تلقیح می شود اما ترکیب (Syngamy) هسته پدري و مادري صورت می گیرد و در نهایت منجر به تشکیل جنین هاپلوئید می شود (Quike, 1997). در بسیاری حشرات این جنین های هاپلوئید از بین می روند، اما در گونه های ذاتاً هاپلوئید آنها بطور موفقیت آمیز به حشره نر تبدیل می شود (Breeuwer and werren, 1990). در بال غشائیان پارازیتوئید عوامل ایجاد CI مخصوصاً روی ناسازگار *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) مطالعه شده است. وقتی که یک حشره ماده با یک نر ناسازگار (incompatible) جفت گیری می کند، اسپرم وارد تخم می شود ولی هسته اسپرم تجزیه (فاسد) شده به یک توده ای از کروماتین می شود که در نهایت موفق به ترکیب با هسته تخم نمی شود (Pintereu *et al.*, 2002) بازگشت چنین ناسازگاری ها، با حذف یک نوع باکتری همزیست داخلی از زنبور فوق بدست آمد. در *Nasonia* ارگانسیم ناسازگار سیتوپلاسمی بوسیله آنالیز توالی ژنی 16srDNA بدست آمد که متعلق به جنس *wolbachia* از α - Protopacteria است (Breeuwer *et al.*, 1992).

به منظور ایجاد سازگاری در یک لقاح، هر دو زنبور (نر و ماده) بایستی استرین مشابهی از *Wolbachia* را حمل کنند یا اینکه زنبور نر عاری از آلودگی به *Wolbachia* باشد. CI یک نوع ناسازگاری تولید مثل است که بین اسپرم و تخم ایجاد می شود که نتیجه آن مرگ زیگوت در گونه های دیپلوئید (Yen and Barr, 1971) یا تولید نر در گونه های هاپلوئید (Breeuwer and Werren, 1990) است. بطور کلی CI به دو شکل اصلی صورت می گیرد:

1) CI یک جهت: وقتی اسپرم از یک *Wolbachia* آلوده با تخم سالم لقاح پیدا می‌کند، (در صورتیکه حالت عکس این قضیه (Reciprocal) آن کاملاً سازگار است)

2) CI دو جهت (دوسویه): وقتی یک حشره نر و ماده حامل استرینهای مختلف ولباکیا جفت‌گیری کنند که متقابلاً ناسازگارند (Perrot-Minot, 1966) با اینکه مکانیسم دقیق CI مشخص نیست ولی دو سیستم ارائه شده است: اول تغییرات در اسپرم و یک "rescue" باکتریایی در تخم بارور شده مطابق این مدل، باکتری موجود در بیضه‌ها، اسپرم در حال رشد را تغییر شکل می‌دهد (احتمالاً در پروتئین‌های باند شده به کروماتین) و استرین باکتریایی مشابهی در تخم برای رهایی از این تغییر موجود است. اگر رهایی حاصل نشود، در نتیجه ناسازگاری بین تخم و اسپرم ایجاد می‌شود.

این مدل سازگار (همسان) است با ناسازگاری یک سویه که اسپرم تغییر شکل یافته از نرهای آلوده بوسیله تخم‌های سالم‌رهایی نیافت و ناسازگاری دو سویه شامل استرین‌های مختلف باکتری است که سیستم‌های رهایی را اصلاح می‌کنند. دو مدل عمومی بیوشیمیایی مطرح شده در این زمینه عبارتند از

1) ولباکیا در نرها با تولید ماده‌ای شکست مراحل اسپرم در تخم سالم می‌شود.
2) باکتری در نرها بعنوان یک sink عمل می‌کند برای bind-away یک محصول لازم برای طی پروسه اسپرم در تخم.

مکانیسم‌های دقیق بیوشیمیایی CI هنوز ناشناخته است. و زمینه تحقیق بسیاری را ایجاد می‌کند مکانیسم‌های سیتوژنتیک CI در *C. pipiens*، *D. simulans* و *N. vitripennis* مطالعه شده است. در تمامی موارد CI در رابطه با یک اختلال در تقسیم اول میتوز در تخم لقاح یافته است. در زنبورهای *N. vitripennis* با کاربرد روابط ژنتیکی و آنالیزهای تقسیم میتوز جدا

نمی‌شوند و عموماً تقسیمات بعدی هم صورت نمی‌گیرد. در گونه‌های دیپلوئید مثل *D. simulans* میتوز اول غیر نرمال است ولی اختلال در مرحله تشکیل جنین ایجاد می‌شود (Werren, 1997). بررسی‌ها نشان داده که استرین باکتری، تراکم باکتری و ژنوتیپ میزبان روی بیان CI تأثیر می‌گذارند. این فاکتورها در ترکیب با هم منجر به تأثیر قوی در جهت ایجاد CI موثرند.

2-5-2-2- القاء پارتنوژنز Parthenogenesies Induced

یک روش گسترده تولید مثلی در زنبورهای پارازیتوئید، پارتنوژنز می‌باشد که در این حالت ماده‌های بارور نشده فقط نتاج ماده تولید می‌کنند که به آنها تلی توکی *Thelytoky* می‌گویند. در سایر تاکسون‌های حشرات، تخم‌های تلقیح نشده ممکن است نتاج نر یا ماده تولید کنند که به آنها *Deuterotoky* می‌گویند. در بسیاری حالات تلی توکی ناشی از آلودگی به یک باکتری شبه ریکتسیا متعلق به جنس *Wolbachia* می‌باشد که در بعضی گونه‌ها هم ناسازگاریهای تولید مثلی ایجاد می‌کند. در سلول‌های آلوده به *Wolbachia* اولین تقسیم میتوز منجر به تقسیم سلول نمی‌شود، تعداد، کروموزوم‌ها دوبر شده و بصورت دیپلوئید در می‌آید که در نهایت منجر به هموزیگوسیتی کامل می‌شود. در این روش نصف بیشتر تخم‌های دیپلوئید هستند (Quick, 1997). در بیشتر از 20 گونه از زنبورهای پارازیتوئید این میکروارگانیسم عامل پارتنوژنز می‌باشد (Bressac and Roasset, 1993)

Stouthamer و همکاران (1990) کشف کردند که تیمار کردن بعضی زنبورهای تریکوگرامای پارتنوژنز بوسیله آنتی بیوتیک‌ها باعث برگشت از حالت پارتنوژنز و منجر به تولید حشرات نر می‌شود و بررسی‌های بعدی روابط سیتوپلاسمی نوعی باکتری که ولباکیا نام داشت را اثبات کرد.

در حال حاضر، استرین های القاء پارتنوژنز و لباکیا، در تعداد زیادی از زنبورهای پارازیتوئید از جمله *Muscidifurax* و *Leptopilina Encarsia*، *Aphytis*، *Trichogramma* (Stouthamer *et al.*, 1993; Zchori-fein *et al.*, 1995) شناخته شده است.

آزمایش های درمانی بوسیله کاربرد آنتی بیوتیک ها و تیمار کردن با حرارت بالا حالت بازگشت به تولید نرها و حذف باکتری را نشان داد (Zchori-fein *et al.*, 1995). تشخیص این باکتری در بافت های تولید مثل بوسیله روش های استاندارد سیتوژنتیک صورت می گیرد.

کشف باکتری القاء پارتنوژنز در سایر راسته های حشرات یافته بزرگی خواهد بود.

مکانیسم های سیتوژنتیک PI- *Wolbachia* در *Trichogramma spp.* مطالعه شده است (Pintereu *et al.*, 2002). تقسیم میوز نرمال می باشد ولی در اولین تقسیم میتوز، کروموزومها در پروفاز متراکم می شوند ولی در مرحله متافاز قادر نیستند از هم جدا شوند. در نتیجه هسته دیپلوئید تشکیل می شود. در واقع این مکانیسم بعنوان دو پلیکت شدن گامت و در نتیجه هموزیگوسیتی شناخته شده است. تقسیم دوم میتوز هم بصورت نرمال صورت می گیرد. برای تعیین اینکه PI- *Wolbachia* چطور منجر به جفت شدن گامت می شود، مطالعات دقیق سیتوژنتیک مولکولی مورد نیاز است ولی مکانیسم احتمالی شامل اختلال در کامل سانتروزومها، اختلال در کار دوکها و یا حرکت سانتروزوم ها و دوکها می باشد (Quick, 1997).

دو پلیکت شدن گامتها در مورد هاپلوئیدهایی که فقط یک جایگاه ژنی تعیین جنسیت دارند، اتفاق نمی افتد. زیرا به جای ماده های دیپلوئید منجر به تولید نرهای دیپلوئید می شود (Stouthamer and Kazmer, 1994).

فاکتور دومی که باکتری PI در هاپلوئیدها پیش می‌برد این است که تخمهای هاپلوئید بدون تلقیح شدن رشد و نمو می‌کنند؛ بنابراین مکانیسم خاص که فعال شدن را به تخمها القاء کند، نیاز نیست، با توجه به اینکه بسیاری گونه‌ها دیپلوئید هستند.

2-5-3- فمینی‌زیشن *Feminization*

سخت پوست *Isopoda* شناخته شده بعنوان یک میزبان مناسب برای *Wolbachia* که منجر به القاء *Feminization* می‌شود (Werren, 1997). باکتری عامل *Feminization* در این گونه با توقف فعالیت غده آندوروژنیک (تولید خنثی، نر، ماده)، باعث یک عمل معکوس می‌شود، بدین صورت که نرها را به ماده‌های شایسته تولید مثلی تبدیل می‌کند. این احتمال وجود دارد. که باکتری عامل *Feminization* در بسیاری از سخت پوستان خشکی زی وجود داشته باشد. توالی 16SrDNA نشان داده که باکتری *A. vulgare* یک نوع *Wolbachia* است (Russet *et al.*, 1992) و توالی *ftsZ* تاکید می‌کند که این باکتری بسیار نزدیک به *Wolbachia* موجود در حشرات است (Werren *et al.*, 1995).

2-6- تنوع زیستی در گونه‌های *Trichogramma*

20 گونه از زنبورهای تریکوگراما از مجموع 180 گونه توصیف شده، آلوده به *Wolbachia* شناخته شده‌اند. از این 20 گونه، دو گونه کاملاً آلوده به *Wolbachia* B- هستند بطوریکه در تمام جمعیت‌های شناخته شده دارای تولید مثلی تلی-توکلی می‌باشند. این دو گونه عبارتند از *T. cordubensis* vargs & cabello (گزارش شده از اروپا و شمال آفریقا) و *T. Dleae Vaegele* & Pointel (گزارش شده از شمال آمریکا و اروپا) می‌باشند (Pintureau, 1994) جمعیت‌های 8 گونه تا حدود الوده بودند با درجات مختلف که وقتی *Wolbachia* موجود است تلی-توکلی دیده می‌شود. در 5 گونه هم آلودگی بصورت *Partly but highly* مشاهده شده که

در تعدادی از افراد جمعیت آلودگی که در بعضی از آنها تمام افراد آلوده بودند. سه تا از این 5 گونه بوسیله Wolbachia B- آلوده بودند از جمله *T. Pretiosum* از آمریکا، *T. deion* از شمال آمریکا و *T. embryophagum* از اروپا و آسیا در حالیکه *T. bourarachea* بوسیله A- *Wolbachia* آلوده بودند و از اروپا و شمال آفریقا گزارش و *T. kaykai* از شمال آمریکا بوسیله هر دو ولباکیا (B, A) آلوده بود. (Pintureau et al., 2000; Meer et al., 1999) به نظر می‌رسد که آلودگی در اروپا و شمال آمریکا نسبت به سایر نقاط جهان گسترده‌تر است، اما اطلاعات برای اثبات این فرضیه بسیار ناقص و کم است و نیاز به تحقیقات گسترده در سایر نقاط جهان دارد (Pintureau et al., 2002).

2-7- تکامل

Co- adoption نشان داده شده بوسیله اثرات متفاوت روی تولید مثل میزبان و سازگاری همچنین عملکرد متفاوت در انتقال عمومی و حساسیت‌های متفاوت به درجه حرارت‌های بالا که نقش نافذ همه این فاکتورها در مساله هم تکاملی همزیست- میزبان بایستی مورد بررسی قرار گیرند. ولباکیای اتصال داده شده به *T. dendrolimi* دارای یک فراوانی پایین یا کاهش یافته است که تأیید بر یک روند حذفی در طول نسلها پس از انتقال دارد که احتمالاً بدلیل هم سازگاری (co- adaptation) ناکافی همزیست و میزبان می‌باشد. ولی با وجود این مساله، بعد از گذشت 60 نسل، ولباکیا هنوز وجود دارد و بوسیله مکانیسم PCR قابل شناسایی است (Pintureau et al., 2000). براساس بررسی انجام شده ولباکیا روی مراحل اولیه رشد میزبان مثل جنسی و الگوهای تنوع ژنتیکی میزبان تأثیر می‌گذارد. بطور کلی می‌توان گفت که این باکتری روی تکامل و اکولوژی زنبورهای پارازیتوئید میزبان اثر می‌گذارد (Pintureau et al., 2002)..

2-8- تخصصی شدن

احتمالاً ولباکیا می‌تواند یک تخصصی شدن سریع را بوسیله ایجاد ناسازگاریهای تولید مثلی بین جمعیت‌های، مخصوصاً ناسازگاریهای دو سویه، ایجاد کند (Breeuwer et al., 1992). یک الگوی پیچیده از سازگاریهای یک سویه و دو سویه ایجاد می‌شود. در حالیکه بیشتر توجهات با استناد به حضور ولباکیا در تمامی موارد به تلقیح ناسازگار سوق پیدا گروه است. *Wolbachia* القاء کننده ناسازگاری دو سویه یک مکانیسم ممکن برای تخصصی شدن سریع در بند پایان می‌باشد. براساس تحقیقات انجام شده بیشتر از 16٪ از حشرات پناهگاه (میزبان) مناسبی برای این باکتری هستند (Werren, 1997).

2-9- کاربرد در کنترل بیولوژیک

باکتری *Wolbachia* در بندپایان بخاطر پتانسیل آن بعنوان یک عضو جدید در کنترل بیولوژیک خیلی مورد توجه قرار گرفته است. Stouthamer و همکاران در سال 1992 بیان کردند که تولید موفقیت آمیز زنبورهای پارازیتوئید برای کنترل بیولوژیک، تحت تأثیر سیستمهای تعیین نسبت جنسی قرار می‌گیرد. با توجه به اینکه بسیاری از زنبورهای پارازیتوئید دارای تلی توکی هستند (Stouthamer et al., 1993)، بیان بعضی مزایا و معایب کاربرد گونه‌های جنسی و مقایسه با تلی توکی‌ها در کنترل بیولوژیک نیاز به بررسی‌های زیادی دارد.

1- تفاوت در Fecundity و قدرت جستجو بین دو تیپ وقتی که هیچ گونه تفاوت معنی‌دار

آماری در این دو پارامتر مشاهده نشده بالطبع سراغ فاکتورهای دیگر می‌رویم.

2- استرینهای تلی توکی احتمالاً دارای سود ذاتی هستند، چونکه آنها هیچ نتاج نری تولید

نمی‌کنند؛ و آنچه در برنامه‌های مبارزه بیولوژیک کار آمد است، نتاج ماده است. علاوه بر این

در تراکهای پایین جمعیت با جایی که استرینهای جنسی سودمند نیستند، مساله یافتن جفت وجود ندارد. یک نکته مهم در این مورد این است که استرینهای تلی توکی قابل درمان هستند بوسیله دماهای بالا یا آنتی بیوتیکها و در زمان مورد نیاز، به هر حال مطالعات گسترده‌ای باید در مورد مزایای و معایب کاربرد این باکتری در برنامه کنترل بیولوژیک صورت گیرد (Pintureau et al., 2002).

محاسبات نشان داده که رهاسازی 100 عدد زنبور بالغ *Trichogramma* از هر دو خط تولید مثلی (Tel , Ar.) ؛ تعداد بیشتری تخم بوسیله زنبورهای Tel پارازیت شده‌اند. با وجود باروری پایین تر در افراد ماده Tel ولی پتانسیل آن در برنامه کنترل بیولوژیک نسبت بر رقبای Ar موفق تر بوده است (Pintureau et al., 2002).

اثرات القاء تلی توکی باکتری *Wolbachia* روی *Trichogramma cordubensis* و *T. deion* در آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. یک خط آلودگی (تلی توکی و همه ماده) با افراد هم گونه سالم (آرنو توکی و جنسی) از هر دو گونه زنبور تهیه و مورد بررسی قرار گرفت. خصوصیات مورد بررسی خصوصیات زیستی و رفتاری این زنبورها در دو خط تولید مثلی بودند. نتایج نشان داد که خط Ar. باروری بالاتری داشته نسبت به رقبای Tel، که احتمالاً اثرات سوء ولباکیا را در باروری نشان داده است.

ماده‌های Tel در گلخانه نسبت به آزمایشگاه گسترش بهتری را نشان دادند. اطلاعات در زمینه تنوع زیستی *Wolbachia* یکی از مهمترین ابزارها را در توسعه بیولوژیک می‌باشد. گونه‌های رهاسازی شده *T. brassicae* علیه ساقه قرار اروپایی ذرت *Ostrinia nubilalis*، اغلب دارای فرم دو شکلی bisexual mole تولید مثلی هستند. انتقال *Wolbachia* - A منجر به القاء پارتنوژنز (تولید مثلی تلی توکی) در این گونه ها شده و باعث افزایش عملکرد پرورش انبوه با تولید فقط افراد

ماده و جلوگیری از رهاسازی افراد نر که هیچ نقشی را در پارازیستم آفات پروانه ای ندارند، شده است (Pintureau et al., 2002). به منظور بهبود تکنیک های انتقال *Wolbachia* به گونه های میزبان دیگر، نکات بیشتری از عکس العمل های همزیست-میزبان بایستی مورد مطالعه قرار گیرند (Pintureau et al., 2002). کاربرد *CI- Wolbachia*: تمایلات زیادی به کاربرد CI در کنترل بیولوژیک وجود دارد (Aesehilimann, 1990) (مطالعات اولیه به کاربرد *Wolbachia* به منظور نابودسازی جمعیت های میزبان در یک روشی شبیه رهاسازی نرهای عقیم بود (Laven, 1967). که البته این روش در مورد جمعیت های میزبان در یک روشی شبیه رهاسازی نرهای عقیم بود. البته این روش در مورد جمعیت های کاملاً ایزوله منطقی است. روش دیگر تأسیس (ایجاد) یک نوع آلودگی CI در آفات می باشد که پتانسیل تولید مثل آنها را کاهش خواهد داد. یک مشکل بارز این است که همانطور که مسیرهای آلودگی در یک جمعیت به پیش می رود، فراوانی ناسازگاری بصورت دراماتیک کاهش می یابد. بنابراین استرین های با نرخ انتقال بالا کمتر مفید خواهند بود. برای این مشکل از کنترل بیولوژیک بهر حال استرین های با سرعت انتقال پایین به یک چند شکلی موزون درون جمعیت های میزبان نائل می شوند. پتانسیل *Stacking* نوع دیگر ناسازگاری درون یک جمعیت است. اتفاق بیافتند به هر حال، موثر بودن این روشها کاملاً مرتبط با تخصصی شدن پارامترهای جمعیت از جمله *expression, fertility cost* و *transmission* دارد.

کاربرد *PI- Wolbachia*: تمایلات زیاد برای کاربرد استرین های PI در کنترل بیولوژیک وجود دارد (Zochori-fein et al., 195) بعضی از مزایای PI در زنبورهای پارازیتوئید بکار رفته در برنامه های مبارزه بیولوژیک کلاسیک و پرورش انبوه توسط Stouthamer (1990) بطور زیر بیان شده است:

1) پارتنوژنز نرخ افزایش جمعیت و نرخ تنش زدن بالاتر خواهد داشت.

2) در پارتنوژنز به نظر می‌رسد که کلونی شدن و تأسیس جمعیت بهتر و سریع‌تر صورت می‌گیرد چرا که در تراکمهای پایین مشکل پیدا کردن جفت حل شده است.

3) در برنامه‌های تولید انبوه پارتنوژنز هزینه کمتری را در برخواهد داشت زیرا هزینه‌ای برای تولید افراد نر صرف نمی‌شود.

ولی قابل ذکر است که این مزایا مولکول شده است به مساله باروری پایین در بعضی از این افراد که این مساله کاهش خواهد داد موثر بودن تعدادی از ماده‌های تولید شده را، به همین دلیل در ابتدا بایستی جمعیت‌های اسکرین شوند تا حدی که باکتری نرخ پایین باروری روی میزبان کم شود (Werren, 1997).

2-10- بعضی از تحقیقات صورت گرفته و در حال اجرا

مطالعات روی جمعیت‌های پارازیتوئید میزبان و تنوع زیستی ولباکیا در سال 1995 در پارک Silwood جنوب انگلستان صورت گرفت. بررسی‌ها با جمع‌آوری 21 گونه از مینوزهای برگ‌ی از راسته بالپولکداران و 18 گونه از پارازیتوئیدهای آنها 6 گونه از شته‌ها و 20 گونه از پارازیتوئیدهای اولیه و 7 گونه از هیپرپارازیتوئیدهای اجباری آنها روی گیاهان مختلف منطقه آغاز شد.

پس از شناسایی نمونه‌ها در اتانول 100٪ و در یخچال ذخیره‌سازی شدند. مراحل بعدی مطالعه شامل استخراج DNA و تشخیص *Wolbachia* بوسیله سیستم PCR و آشکارسازی توالی بوسیله پرایمر *ftsZ* صورت گرفت.

بر اساس نتایج بدست آمد در این دو جامعه (پارازیتوئید - میزبان)، در کل 22٪ از گونه‌ها آلوده به ولباکیا بودند. و این آمار شبیه 16/9٪ بدست آمده از حشرات منطقه نئوتورویپیکال بوسیله Werren *et al.*, 1995 بوده است. توزیع آلودگی ولباکیا در گروه‌های تاکسونومیک متفاوت بوده

است بطوریکه : 1- درصد گونه‌های آلوده در زنجیره غذایی شته‌ها 3/5٪ خیلی پایین بود نسبت به زنجیره غذایی مینوزها 33/3٪ زنبورهای پارازیتوئید دارای مقادیر (نرخ) بالاتر آلودگی به گروه A- *Wolbachia* نسبت به گروه B بودند ولی در میزبانهای این مساله کمی متفاوت بود. 3- فراوانی آلودگی دابل AB در مطالعات werren و همکاران زیاد ولی در این مطالعات متفاوت بود. دلایل ارائه شده در مورد تفاوت های گسترش آلودگی ولباکیا بین جوامع - تاکسونها به شرح زیر بیان شده است:

- بعضی گونه‌ها می‌توانند به آلودگی بوسیله یک یا هر دو نوع ولباکیا کمی یا بسیاری مقاوم باشند.

نکته قابل توجه این است که عدم یافتن یا پایین بودن آلودگی در شته‌ها احتمالاً بخاطر وجود مکانیسم یا فاکتوری در این گروه است:

- فاکتورهای اکولوژیکی ممکن است منجر به این شود که بعضی گونه‌ها به ولباکیا بیشتر آلوده شوند و یک سؤال مهم در اینجا پیش می‌آید که : آیا روابط اکولوژیکی در آلودگی ولباکیا و گسترش آن نقش دارند؟

- احتمالاً آلودگی از اجداد شروع شده و سپس تخصصی شدن صورت گرفته است. بطوریکه اگر تعدادی از اجداد هر گونه مطالعه شود نشان خواهد داد که آنها بوسیله استرین های بسیار مشابهی از *Wolbachia* آلوده شده‌اند و درخت فیلوژنتیکی استرین های *Wolbachia* با آنچه از میزبان بدست آمده مشابه خواهد بود.

- در نهایت اینکه یک استرین ولباکیا میزبان را مورد حمله قرار داده و در نتیجه در بین اعضای آن جامعه یا تاکسون گسترش یافته است، که این اتفاق منجر به تخصصی شدن یک استرین روی یک گروه تاکسونومیک یا یک محیط خاص می‌شود و در نهایت فرضیه‌ای که شکل می‌گیرد این است که گونه‌های نزدیک و وابسته میزبان استرینهای ولباکیای نزدیک و وابسته‌اند.

Molly Hunter یکی از محققین دانشگاه آریزونا، مطالعات خود را در 20 سال گذشته روی جنبه‌های مختلف زنبورهای پارازیتوید متمرکز کرده است. او در دهه اخیر اقدام به تحقیق روی باکتری‌های همزیست (*Wolbachia*) کرده است. تحقیقات اخیر این محقق در زمینه Better parasitic wasps for biological control است.

از دیگر محققین Richard Stouthamer از دانشگاه کالیفرنیا می‌باشد که تحقیقات بسیار گسترده‌ای روی همزیست‌های حشرات مداخله‌کننده‌های نسبت جنسی، اکولوژی مولکولی و ژنیک جمعیت کرده است. مطالعات در حال انجام او عبارتند از :

1- Symbiont and Sex ratio distortion in insects

2- The use of molecular techniques to study population genetics, identification of cryptic species , biotypes and their origin.

Rokas و همکاران از موسسه تحقیقات تنوع زیستی و تکامل بیولوژیکی مادرید، اسپانیا روی فراوانی و تنوع *wolbachia* در زنبورهای گالزای بلوط (cynipidae) انجام داده‌اند.

3-1- بحث

تحقیقات راجع به *Wolbachia* شبیه یک رشد انفجاری در آینده خواهد بود تمایلات

گسترده‌ای در مورد نقش این باکتریها وجود دارد که ابزارهای مورد نیاز در دسترس می‌باشند.

سئوالات کلیدی :

- مکانیسم بیوشیمیایی PI, CI و Feminization در حشرات چیست؟
- گسترش و دامنه میزبان *Wolbachia* بر چه صورت است؟
- *Wolbachia* بین گونه‌ها چطور انتقال می‌یابد؟
- تراژدی تکامل آلوده شده های *Wolbachia* در بین گونه‌های حشرات چیست؟

- آیا *Wolbachia* می‌تواند بطور موثری در برنامه‌های کنترل بیولوژیک مورد استفاده قرار گیرد؟

- آیا *Wolbachia* باعث پیشرفت تخصصی شدن، می‌شود؟

بررسی های انجام شده حاکی از آن است که این باکتری روی تکامل و اکولوژی زنبورهای پارازیتوئید میزبان اثر می‌گذارد. در واقع باکتری برای حفظ حیات و تولید مثل، سازگاری را با زنبور افزایش می‌دهد و یا تغییراتی در سیستم تولید مثل زنبور، در راهی که به نفع خود باشد و در واقع بقا و گسترش خود را تضمین کند، ایجاد می‌کند. چون این باکتریها از مادر به نتاج منتقل می‌شود در صورت تولید حشرات نر، حیات باکتری منقطع خواهد شد (Pinethruea, 2002) با توجه به اینکه سیستم ژنتیکی زنبورها هاپلو- دیپلوئیدی است، یعنی تخم های لقاح یافته به ماده و تخم های لقاح نیافته به نرهای هاپلوئید تبدیل می‌شوند. این باکتری با ایجاد کروموزوم های دابل در تخم های لقاح نیافته، منجر به ایجاد نتاج ماده می‌شود که به این پدیده اصطلاحاً القا پاراتنوژنز می‌گویند. مکانیسم عمل و مراحل دقیق این القاء کاملاً شناخته شده نیست، اما به هر حال منجر به تولید ماده‌های هموزیگوست می‌شود (Pinethruea, 2002; Quicke, 1997)

نوع دیگر از مکانیسم عملکرد این باکتری همزیست ناسازگاری سیتوپلاسمی می‌باشد، که در واقع دگرگونی یا تغییر مربوط به حشرات نر است. با توجه به اینکه نرها فقط حمل کننده باکتری هستند و نمی‌توانند نقش در انتقال و گسترش باکتری داشته باشند، در عوض انتشار باکتری همزیست با ایجاد تداخل و ناسازگاری در سیستم تولید مثل ماده‌های سالم، این فرصت را به ماده‌های آلوده می‌دهد که با سرعت بیشتری (حذف رقیب) جمعیت خود را در نسل های بعد افزایش دهد (Hunter, 2005).
بر اساس مطالعات انجام شده 20 درصد حشرات آلوده به ولباکیا هستند و آنرا حمل می‌کنند. اگر محققین بتوانند این باکتری‌های همزیست را در حشرات (مخصوصاً پارازیتوئید و پرداتورها). بشناسند

و اثرات آنها را روی بیولوژی زنبورها یا شکارگران میزبان تعیین کنند، این فرصت بدست می‌آید که باکتریهای همزیست را در جهت منافع برنامه‌های کنترل بیولوژیک هدایت کنند و زمانی که احتیاجی به آنها نیست با کاربرد آنتی بیوتیک‌ها، آنها را حذف نمایند.

براساس بررسی های یکی از مزایای کاربرد باکتری همزیست کاربرد آن در برنامه‌های پرورش انبوه و رهاسازی زنبورهای پارازیتوئید در گلخانه‌هاست با استفاده از ماده‌های آلوده که به طریق بکرزایی تولید مثل می‌کنند.

به هر حال چشم انداز آینده به موفقیت این ماده‌های آلوده در این مسابقه است. فرضیه شناخت و کاربرد این باکتری های همزیست احتمالاً باعث موفقیت بیشتر برنامه‌های مبارزه بیولوژیک خواهد شد که زمینه مطالعات بسیاری را فراهم می‌کند.

References

- Acschilimann, J.P.**, (1990), Simultaneous occurrence of thelytoky and bisexuality in hymenopteran species, and its implications for the biological control of pests. *Entomophaga*, **35:3-5**
- Anonymous**, (2004). *Wolbachia* (endosymbiont of *Drosophila melanogaster*). *Bacteria Genome*. *PLoS Biol.* **2(3):E69**
- Beard, C.B., O'Neil, S.L., Tesh, R.B., Richards, F.F., Aksoy S.** (1993). Modification of arthropod vector competence via symbiotic bacteria. *parasitol. today*. **9:179-183**
- Binnington, K.L., Hoffmann, A.A.**, (1989). *Wolbachia* like organisms and cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans*. *J. Inverteb. pathol.* **54:344-352**
- Breeuwer, JAJ, Stouthamer, R., Burns DA., Pelletier DA., Weisberg WG., Werren, JH.** (1992), Phylogeny of cytoplasmic incompatibility

- microorganisms in the parasitoid wasp genus *Nasonia* (Hym. : pteromalidae) based on 16sr DNA sequences. *insect. Mol . Biol .* **1:25-36**
- Bressac C., Rousset, F.**, (1992), The reproductive incompatibility system in *D. simulans*: DAPI staining analysis of the *Wolbachia* symbionts in sperm cysts. *J. Invertebr. Pathol* , **61:226-230**
- Conner, JW., Saul, JB.**, (1986), Acquisition of incompatibility by inherited wild type stocks of *mormoniella* . *J. Hered .* **77:211-213**
- Coyne , JA. ,** (1992), Genetics and speciation nature , **355:511-515**
- Curtis , CF., Adak , T. ,** (1974), Population replacement in *Culex fatigans* by means of cytoplasmic incompatibility . *Bull. World Health Org.* **51:249-255**
- Curtis, CF.**, (1976), Population replacement in *Culex fatigans* by means of cytoplasmic incompatibility . 2. Field cage experiments with overlapping generations. *Bull. World Health Org.* **53: 107-109.**
- Ghelelovitch, S.** (1952), Sur le determinisme genetique de la sterilité dans le croisement entre difference souches de *Culex autogenicus* Roubound , *C.R.Acad. Sci. paris* **24:2386-88.**
- Girin, C., Bouletreau, M.**(1995), Microorganism associated variation in host infestation efficiency in a parasitoid wasp, *Trichogramma bombrachae* (Hymenoptera:Trichogrammatidae). *Experientia*,**51:398-401**
- Hertig , M.** (1936), The rickettsia , *Wolbachia pipentis* (gen. et. Sp. N.) and associated inclusions of the mosquito *Culex pipens* . *parasitology* **28:453-86.**
- Hertig , M., Wolbach, SB.** 1924. Studies on rickettsia like microorganisms in insects . *J. Med.Res.* **44:329-374**

- Hoffmann aa.,Turelli,** (1997), Cytoplasmic incompatibility in seets In:S.L Oneill Hoffmann & J.H.Werren(eds)influential passagers: inberited microorganisms& aribropod reproduction, p, 12-80 Oxford Universitywy Press :Oxford (UK)
- Huigens, M.E., Luck, R.F., Klassen, R.H.G., Maas, M.F.P.M., Timmermans, M.J.T.N., Stoutilamer, R.** (2000) Infectious parthenogenesis, Nature,**405,178-179.**
- Hunter, M.,** (2005), Better parasitic wasps for biological control, Agricultural Experiment Station Research Report, [on-line] Available in the: [www.ag./Arizona. Edu/Pubs/general/resprt2005/article7-2005.pdf](http://www.ag.arizona.edu/Pubs/general/resprt2005/article7-2005.pdf)
- Hurst, G.D.D., Jonson, A.P., Scuulenburg, J.H.G.V.D. and Fuyamay,** (2000) MALE Kiling Wolbachia in rosophila: a temperature-sensetive trait with a threshold bacterial density .Genetics,**156:699-709**
- Johanowiez, DL., Hoy, MA.,** (1995), Molecular evidence for A Wolbachia endocytobiont in the predatory mite *Metaseiulus occidentalis*. J. Cell. Biochem. **21A: 198**
- Juchault, p., Rigaudgt, Mocquard, GP.,** (1992). Evelotion of sex determining mecanisems in a wild population of *Armadillum vulgare*(Crustacea,Isopoda):competition between two femenzing parasite sex factor, H ereditiy,**69:382-390**
- Laven , H.,** (1951). Crossing experiments with culex strains . evolution . **5:370-375**
- Loven , H.** (1959). Speciation by cytoplasmic isolation in the *Culex pipiens* complex . Cold spring Harbor Symp. Quant. Biol . **24:166-173**
- Loven , H.** (1976). Speciation and evolution in *Culex pipiens*. In Genetics of Insects Vectors of Disease .**251-275**

- Normark, B. B.**, (2002), The evolution of Alternative Genetic systems in insects, Annual Review of Entomology, **48:397-423**
- Plantard O., Rasplus, J. Y. Mondor, G., Clainche, Le., Solignac, M.**, (1998), Wolbachia induced thelytoky in the rose gallwasp *Diplolepis spinosissima* (Girud) (Hymenoptera: Cynipidae), and its consequences on the genetic structure of its host, Proceedings: Biological Sciences, **265: 1401**
- O'Neill , SL. Giordano , R. , Colbert , AME. , Karr , TL. , Robertson , HM. ,** (1992). 16sr RNA philogenetic analysis of the bacteria endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects . Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **89:2699-702**
- O'Neill, SL., Karr , TL.**(1990). Bidirectional incompatibility between conspecific population of *Drosophila simulans*. Nature, **348: 178-180**
- Pintureau, B. Bolland, P.**, (2001). A *Trichogramma* species showing a better adaptation to high temperature than its symbionts. Biocontrol Science and Technology, 11: 13-20
- Pintureau, B., Chapelle, L., Delobel, B.**, (1999). Effects of repeated thermic and antibiotic treaumen on *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) symbiont. Journal of Applied Entomology, **123:473-483**
- Pintureau, B., Grenier, S., Boleat, B., Lassabliere, e., Hedi, A., Kutatcuadourian, C.**, (2000). Dynamics of Wolbachia populations in transfected lines of *Trichogramma*. Journal of Invertebrate Pathology, **76: 20-25**
- Pintureau, B., Grenier, S., Heddi, A., and Charles, H.** (2002). Biodiversity of *Wolbachia* and of their effects in *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae). Ann. Soc. Entomol., Fr. (n.s.), **38(4):333-338**

- Prrot Minot , MJ. , Guo . L . , Weren , JH.** (1966). Double and single wolbachia infections in *Nasonia vitripennis* . *Genetics* **143:961-972**
- Quicke, DLG.,(1997).** Parsitic Wasps. Chpman and Hall, 2-6 Boundary Row, London Se1 8HN, UK. **2:50-62**
- Richard, Stouthamer, Breeuwer,J.A., Hurst,G.D.,** (1999), Wagenin Agricultural University of Netherlands, Annual Reviews, **53:71-102**
- Rousset, F., Bouchon, D., Pintureau, B., Juchault, P., Solignac, M.** (1992). Wolbachia endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in arthropods . *Proc. R. Soc. London Ser . B* **250:91-98**
- Ryan, SL., Saul, GB.,** (1968). Postfertilization effect of incompatibility factors in *Mormoniella* . *Mol. Gen. Genet.* **103:24-36**
- Saul, GB., H.** (1961). An analysis of non-reciprocal cross incompatibility in *Mormoniella viripennis* (walker) . *Z. Verebungsl.* **92:28-33**
- Scultuizen, M., Stouthamer, R.,** (1997). Horizontal transmission of parthenogenesis inducing microbes in *Trichogramma* wasps. *Proceedings of the Royal Society of London B.*, **264:361-366**
- Silva, I. M. M. S., Van Meer, M. M. M., Roskam, M. M., Hoogenboom, A.,Gort, G., Stouthamer, R.,** (2000), Biological control potential of Wolbachia infected versus uninfected wasps: laboratory and greenhouse evaluation of *Trichogramma cordubensis* and *T. deion* strains, *Biocontrol Science and Technology*, **Vol:10. 223-228(16)**
- Stevens, L.,** (1989). Environmental factors affecting reproductive incompatibility in flour beetles , geus *Tribolium* . *J. Invertebr . pahol .* **53:78-84**
- Stevens, L., Wickw, DT.,** (1992). Multispecies interactions affect cytoplasmic incompatibility in *Tribolium* Flour beetles. *Am. Nat.* **140:642-653**

- Stouthamer, R., Breeuwer, JAJ., Luck, RF., Werren, JH.,** (1993). Molecular identification of Microorganisms associated with parthenogenesis . *Nature* 361:66-68
- Stouthamer, R., Kazmer, DJ.,** (1994). Cytogenetic of Microb associated parthenogenesis and its consequences for gene flow in *Trichogramma* wasps *Heredity* **73:317-327**
- Stouthamer, R., Luck, RF., Hamilton, WD.,** (1990). Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) to revert to sex. *Proc. Ntl. Acad. Sci. USA.* **87:2424-2427**
- Stouthamer, R., Werren, JH.** (1993). Microbs associated with parthenogenesis invertebre. *Pathol.* **61:6-9**
- Taylor, MJ., Hoerauf, A.,** (1999) *Wolbachia* bacteria of filarial nematodes. *Parasitology Today*, **15: 437-442**
- Turelli, M.,** (1994). Evolution of incompatibility inducing microbes and their hosts. *Evolution*, **48: 1500-1513**
- Weiburg, wg., Dobson, ME., Samuel, JM., Dasch, GA., Mallavia, LP., et al.** (1989) Phylogenetic diversity of Rickettsiae. *J. Bacteriol.* **171:4202-6**
- Weiss, E., Moulder,, JW.,** (1984). Order I Rickettsials Giezezkiewies. In *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology, Vol. I,* **687-729**
- Werren, J. H.,** (1997), *Biology of Wolbachia*, *Annual Review of Entomology*, **42: 587-609**
- Werren, JH., Guo, L., Windsor, DW.,** (1995). Distribution of *Wolbachia* in neotropical arthropods, *Proc. R., Soc. London Ser. B.* **262:147-204**
- Werren, JH., Jaenike, J.,** (1995) *Wolbachia* and cytoplasmic incompatibility in mycophagous *Drosophila* and their relatives. *Heredity*, **75:320-326**

Werren, JH., Zhang, W., Gue, LR., (1995). Evolution and pylogeny of Wolbachia: reproductive parasites of arthropods. Proc. R. Soc. London Ser.B **251:55-71**

Yen, JH., Barr, A.R., (1971). New hypotheses of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens*. Nature **232:657-658**

Zchori-Fein, E., Faktor, O., Zeidan, M., Gottlieb, Y., Czosnck, H., Rosen, D., (1995). Parthenogeneses inducing microorganisms in *Aphytis* (Hym.: Aphelinidae). Insect Mol. Biol. **4:173-178**