نامه‌ی انجمن حشره‌شناسی ایران
۱۳۹۲ – ۳۳(۳): ۴۵-۵۶

نقش ترکیبات فرار متصاعدشده از سطوح اول و دوم غذایی بر رفتار میزبان‌یابی زنبور پارازیتویید *Tamarixia radiata* (Hym.: Eulophidae)

امین مقبلی قرایی، مهدی ضیاءالدینی* و محمدامین جلالی
گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان، رفسنجان.
*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ziaaddini@vru.ac.ir

Role of volatile compounds emitted from the first and second trophic levels in host finding behavior of *Tamarixia radiata* (Hym.: Eulophidae)

A. Moghbeli Gharaei, M. Ziaaddini* and M. A. Jalali
Department of Crop Protection, Agriculture College, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran.
*Corresponding author, E-mail: ziaaddini@vru.ac.ir

چکیده

رایحه‌ها نقش مهمی را در رفتار کاوشگری زنبورهای پارازیتویید ایفا می‌کنند و می‌توانند موجب افزایش عملکرد آن‌ها در برنامه‌های کنترل بیولوژیک گردند. این پژوهش با هدف تعیین پاسخ زنبور پارازیتویید *Tamarixia radiata* (Waterston) به محرک‌های شیمیایی مراحل مختلف زیستی پسیل آسیایی مرکبات، *Diaphorina citri* Kuwayama، با استفاده از بویایی‌سنج Y-شکل و در شرایط آزمایشگاهی (دمای ۱ ± ۲۷ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰ ± ۶۰ درصد، شدت نور ۱۶۰۰ لوکس و شدت جریان هوا به میزان ۳۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه) انجام شد. همچنین، نقش ترکیبات فرار برگ‌های سبز (GLVs) و ترکیبات فرار القایی (HIPVs) چهار رقم از مرکبات شامل لیمو مکزیکی (*Citrus aurantifolia*)، پرتقال والنسیای کمپبل (*C. sinensis*)، گریپ‌فروت مارش (*C. paradise*) و نارنج (*C. aurantium*)، با رهاسازی تعداد ۳۰ حشره‌ی نر و ۳۰ حشره‌ی ماده مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که زنبورهای ماده‌ی پارازیتویید به‌طور معنی‌داری به محرک‌های شیمیایی متصاعدشده از پوره‌های پسیل آسیایی مرکبات و نیز ترکیبات فرار القایی متصاعدشده در اثر تغذیه‌ی پوره‌ها و حشرات بالغ جلب شدند. از سویی، زنبورهای نر به هیچ‌یک از محرک‌های شیمیایی مراحل مختلف زندگی *D. citri*، ترکیبات فرار برگ‌های سبز و ترکیبات فرار القایی جلب نشدند. نتایج بیانگر این است که ماده‌های زنبور پارازیتویید از علایم بویایی پوره‌های پسیل آسیایی مرکبات و نیز ترکیبات فرار القایی که در اثر تغذیه‌ی پوره‌ها و حشرات کامل روی گیاهان میزبان متصاعد می‌شوند، به‌منظور میزبان‌یابی خود استفاده می‌کنند. شناسایی، سنتز و استفاده از ترکیبات فرار جلب‌کننده‌ی عوامل کنترل بیولوژیک می‌تواند کارآیی استفاده از این عوامل را در برنامه های کنترل تلفیقی آفات افزایش دهد.

واژگان کلیدی: بویایی‌سنج، پسیل آسیایی مرکبات، *Diaphorina citri*، ترکیبات فرار القایی، ترکیبات فرار برگ‌های سبز، مرکبات

Abstract

Odors play an important role in the seeking behavior of wasp parasitoids and enhances their performance in biological control programs. This study was intended to determine the olfactory response of *Tamarixia radiata* (Waterston) to chemical cues that emanates from various stages of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama, in Y-tube olfactometer in laboratory conditions (27 ± 1°C, 60 ± 10% RH, 1600 lux light intensity and constant airflow of 300 ml/min). The effect of green leaf volatiles (GLVs) and herbivore-induced plant volatiles (HIPVs) of four varieties of the rutaceous plants, Mexican lime, *Citrus aurantifolia*, Campbell Valencia orange, *C. sinensis*, Marsh grapefruit, *C. Paradisi*, and sour orange, *C. aurantium*, were also evaluated based on separately release of 30 females and 30 males of *T. radiata*. The results indicated that the females were significantly attracted to the volatiles emanating from *D. citri* nymphs and HIPVs resulted from the feeding of nymphs and adults of *D. citri*. The males were not responsive to the odors emanating from various stages of *D. citri*, GLVs or HIPVs. It is found that the female parasitoid wasps use chemical cues emanating from the nymphs of Asian citrus psyllids and HIPVs for host seeking. Using the synthetic volatile compounds could increase the viability of the biological control agents in integrated pest management programs.

Key words: olfactometer, Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, herbivore-induced plant volatiles, green leaf volatiles, rutaceous plants

مقدمه

علائم شیمیایی متصاعدشده از گیاهان و گیاه‌خواران نقش مهمی در رفتار میزبان‌یابی گیاه‌خواران و رفتار کاوشگری دشمنان طبیعی آن‌ها دارد. در برهم‌کنش‌های سه‌سطحی، علائم مؤثری که در اثر حضور میزبان به پارازیتویید (سطح سوم) می‌رسد،

دریافت: ۱۳۹۲/۶/۴، پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۲۳.

می‌تواند از خود طعمه (سطح دوم) و یا از گیاهی که مورد تغذیه‌ی گیاه‌خوار قرار می‌گیرد (سطح اول)، باشد. ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی علائم (رایحه‌ها)، براساس گونه، واریته‌ی گیاه و گونه‌ی گیاه‌خوار، متفاوت است و همین تفاوت سبب تخصصی عمل کردن این مواد در جلب دشمنان طبیعی می‌شود (Dicke *et al.*, 1999). ترکیبات فرار برگ‌های سبز (Green Leaf Volatiles) (GLVs) که بیش‌تر آلدهیدهای ٦کربنه، الکل‌ها و استرهای آن‌ها هستند، نقش مهمی در برهم‌کنش بین گیاه و حشرات دارند (Visser, 1986). در اثر حمله‌ی گیاه‌خواران و در طی تغذیه یا تخم‌ریزی آن‌ها، مواد فراری متصاعد می‌گردند که از لحاظ کمی و کیفی، با رایحه‌هایی که در حالت عادی از گیاه متصاعد می‌شوند (GLVs) متفاوت هستند (Pare & Tumlinson, 1999) و رایحه‌های القایی گیاه (Herbivore-Induced Plant Volatiles) (HIPVs) نامیده می‌شوند. رایحه‌های القایی گیاه علاوه بر القای مقاومت در افراد هم‌گونه‌ی گیاه، می‌توانند به‌عنوان سینومون برای شکارگرها و پارازیتوییدها عمل کنند و سبب جلب آن‌ها به سمت گیاه‌خوار شوند که نوعی دفاع غیرمستقیم گیاه علیه گیاه‌خواران محسوب می‌شود (Sabelis *et al.*, 1999).

پسیل آسیایی مرکبات، *Diaphorina citri* Kuwayama (Hem.: Liviidae)، به‌دلیل توانایی‌اش در انتقال باکتری‌های *Candidatus* Liberibacter americanus و *Candidatus* Liberibacter asiaticus، عامل بیماری گرینینگ یا Huanglongbing (HLB) یا میوه‌سبز مرکبات، یکی از آفات بسیار مخرب و اقتصادی مرکبات در ایران و جهان محسوب می‌شود (Halbert & Manjunath, 2004; Bové, 2006; Faghihi *et al.*, 2009). باتوجه به اینکه پسیل آسیایی مرکبات به اکثر گیاهان خانواده‌ی مرکبات، Rutaceae، خسارت می‌زند و با تغذیه از بافت ترد جوانه‌ها، شاخه‌ها و برگ‌های گیاهان میزبان، در فاصله‌ی زمانی بین ۵ تا ۸ سال موجب نابودی باغ‌های آلوده می‌شود (Halbert & Manjunath, 2004; Bové, 2006)، لذا کنترل این آفت حائز اهمیت است. در حال حاضر، استفاده از حشره‌کش‌ها برای کنترل ناقل، یکی از راه‌هایی است که به‌صورت عمومی و عملی برای کنترل بیماری گرینینگ انجام می‌شود (Tiwari *et al.*, 2011). اثرات سوء حشره‌کش‌ها روی جمعیت دشمنان طبیعی و محیط زیست، گسترش مقاومت در جمعیت آفت و همچنین اهمیت تولید محصولات عاری از مواد شیمیایی باعث شده است که در کشورهای پیشرفته، استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک در کنترل این آفت مورد توجه ویژه‌ای قرار گیرد. زنبور پارازیتویید *Tamarixia radiata* (Waterston)، ازجمله عوامل مهم در کاهش جمعیت پسیل آسیایی مرکبات است که به‌صورت گسترده در قالب برنامه‌های کنترل بیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hoy *et al.*, 2001; Qureshi & Stansly, 2009). حشرات ماده‌ی این زنبور تمام سنین نابالغ پسیل آسیایی مرکبات را پارازیته می‌کنند؛ بااین‌وجود به سن پنجم پورگی ترجیح بیش‌تری نشان می‌دهند (Hoy *et al.*, 2001) و حتی پارازیتیسم بالای ۷۰ درصد روی آن دارند (Aubert & Quilici, 1984).

ازآنجایی‌که محرک‌های شیمیایی برگ گیاهان سالم (GLVs)، مواد فرار القایی تولیدشده بر اثر تغذیه‌ی گیاه‌خوار (HIPVs) و نیز محرک‌های شیمیایی خود میزبان یکی از مهم‌ترین منابع ردیابی میزبان برای حشرات پارازیتوید و شکارگر می‌باشند، و موفقیت یک عامل بیولوژیک علاوه‌بر شرایط محیطی، به توانایی آن در یافتن میزبان و جفت نیز بستگی دارد (Dicke & Grostal, 2001)، لذا در این پژوهش نقش محرک‌های شیمیایی متصاعدشده از چهار رقم مرکبات سالم و آلوده به پسیل آسیایی مرکبات و نیز محرک‌های شیمیایی مراحل مختلف رشدی این پسیل (میزبان)

به‌صورت جداگانه و در تلفیق با هم بررسی گردید. در واقع هدف از این پژوهش یافتن پاسخ به سؤال‌های زیر بود: (۱) آیا محرک‌های شیمیایی که در حالت عادی از گیاهان میزبان متصاعد می‌شوند باعث جلب زنبور پارازیتویید به سمت زیستگاه میزبان خود می‌شوند؟ (۲) آیا ترکیبات فرار القایی متصاعدشده از گیاهان میزبان مورد تغذیه‌ی پسیل، باعث جلب پارازیتویید به سمت زیستگاه میزبان خود می‌شوند؟ (۳) آیا محرک‌های شیمیایی پسیل آسیایی مرکبات به‌تنهایی قادر به جلب زنبور پارازیتویید به سمت آفت هستند؟ (٤) آیا ترکیبات فرار القایی گیاهان میزبان همراه با محرک‌های شیمیایی پسیل، دارای اثر سینرژیستی روی رفتار کاوشگری زنبور پارازیتویید هستند؟

مواد و روش‌ها

پرورش گیاهان

بذر چهار رقم مرکبات شامل لیمو مکزیکی (*Citrus aurantifolia*)، پرتقال والنسیای کمپبل (*C. sinensis*)، گریپ فروت مارش (*C. paradise*) و نارنج (*C. aurantium*)، از مؤسسه‌ی تحقیقات مرکبات کشور تهیه و درون گلدان‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۳ × ۱۲/۵ سانتی‌متر که حاوی مخلوطی از کمپوست آلی، پیت ماس (شرکت Terracult، آلمان) و پرلایت به نسبت ۱:۲:۱ بودند، کاشته شدند. گیاهان در شرایط کنترل‌شده‌ی اتاقک رشد (دمای ۱ ± ۲۷ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰ ± ٦۰٪ و دوره‌ی نوری ۱٤ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی) پرورش یافتند. در تمامی آزمایش‌ها، از نهال‌های چهارماهه استفاده شد.

تشکیل کلنی پسیل آسیایی مرکبات

جمعیت اولیه‌ی پسیل آسیایی مرکبات، از باغ‌های تجاری مرکبات اطراف شهرستان جیرفت واقع در استان کرمان (با مختصات ۲۸ درجه، ۱۹ دقیقه و ٥٤/۳۲ ثانیه شمالی و ۵۸ درجه، ۱٤ دقیقه و ٤٦/۱۷ ثانیه شرقی) که آلوده به این پسیل بودند، طی چندین مرحله‌ی نمونه‌برداری جمع‌آوری گردید. حشرات بالغ پسیل آسیایی مرکبات پس از جمع‌آوری و انتقال به گلخانه، داخل قفس‌هایی به ابعاد ۵۰ × ۵۰ × ۵۰ سانتی‌متر که حاوی گیاهان میزبان بودند، در شرایطی مشابه شرایط پرورش گیاهان، رهاسازی گردیدند. بخشی از حشرات برای آزمایش‌ها و برخی دیگر برای حفظ کلنی مورد استفاده قرار گرفتند.

تشکیل کلنی زنبور پارازیتویید

پوره‌های پارازیته‌شده‌ی پسیل آسیایی مرکبات از باغ های مرکبات اطراف شهرستان جیرفت جمع آوری گردیدند. زنبورهای پارازیتویید پس از ظهور، شناسایی شدند و زنبور پارازیتویید *T. radiata* روی نهال‌های آلوده به پسیل که با ظروف مخصوص توری‌داری محصور شده بودند، رهاسازی گردیدند. پرورش حشرات تا زمان بدست‌آمدن جمعیت کافی ادامه داشت. برای حفظ کلنی، بخشی از حشرات در پرورش مورد استفاده قرار گرفتند. برای انجام آزمایش‌ها از حشرات با سن مشخص استفاده شد.

دستگاه بویایی سنج Y-شکل

به‌منظور سنجش پاسخ بویایی زنبور پارازیتویید، یک دستگاه بویایی‌سنج Y-شکل (Y-tube olfactometer) از جنس شیشه پیرکس که شامل یک بازوی اصلی به طول ۱٤ و دو بازوی فرعی به طول ۱۰ و به قطر داخلی ۲ سانتی‌متر بود، مورد استفاده قرارگرفت. برای ورود حشره به دستگاه، یک درپوش شیشه‌ای توری‌دار در بازوی اصلی، و به‌منظور جاگذاری منبع رایحه، دو محفظه‌ی شیشه‌ای استوانه‌ای به ابعاد ۳/۵ × ۱۷/۵

سانتی‌متر در انتهای دو بازوی فرعی تعبیه گردید. هوا توسط دو لوله‌ی رابط، از یک پمپ هوا با شدت جریان ثابت ۳۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه، که با یک جریان‌سنج (hot-wire anemometer) مدل Testo 425 کنترل می‌شد، پس از عبور از محفظه‌ی حاوی گرانول زغال فعال (activated charcoal) (شرکت Merck، آلمان) و محفظه‌ی حاوی آب مقطر (به‌منظور تصفیه و مرطوب کردن هوا) توسط لوله‌های تفلونی به محفظه‌های تیمار و شاهد، و سپس، به دو بازوی فرعی وارد شده و از بازوی اصلی خارج می‌شد. قبل از هر آزمایش، بویایی‌سنج و تجهیزات آن به‌طور کامل با محلول ۲٪ صابون تمیز و سپس درون آون در دمای ۲۰۰ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت سه ساعت نگه‌داری می‌شدند. به‌منظور سنجش تیمارهای مورد آزمایش، دستگاه بویایی‌سنج در اتاق زیست‌سنجی با شرایط دمایی ۱ ± ۲۷ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰ ± ٦۰ درصد و زیر نور لامپ سفید با شدت ۱٦۰۰ لوکس قرار داده شد. در تمامی آزمایش‌ها، مدت زمان پاسخ که در آزمایش‌های مقدماتی تعیین گردید، حداکثر ۳۰۰ ثانیه بود و درصورتی‌که حشرات در این مدت پاسخی نداشتند، به‌عنوان عدم پاسخ (no choice) ثبت می‌شدند. آزمایش‌ها با رهاسازی حشرات نر و ماده زنبور پارازیتویید به‌صورت جداگانه و منفرد در بازوی اصلی بویایی‌سنج آغاز شد و سپس عکس‌العمل آن‌ها مشاهده و ثبت گردید. همچنین، برای جلوگیری از تمایل به یک بازو، منبع رایحه در شروع آزمایش به‌صورت تصادفی برای یک بازو اختصاص داده می‌شد و پس از آزمایش پنج زنبور پارازیتویید، به بازوی دیگر منتقل می‌شد.

آماده‌سازی تیمارهای آزمایشی

گیاهان آلوده به پسیل، با رهاسازی حشرات بالغ پسیل آسیایی مرکبات روی گیاهان مورد مطالعه و پرورش دو نسل آفت روی گیاهان درون قفس، آماده گردیدند. مراحل پورگی و همچنین ترشحات آن‌ها شامل عسلک و پوسته نیز روی گیاهان مشاهده می‌شد. به‌منظور دست‌یابی به برگ‌های سالم مرکبات، گیاهان کاشته‌شده در طول پرورش از تغذیه‌ی پسیل آسیایی مرکبات و یا هر آفت دیگر حفظ می‌شدند. به‌دلیل اینکه برگ‌ها و جوانه‌های تازه، درمقایسه با برگ‌های مسن‌تر و نیز سایر قسمت‌های گیاه، نسبت بالاتری از ترکیبات ثانویه دارند و رشد و توسعه‌ی پسیل آسیایی مرکبات نیز به جوانه‌های تازه وابسته است (Catling, 1970)، گیاهان هرس شده و با کود تجاری (N:P:K) آبیاری می‌شدند تا تولید جوانه‌های جدید القاء شود. به‌منظور به حداکثر رساندن مقدار ترکیبات فرار، ۳/۵ گرم از برگ‌های جوان مرکبات سالم و آلوده استفاده گردید. برگ‌ها در تیمارها و تکرارها، از نظر سن و اندازه به نسبت یکسان بودند. به‌منظور جلوگیری از رها شدن ترکیبات فرار، دم‌برگِ برگِ قطع‌شده با پارافین آغشته گردید. حشرات مورد استفاده برای آزمایش، درون ظروف اپندورف که در آن‌ها با توری مسدود شده بود، به‌مدت ٦-۲ ساعت گرسنگی داده شدند تا پاسخ آن‌ها به علایم محرک‌های شیمیایی افزایش یابد. به‌منظور خو گرفتن با شرایط اتاق زیست‌سنجی، حشرات یک ساعت قبل از انجام آزمایش، به اتاق زیست‌سنجی منتقل شدند. در طول پرورش از هیچ آفت‌کشی روی گیاهان استفاده نگردید.

پاسخ رفتاری زنبور پارازیتویید *T. radiata* به ترکیبات فرار برگ‌های سبز و ترکیبات فرار القایی

به‌منظور ارزیابی نقش محرک‌های شیمیایی متصاعدشده از چهار رقم گیاهان سالم (GLVs) و نیز گیاهان آلوده‌شده توسط پسیل آسیایی (HIPVs) در جلب زنبور پارازیتویید، پاسخ ۳۰ حشره‌ی نر و ۳۰

حشره‌ی ماده به هریک ازتیمارهای زیر تعیین گردید: (۱) نارنج سالم در مقابل هوای پاک، (۲) لیمو مکزیکی سالم در مقابل هوای پاک، (۳) پرتقال والنسیای کمپل سالم در مقابل هوای پاک، (٤) گریپ‌فروت مارش سالم در مقابل هوای پاک، (٥) نارنج آلوده به پسیل در مقابل هوای پاک، (٦) لیمو مکزیکی آلوده به پسیل در مقابل هوای پاک، (۷) پرتقال والنسیای کمپل آلوده به پسیل در مقابل هوای پاک، و (۸) گریپ‌فروت مارش آلوده به پسیل در مقابل هوای پاک.

پاسخ رفتاری زنبور پارازیتویید *T. radiata* به ترکیبات فرار رهاشده از مراحل مختلف رشدی پسیل آسیایی مرکبات در حضور یا عدم حضور محرک‌های شیمیایی گیاهان میزبان

به‌منظور تعیین نقش محرک‌های شیمیایی پسیل آسیایی مرکبات، به‌تنهایی و در ترکیب با ترکیبات فرار گیاهی (HIPVs)، در جلب زنبور پارازیتویید به سمت آفت، پاسخ ۳۰ حشره‌ی نر و ۳۰ حشره‌ی ماده به تیمارهای زیر مورد بررسی قرار گرفت: (۱) ۲۰ پوره‌ی سنین ٥-٤ پسیل، (۲) ۲۰ حشره‌ی نر پسیل، (۳) ۲۰ حشره‌ی ماده‌ی پسیل، (٤) ۱۰ میلی‌گرم از عسلک ترشح‌شده توسط پسیل، (٥) عسلک ترشح‌شده به‌همراه برگ‌های نارنج آلوده در مقابل هوای پاک، (٦) عسلک ترشح‌شده به‌همراه برگ‌های لیمو مکزیکی آلوده در مقابل هوای پاک، (۷) عسلک ترشح‌شده به‌همراه برگ‌های پرتقال والنسیای کمپل آلوده در مقابل هوای پاک، (۸) عسلک ترشح‌شده به‌همراه برگ‌های گریپ‌فروت مارش آلوده در مقابل هوای پاک، (۹) ۲۰ پوره‌ی پسیل آسیایی مرکبات به‌همراه برگ‌های نارنج آلوده در مقابل هوای پاک، (۱۰) ۲۰ پوره‌ی پسیل آسیایی مرکبات به‌همراه برگ‌های لیمو مکزیکی آلوده در مقابل هوای پاک، (۱۱) ۲۰ پوره‌ی پسیل آسیایی مرکبات به‌همراه برگ‌های پرتقال والنسیای کمپل آلوده در مقابل هوای پاک، (۱۲) ۲۰ پوره‌ی پسیل آسیایی مرکبات به‌همراه برگ‌های گریپ‌فروت مارش آلوده در مقابل هوای پاک، (۱۳) حشرات بالغ پسیل آسیایی مرکبات (۱۰ حشره‌ی نر به‌همراه ۱۰ حشره‌ی ماده) به‌همراه برگ‌های نارنج آلوده در مقابل هوای پاک، (۱٤) حشرات بالغ پسیل آسیایی مرکبات (۱۰ حشره‌ی نر به‌همراه ۱۰ حشره‌ی ماده) به‌همراه برگ‌های لیمو مکزیکی آلوده در مقابل هوای پاک، (۱٥) حشرات بالغ پسیل آسیایی مرکبات (۱۰ حشره‌ی نر به‌همراه ۱۰ حشره‌ی ماده) به‌همراه برگ‌های پرتقال والنسیای کمپل آلوده در مقابل هوای پاک، و (۱٦) حشرات بالغ پسیل آسیایی مرکبات (۱۰ حشره‌ی نر به‌همراه ۱۰ حشره‌ی ماده) به‌همراه برگ‌های گریپ‌فروت مارش آلوده در مقابل هوای پاک.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های حاصل از آزمایش‌ها، با آزمون کای مربع (Chi-Square) و با استفاده از نرم‌افزار SAS 3.1 مقایسه شدند. فرض صفر مورد آزمون برای داده‌های هر تکرار، همانند داده‌های کل هر آزمایش، انتخاب ۵۰:۵۰ حشرات مورد آزمایش نسبت به تیمار یا کنترل بود.

نتایج و بحث

پاسخ رفتاری زنبور پارازیتویید *T. radiata* به ترکیبات فرار برگ‌های سبز و ترکیبات فرار القایی

نتایج مشخص کرد که حشرات ماده‌ی زنبور پارازیتویید، به محرک‌های شیمیایی متصاعدشده از تیمارهای نارنج سالم، لیمو مکزیکی سالم، پرتقال والنسیای کمپل سالم، گریپ‌فروت مارش سالم، نارنج آلوده به پسیل، لیمو مکزیکی آلوده به پسیل، پرتقال والنسیای کمپل آلوده به پسیل و گریپ‌فروت مارش

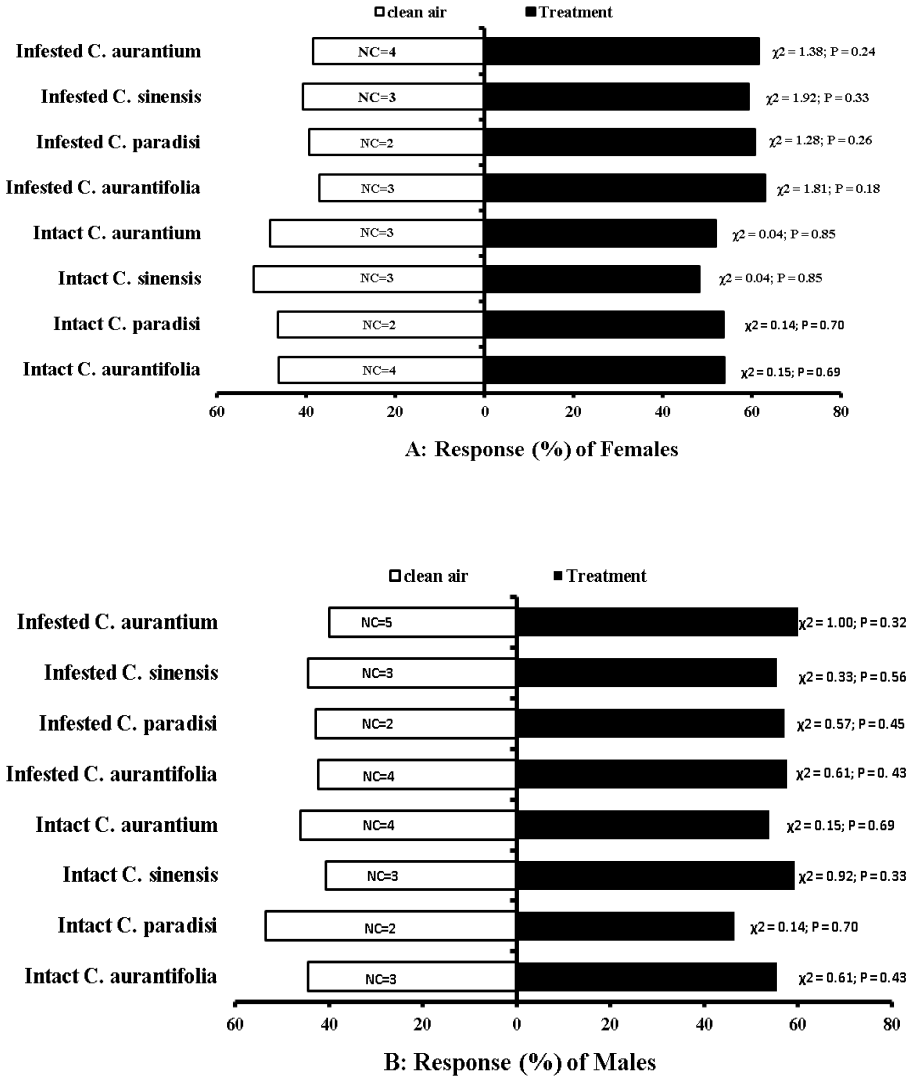
آلوده به پسیل جلب نشدند و رفتار آن‌ها تحت تاثیر این رایحه‌ها قرار نگرفت (شکل A-۱). پاسخ حشرات نر زنبور پارازیتویید هم مشابه رفتار حشرات ماده بود (شکل B-۱) و به تیمارهای فوق پاسخ معنی‌داری نشان ندادند. نتایج به‌دست آمده از این قسمت از پژوهش با نتایج پژوهش Mann *et al.* (2010) که پاسخ زنبور پارازیتویید *T. radiata* را به گیاهان سالم و آلوده به پسیل، شامل پرتقال جاسمین، *Murraya paniculata*، و پرتقال هاملین بررسی کردند، مطابقت دارد.

پاسخ رفتاری زنبور پارازیتویید *T. radiata* به محرک‌های شیمیایی مراحل مختلف رشدی پسیل آسیایی مرکبات در حضور یا عدم حضور گیاهان میزبان

وقتی که محرک‌های شیمیایی مراحل مختلف رشدی پسیل آسیایی مرکبات به‌تنهایی ارزیابی گردید، نتایج نشان داد که حشرات ماده‌ی بالغ زنبور پارازیتویید، به‌طور معنی‌داری فقط جلب پوره‌های پسیل شدند (شکل A-۲) و رفتار آن‌ها تحت تأثیر محرک‌های شیمیایی حشرات نر بالغ پسیل، حشرات ماده‌ی بالغ پسیل و نیز عسلک ترشح‌شده توسط پسیل آسیایی مرکبات قرار نگرفت و جلب آن‌ها نشدند. رفتار حشرات نر زنبور پارازیتویید تحت تأثیر محرک‌های شیمیایی هیچ‌کدام از تیمارهای پوره‌های پسیل آسیایی مرکبات، عسلک ترشح‌شده توسط پسیل، حشرات ماده‌ی بالغ پسیل و حشرات نر بالغ پسیل قرار نگرفت (شکل B-۲). هنگامی‌که محرک‌های شیمیایی پسیل آسیایی مرکبات به‌همراه محرک‌های شیمیایی گیاهان آلوده مورد ارزیابی قرار گرفتند (شکل ۳)، حشرات ماده‌ی زنبور پارازیتویید به‌طور معنی‌داری جلب تیمارهای پوره‌های پسیل به‌همراه هرکدام از، برگ‌های آلوده‌ی نارنج، برگ‌های آلوده‌ی لیمو مکزیکی، برگ‌های آلوده‌ی پرتقال والنسیای کمپبل و برگ‌های آلوده‌ی گریپ‌فروت مارش؛ و حشرات کامل پسیل به‌همراه برگ‌های آلوده‌ی نارنج، برگ‌های آلوده‌ی لیمو مکزیکی، برگ‌های آلوده‌ی پرتقال والنسیای کمپبل و برگ‌های آلوده‌ی گریپ‌فروت مارش شدند. اما محرک‌های شیمیایی عسلک ترشح‌شده توسط پسیل آسیایی مرکبات به‌همراه گیاهان آلوده‌ی نارنج، لیمو مکزیکی، پرتقال والنسیای کمپبل و گریپ‌فروت مارش برای حشرات ماده‌ی زنبور پارازیتویید جذابیتی نداشتند.

رفتار حشرات نر زنبور پارازیتویید تحت تأثیر ترکیبات فرار ناشی‌شده از هیچ‌کدام از تیمارهای پوره‌های پسیل به‌همراه گیاهان آلوده‌ی نارنج، لیمو مکزیکی، پرتقال والنسیای کمپبل و گریپ‌فروت مارش؛ حشرات کامل پسیل به‌همراه گیاهان آلوده‌ی نارنج، لیمو مکزیکی، پرتقال والنسیای کمپبل و گریپ‌فروت مارش؛ و نیز محرک‌های شیمیایی عسلک ترشح‌شده توسط پسیل آسیایی مرکبات به‌همراه گیاهان آلوده‌ی فوق قرار نگرفت و حشرات نر پارازیتویید جلب آن‌ها نشدند.

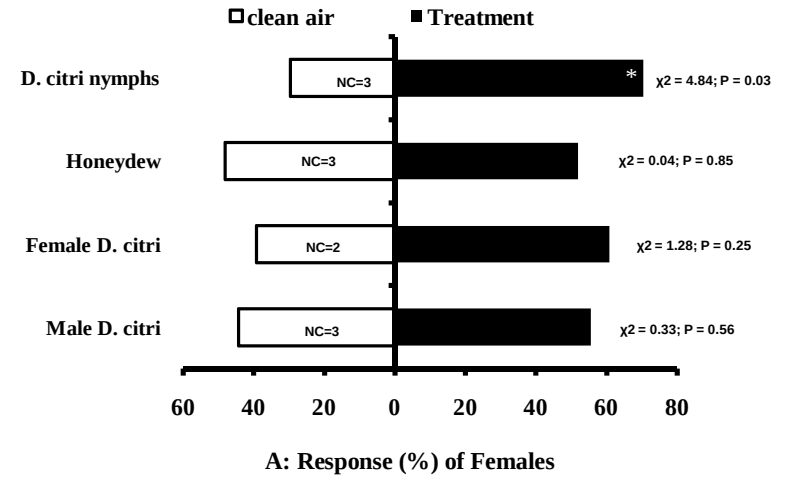
نتایج به‌دست آمده از قسمت فوق با نتایج تحقیقات Mann *et al.* (2010) مطابقت دارد. این محققین نیز گزارش نمودند که حشرات ماده‌ی زنبور پارازیتویید *T. radiata* جلب محرک‌های شیمیایی پوره‌ی پسیل آسیایی مرکبات، به‌تنهایی و نیز به‌همراه محرک‌های شیمیایی گیاهان میزبان، می‌شوند. این نتایج نشان می‌دهد که پاسخ بویایی حشرات نر و ماده‌ی زنبور پارازیتویید *T. radiata* به ترکیبات فرار متفاوت است، و این تفاوت، با دوشکلی جنسی ساختمان گیرنده‌های شاخک آن‌ها ارتباط دارد (Onagbola *et al.*, 2009). پنج نوع موی حسی، شامل دو موی تریکوئیدی بدون منفذ (AST-1 و AST-2)، یک موی تریکوئیدی چندمنفذی (MST)، یک موی پلاکوئیدی چندمنفذی (MPS) و یک موی بدون منفذ basiconic capitate peg روی شاخک حشرات نر و ماده‌ی این پارازیتویید شناسایی شده است

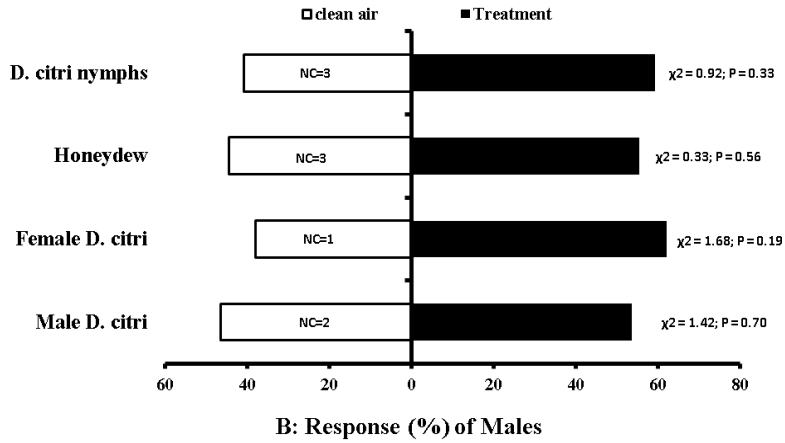


شکل ۱- پاسخ زنبور پارازیتویید ماده (A) و نر (B) *Tamarixia radiata* به محرک‌های شیمیایی برگ‌های سبز و ترکیبات فرار القایی چهار رقم از مرکبات (N = ۳۰).

Fig. 1. Response of female (A) and male (B) *Tamarixia radiata* to green leaf chemical cues and herbivore-induced plant volatiles (HIPVs) from four varieties of rutaceous plants (N = 30).

(Onagbola *et al.*, 2009). موهای پلاکوئیدی چندمنفذی روی شاخک حشرات ماده به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از حشرات نر است. این موها در تشخیص ترکیبات شیمیایی میزبان نقش دارند (Onagbola *et al.*, 2009). در مقایسه با زنبورهای ماده، زنبورهای نر *T. radiata* تعداد زیادی موی تریکوئیدی چندمنفذی بزرگ و پهن در شاخک خود دارند (Onagbola *et al.*, 2009). نقش این موها شناسایی و تشخیص فرومون‌های جنسی تولیدشده توسط حشرات ماده است (Pettersson *et al.*, 2001; Onagbola & Fadamiro, 2008). نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده‌ی این است که حشرات نر زنبور *T. radiata* از اطلاعات شیمیایی وابسته به میزبان برای یافتن محل

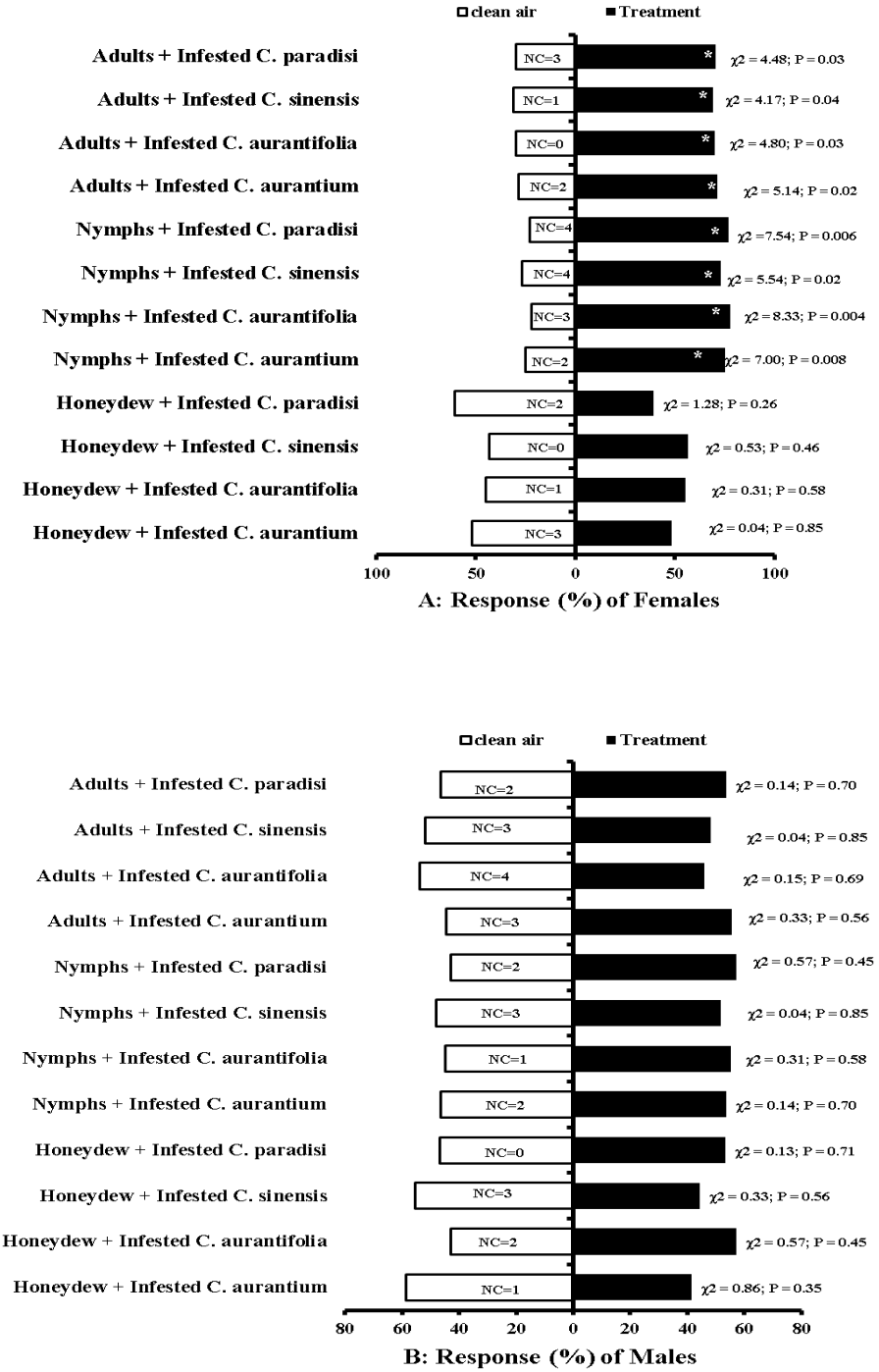




شکل ۲- پاسخ زنبور پارازیتویید ماده (A) و نر (B) *Tamarixia radiata* به محرک‌های شیمیایی مراحل مختلف پسیل آسیایی مرکبات، *Diaphorina citri* (N = ۳۰). * نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون کای مربع می‌باشد ($P < 0.05$).

Fig. 2. Response of female (A) and male (B) *Tamarixia radiata* to chemical cues that emanating from various stages of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (N = 30). * Indicates significant difference by Chi-Square test ($P < 0.05$).

جفت‌گیری استفاده نمی‌کنند. همچنین، این نتایج نشان می‌دهد که حشرات ماده‌ی این زنبور در مرحله‌ی اول میزبان‌یابی خود از علایم بویایی میزبان استفاده می‌کنند، به‌طوری‌که پوره‌های پسیل آسیایی مرکبات اولین منبع جذب‌کننده‌ی زنبور پارازیتویید هستند. به‌طورکلی، محرک‌هایی که به‌طور مستقیم از خود گیاه‌خواران متصاعد می‌شوند، منبع قابل اعتمادتری از اطلاعات را برای میزبان‌یابی پارازیتوییدها فراهم می‌کنند (Vet & Dicke, 1992) و شاید این دلیلی باشد برای جلب زنبورهای پارازیتویید به پوره‌های پسیل آسیایی مرکبات. بااین‌حال، اطلاعات شیمیایی ممکن است از تولیدات میزبان (عسلک، پوسته)، گیاهان، و یا از



شکل۳- پاسخ زنبور پارازیتویید ماده (A) و نر (B) *Tamarixia radiata* به محرک‌های شیمیایی مراحل مختلف رشدی پسیل آسیایی مرکبات، *Diaphorina citri*، به‌همراه محرک‌های شیمیایی گیاهان میزبان (N = ۳۰). * نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون کای مربع می‌باشد ($P < 0.05$).

Fig. 3. Response of female (A) and male (B) *Tamarixia radiata* to chemical cues from various stages of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, together with host plant chemical cues (N = 30). * Indicates significant difference by Chi-Square test ($P < 0.05$)

برهم‌کنش بین آن‌ها منشاء گیرند (Vinson, 1998, 1991; Vet & Dicke, 1992; Steiner *et al.*, 2007).

در پژوهش حاضر مشخص شد که ترکیبات فرار متصاعدشده از گیاهان سالم و یا گیاهان آسیب‌دیده توسط پسیل آسیایی مرکبات، به‌تنهایی باعث جلب زنبور پارازیتویید نمی‌شوند، اما تغذیه‌ی پوره یا حشره‌ی کامل روی گیاهان میزبان موجب واکنش مثبت و جلب زنبور پارازیتویید می‌گردد. رایحه‌های القایی گیاه طی یک فرآیند فعال، و در اثر تزریق مواد القاکننده‌ای که معمولاً در بزاق یا مایع تخم‌ریزی حشرات گیاه‌خوار وجود دارد، در گیاه تولید می‌شوند و تولید آن‌ها ارتباط مستقیمی با آسیب‌های فیزیکی و مکانیکی گیاه ندارد (Pare & Tumlinson, 1999). لذا مواد فراری که در اثر تغذیه‌ی هم‌زمان حشره‌ی کامل یا پوره از برگ گیاهان میزبان متصاعد می‌گردد، از لحاظ کمی و کیفی با رایحه‌ای که پس از قطع شدن تغذیه‌ی حشره‌ی کامل یا پوره متصاعد می‌گردد، می‌تواند متفاوت باشد و از نظر کمی هم، کمیت آن‌ها کاهش می‌یابد و در سطح پایین‌تری متصاعد می‌شوند. این می‌تواند دلیلی بر عدم پاسخ حشرات ماده‌ی این زنبور پارازیتویید به گیاهانی که از قبل آلوده شده بودند و در همان لحظه روی آن‌ها تغذیه‌ای رخ نمی‌داد، باشد. از سویی دیگر باتوجه به اینکه محرک‌های شیمیایی حشرات بالغ پسیل آسیایی، به‌تنهایی قدرت جلب زنبور پارازیتویید را نداشتند، لذا یکی از دلایل اصلی آن نقش ترکیبات فرار القایی (HIPVs) می‌باشد که در مورد سایر پارازیتوییدها نیز مشاهده گردیده است (Vinson, 1991). ازطرفی، تغذیه‌ی توأم پوره‌های پسیل آسیایی مرکبات روی برگ‌های گیاهان میزبان، برای زنبورهای پارازیتویید نسبت به پوره‌های پسیل به‌تنهایی دارای جذابیت بیش‌تری بود و این نشان‌دهنده‌ی اثر سینرژیستی ترکیبات فرار متصاعدشده از برهم‌کنش بین گیاه و گیاه‌خوار و نقش ترکیبات فرار القایی است. استفاده از سیگنال‌های شیمیایی یک روش متداول و معمولی برای یافتن جفت و میزبان به‌وسیله‌ی زنبورهای پارازیتویید است (Vinson, 1991; Ayasse *et al.*, 2001). به‌طورکلی، بال‌غشاییان رفتارهای پیچیده و بسیار متنوعی در پراکندگی، جفت‌گیری و ترشح ترکیبات شیمیایی خارجی از خود نشان می‌دهند (Ayasse *et al.*, 2001). زنبورها فرومون‌ها را به‌وسیله‌ی موهای بویایی ویژه‌ای که روی شاخک‌هایشان قرار دارد، دریافت می‌کنند (Isidoro *et al.*, 1996; Ayasse *et al.*, 2001). فرومون‌ها و ترکیبات فرار گیاهان ممکن است به‌وسیله‌ی موهای روی شاخک زنبور *T. radiata* شناسایی شوند (Onagbola *et al.*, 2009). ماهیت و کمیت ترکیبات رایحه‌های القایی براساس گونه و رقم زراعی گیاه، می‌تواند متفاوت باشد. انتخاب واریته‌هایی از گیاه که پس از آسیب ناشی از گیاه‌خواران، خاصیت جلب‌کنندگی بیش‌تری برای دشمنان طبیعی داشته باشند و اصلاح ژنتیکی گیاهان در این جهت می‌تواند کارآیی استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک را برای کنترل آفات هرچه بیش‌تر افزایش دهد. شناسایی، سنتز و استفاده از ترکیبات فرار جلب‌کننده‌ی پارازیتوییدها می‌تواند ایده‌ی جالبی برای حفاظت از محصولات کشاورزی باشد. این راهبرد در کنترل آفات باعث عدم پراکنده شدن و کاهش در زمان جستجوگری عوامل کنترل بیولوژیک برای یافتن طعمه‌ی مناسب خود می‌شود، که افزایش کارآیی عوامل کنترل بیولوژیک را به‌همراه خواهد داشت. از سویی باتوجه به اینکه اکثراً پرورش پارازیتوییدها روی میزبان اصلی صورت نمی‌گیرد، لذا یکی از مشکلات اساسی در پرورش انبوه پارازیتوییدها برای استفاده از آن‌ها در کنترل بیولوژیک، ناکارآیی آن‌ها در جستجوی موفق طعمه پس از رهاسازی می‌باشد. باتوجه به اینکه بسیاری از زنبورهای پارازیتویید از

علایم بویایی برای یافتن زیستگاه میزبان و نیز یافتن خود میزبان استفاده می‌کنند (Vinson, 1981)، لذا شرطی کردن پارازیتوییدها در مراحل پرورش به‌وسیله‌ی علایم شیمیایی مرتبط با میزبان یکی از راهکارهای ارزنده در برنامه‌های کنترل بیولوژیک است.

زنبور پارازیتویید *T. radiata* از پتانسیل بالایی جهت کنترل پسیل آسیایی مرکبات برخوردار است، لذا شناسایی تمایلات و ارزیابی ترکیبات جلب‌کننده‌ی این پارازیتویید در برنامه‌های کنترل بیولوژیک کمک شایانی برای کنترل پسیل آسیایی مرکبات ایفا می‌کند. اطلاعات تکمیلی در زمینه‌ی شناسایی ترکیبات جلب‌کننده‌ی زنبور پارازیتویید علاوه‌بر کمک به درک هرچه بیش‌تر روابط اکولوژیکی، در یک برهم‌کنش سه‌سطحی بین گیاه-گیاه‌خوار-پارازیتویید می‌تواند منجر به افزایش کارآیی پارازیتویید در برنامه‌های کنترل بیولوژیک گردد.

منابع

Aubert, B. & Quilici, S. (1984) Biological control of the African and Asian citrus psyllids (Homoptera: Psylloidea), through eulophid and encyrtid parasites (Hymenoptera: Chalcidoidea) in Reunion Island. *Proceeding of the 9th Conference of the International Organization of Citrus Virologists University of California, Riverside*, 100-108.

Ayasse, M., Paxton, R. & Tengo, J. (2001) Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 46, 31-78.

Bové, J. M. (2006) Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology* 88, 7-37.

Catling, H. (1970) Distribution of the psyllid vectors of citrus greening disease, with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri*. *Food and Agriculture Organization Plant Protection Bulletin* 18, 8-15.

Dicke, M., Gols, R., Ludeking, D. & Posthumus, M. A. (1999) Jasmonic acid and herbivory differentially induce carnivore-attracting plant volatiles in lima bean plants. *Journal of Chemical Ecology* 25, 1907-1922.

Dicke, M. & Grostal, P. (2001) Chemical detection of natural enemies by arthropods: an ecological perspective. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32, 1-23.

Faghihi, M., Salehi, M., Bagheri, A. & Izadpanah, K. (2009) First report of citrus huanglongbing disease on orange in Iran. *Plant Pathology* 58, 793-793.

Halbert, S. E. & Manjunath, K. L. (2004) Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist* 87, 330-353.

Hoy, M., Nguyen, R. & Jeyaprakash, A. (2001) Classical biological control of Asian citrus psyllid in Florida. *Citrus Industry* 81, 48-50.

Isidoro, N., Bin, F., Colazza, S. & Vinson, S. B. (1996) Morphology of antennal gustatory sensilla and glands in some parasitoid Hymenoptera with hypothesis on their role in sex and host recognition. *Journal of Hymenoptera Research* 5, 206-239.

Mann, R. S., Qureshi, J. A., Stansly, P. A. & Stelinski, L. L. (2010) Behavioral response of *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) to volatiles emanating from *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) and citrus. *Journal of Insect Behavior* 23, 447-458.

Onagbola, E. O., Boina, D. R., Hermann, S. L. & Stelinski, L. L. (2009) Antennal sensilla of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Annals of the Entomological Society of America* 102, 523-531.

Onagbola, E. O. & Fadamiro, H. Y. (2008) Scanning electron microscopy studies of antennal sensilla of *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Micron* 39, 526-535.

Pare, P. W. & Tumlinson, J. H. (1999) Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiology* 121, 325-332.

Pettersson, E., Hallberg, E. & Birgersson, G. (2001) Evidence for the importance of odour-perception in the parasitoid *Rhopalicus tutela* (Walker) (Hym., Pteromalidae). *Journal of Applied Entomology* 125, 293-301.

Qureshi, J. A. & Stansly, P. A. (2009) Exclusion techniques reveal significant biotic mortality suffered by Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations in Florida citrus. *Biological Control* 50, 129-136.

Sabelis, M., Janssen, A., Pallini, A., Venzon, M., Bruin, J., Drukker, B. & Scutareanu, P. (1999) Behavioural responses of predatory and herbivorous arthropods to induced plant volatiles: from evolutionary ecology to agricultural applications. pp. 269-296 in Agrawal, A. A., Tuzun, S. & Bent, E. (Eds) *Induced plant defenses against pathogens and herbivores*: *biochemistry*, *ecology*, *and agriculture*. 390 pp. American Phytopathological Society, USA.

Steiner, S., Erdmann, D., Steidle, J. L. M. & Ruther, J. (2007) Host habitat assessment by a parasitoid using fungal volatiles. *Frontiers in Zoology* 4, 125-142.

Tiwari, S., Mann, R. S., Rogers, M. E. & Stelinski, L. L. (2011) Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. *Pest Management Science* 67, 1258-1268.

Vet, L. E. M. & Dicke, M. (1992) Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology* 37, 141-172.

Vinson, S. B. (1981) Habitat location. pp. 51-78 in Nordlund, D. A., Jones, R. L. & Lewis, W. J. (Eds) *Semiochemicals*: *their role in pest control*. 306 pp. Wiley, NewYork.

Vinson, S. B. (1991) Chemical signals used by parasitoids. *Redia* 74, 15-42.

Vinson, S. B. (1998) The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. *Biological Control* 11, 79-96.

Visser, J. (1986) Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 31, 121-144.