Journal of Entomological Society of Iran
https://jesi.areeo.ac.ir
Entomological Society of Iran
2023,43 (1), 1-10
Research Article
https://doi.org.10.52547/jesi.43.1.1
pISSN: 0259-9996
eISSN: 2783-3968
OPEN ACCESS

ارزیابی عملکرد زنبور تک‌جنسی *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae) آلوده به باکتری *Wolbachia* در شرایط گلخانه و مزرعه

شهرام فرخی[1]، همت دادپور مغانلو[2]، جلال شیرازی[1] و محمدرضا عطاران[2]

۱- بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
shahram.farrokhi@gmail.com https://orcid.org/0000-0002-3056-0610
jalal.shirazi@ gmail.com https://orcid.org/0000-0001-9303-8056
۲- آزمایشگاه تحقیقات کنترل بیولوژیک آمل، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
dadpour@ gmail.com https://orcid.org/0000-0002-4761-5331
attaran2000@yahoo.com https://orcid.org/0000-0003-1735-4967

چکیده: برخی از گونه‌های زنبور تریکوگراما، دارای نوعی همزیستی با باکتری *Wolbachia* هستند که باعث القاء بکرمادەزایی در آنها می‌شود. جمعیت‌هایی از این زنبور پارازیتوئید تخم آفات که نتاج ماده بیشتری تولید می‌کنند، می‌توانند بالقوه از توان بالاتری برخوردار باشند. پس از شناسایی یک جمعیت بومی آلوده به باکتری ولباکیا در زنبور *Trichogramma brassicae*، بررسی‌هایی به منظور ارزیابی توانایی‌های جمعیت تک‌جنسی آلوده به باکتری (A) در قیاس با جمعیت‌های دوجنسی طبیعی (B) و تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک (CB) این گونه در شرایط گلخانه و مزرعه انجام شد. مقایسه قدرت پراکنش و پارازیتیسم جمعیت‌های تک‌جنسی و دوجنسی طبیعی روی ذرت علوفه‌ای (SC704) در شرایط گلخانه نشان داد که از نظر میانگین تعداد تخم و دسته تخم پارازیته به ازاء یک زنبور ماده، تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌های مورد آزمایش وجود ندارد. اما با رهاسازی تعداد مساوی زنبور از هر جمعیت (۱۰۰ عدد زنبور شامل افراد نر در جمعیت دوجنسی)، تعداد دسته تخم پارازیت شده توسط زنبور تک‌جنسی (۷/۵۷ عدد) بیشتر از جمعیت‌های دوجنسی (۴/۵۰ و ۴/۹۷) برآورد شد. در شرایط مزرعه ذرت نیز با وجود معنی‌دار نبودن تفاوت بین سه جمعیت مورد نظر، بیشترین تعداد دسته تخم و تخم‌های پارازیت شده از رهاسازی زنبور ماده‌زای تک‌جنسی (A) به میزان ۱/۹۴±۰/۲۱ دسته تخم، ۷/۲۶±۱/۲ تخم پارازیته و در دو جمعیت دیگر (B و CB) به ترتیب ۱/۵۶±۰/۳۹، ۵/۴۶±۱/۹۹ و ۱/۶±۰/۳۱، ۵/۸۲±۱/۹۶ به دست آمد. در مجموع چنین نتیجه‌گیری می‌شود که استفاده از این لاین تک‌جنسی زنبور *T. brassicae*، می‌تواند علاوه بر کاهش هزینه‌های تولید، عملکرد این عامل کنترل بیولوژیک را در سطح مزرعه افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: جمعیت ماده‌زا، تریکوگراما، باکتری ولباکیا، پارازیتیسم، پراکنش، ذرت

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸
پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۵
دبیر تخصصی: یعقوب فتحی‌پور

Citation: Farrokhi, S., Dadpour Moghanloo, H., Shirazi, J. & Attaran, M. R. (2023) Evaluation of asexual *Wolbachia*-infected *Trichogramma brassicae* performance in greenhouse and field conditions. *J. Entomol. Soc. Iran* 43 (1), 1-10.

مقدمه

باکتری *Wolbachia* در تعداد زیادی از گونه‌های زنبور تریکوگراما به عنوان عامل القاء بکرماده‌زایی (Thelytokous Parthenogenesis Inducing: PI) شناخته شده است (Stouthamer *et al.*, 1990). غیر از این حالت، تنها در گونه *Trichogramma cacoeciae* (Marchal) است که ماده‌زایی منشأ ژنتیکی داشته، نرها بسیار نادر بوده و حتی با پرورش افراد ماده در دمای بالا و یا استفاده از آنتی‌بیوتیک، تولید مثل آن‌ها به حالت نرزایی (arrhenotoky) تبدیل نمی‌شود (Pinto & Stouthamer, 1994). این باکتری همزیست درون سیتوپلاسمی علاوه بر انتقال عمودی از نسلی به نسل دیگر، ممکن است به‌صورت افقی درون و بین‌گونه‌ای نیز می‌تواند منتقل شود (Farrokhi *et al.*, 2010a؛ Huigens *et al.*, 2000؛ Stouthamer, 1997). در بین زنبورهای تریکوگرامای شناخته شده در ایران، *Trichogramma brassicae* Bezd. به عنوان گونه غالب در کل کشور معرفی شده (Ebrahimi *et al.*, 1998) و ماده‌زایی در جمعیت‌هایی از این گونه بر اثر آلودگی به باکتری ولباکیا (*Wolbachia*) به اثبات رسیده است (Farrokhi *et al.*, 2012).

اهمیت و تأثیر بسیار زیاد انتخاب مؤثرترین گونه یا سوش زنبور تریکوگراما بر میزان موفقیت آن، به عنوان یک اصل اساسی در کنترل بیولوژیک پذیرفته شده است (Hassan, 1990؛ Smith, 1996). فرضیه‌هایی نیز مبنی بر مزیت‌های استفاده از گونه‌ها یا جمعیت‌های تک‌جنسی زنبورهای پارازیتوئید در رهاسازی علیه یک آفت وجود دارد (Aeschlimann, 1990؛ Stouthamer, 1993 & 2003). پژوهش‌هایی که در زمینه بررسی نوع همزیستی باکتری و اثرات آن روی

Corresponding author: Shahram Farrokhi (E-mail: shahram.farrokhi@gmail.com)

© 2023 by Author(s), Published by the Entomological Society of Iran
This Work is Licensed under Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International Public License.

شایستگی (fitness) میزبان صورت گرفته، حاکی از اثرات بسیار متفاوت این باکتری روی تولید مثل زنبورهای تریکوگراما می‌باشد. در بیشتر موارد، به ویژه در جمعیت‌های مختلط (mixed) اثر منفی و یا بی‌تأثیر بودن این نوع همزیستی گزارش شده است. همچنین گزارش‌هایی نیز در مورد گونه‌های کاملاً آلوده مبنی بر اثرات مثبت *Wolbachia* روی میزان باروری، طول‌عمر در شرایط عدم حضور میزبان، درصد خروج، قدرت پراکنش در شرایط گلخانه و نرخ پارازیتیسم وجود دارد (اقتباس از: Pintureau *et al.* (2002) و Farrokhi (2010)).

بهترین و عملی‌ترین روش برای ارزیابی اثر آلودگی باکتری *Wolbachia* بر تولید نتاج و میزان باروری میزبان، حذف نمودن باکتری از جمعیت و ایجاد لاین عاری از آلودگی است. گر چه به دلیل اثرات جانبی آنتی بیوتیک و حتی پرورش در دماهای بالا، دقیق‌ترین شیوه مقایسه پتانسیل های مختلف زیستی یک جمعیت غیرآلوده و لاین آلوده حاصل از انتقال افقی باکتری به همان جمعیت می‌باشد. در زمینه مقایسه ویژگی‌های زیستی جمعیت های تریکوگراما ی آلوده و غیرآلوده به ولباکیا، بررسی‌های نسبتا خوبی در شرایط آزمایشگاهی انجام شده، اما تا پیش از این پژوهشی در شرایط مزرعه در این خصوص انجام نشده بود (Stouthamer & Luck, 1993؛ Silva *et al.*, 2000؛ Hohmann *et al.*, 2001؛ Pintureau *et al.*, 2003؛ Almeida, 2004؛ Huigens *et al.*, 2004؛ Miura & Tagami, 2004؛ Farrokhi, 2010؛ Kishani Farahani *et al.*, 2015). به همین منظور، این پژوهش با هدف تکمیل آزمایش های قبلی و مقایسه کارایی جمعیت‌های غیرآلوده و آلوده زنبور *Trichogramma brassicae* به باکتری، در شرایط گلخانه و مزرعه طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

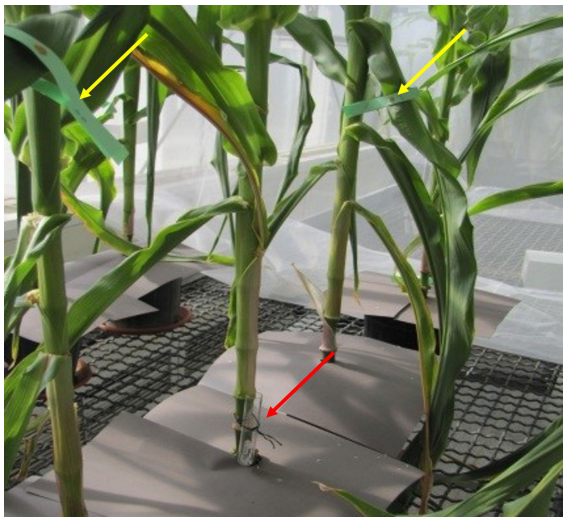
جمع‌آوری زنبور تریکوگراما و ایجاد جمعیت‌های دوجنسی و تک‌جنسی آلوده به *Wolbachia*. در این پژوهش از زنبور تریکوگرا مای جمعیت بابلسر، که پیش از این جمع‌آوری و به روش ماده انفرادی (isofemale) ایجاد شده بود، استفاده شد. نام علمی این زنبور بر اساس صفات مرفولوژیک (Ebrahimi *et al.*, 1998)، و همچنین با استفاده از روش مولکولی (Stouthamer *et al.*, 1990؛ Silva, 1999؛ Farrokhi, 2010)، *Trichogramma brassicae* Bezd. تعیین شده بود.

برای ارزیابی اثر باکتری ولباکیا و مقایسه برخی ویژگی‌های جمعیت‌های دوجنسی و مادهزا، سه جمعیت خالص شده زنبور *T. brassicae* بابلسر، با استفاده از اختصاری A (Asexual)، B (Bisexual) و CB (Cured Bisexual) ایجاد شد (Farrokhi *et al.*, 2012). در جمعیت B تولیدمثل دوجنسی به صورت طبیعی وجود داشت و جمعیت دوجنسی CB با استفاده از آنتی‌بیوتیک درمانی، از لاین A که آلوده به PI-*Wolbachia* بود، بوجود آمد. به این منظور به مدت چهار نسل زنبورهای ماده آلوده به باکتری (A) با آب و عسل آغشته به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین هیدروکلراید (SIGMA) به نسبت ۵۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر، تغذیه (Tagami *et al.*, 2002) و در شرایط آزمایشگاه (۲۱±۱ °C، رطوبت‌نسبی۱۰±۶۰ درصد و دوره روشنایی به تاریکی ۱۶:۸) پرورش داده شدند. به‌منظور جلوگیری از تاثیر احتمالی آنتی‌بیوتیک، همه آزمایش‌ها از نسل چهارم به بعد انجام شد.

تعیین قابلیت‌های جمعیت تک‌جنسی (مادهزا) *Trichogramma brassicae* در شرایط گلخانه. برای تهیه بوته‌های سالم و هم سن، بذر ذرت علوفه‌ای (Single Cross 704) در گلدان‌هایی به قطر ۲۲ سانتی‌متر در شرایط گلخانه (۳±۲۳ °C و رطوبت نسبی ۱۵±۵۰ درصد) کاشته شد. پس از ۱۰–۸ برگی شدن بوته‌ها، برای هر تیمار ۱۵ بوته ذرت در پنج ردیف سه‌تایی به نحوی روی سکوهای محصور شده با توری قرار داده شدند که با اتصال برگ‌ها انتقال زنبورها به بوته مجاور از طریق راه رفتن نیز امکان‌پذیر باشد. گلدان میانی که در مرکز هر دسته قرار داشت به عنوان محل رهاسازی در نظر گرفته شد (شکل ۱ و شکل ۳). به غیر از بوته میانی، روی هر یک از بوته‌ها ۳ عدد کارت کاغذی نواری شکل سبز رنگ شامل ۲ دسته تخم بید غلات قرار داده شد، به طوری که دسته‌های تخم ۱۵۰ تایی در دو سطح رویی و زیرین برگ قرار می‌گرفتند. برای ایجاد یکنواختی و کاهش تلفات احتمالی زنبورها، سطح تمام گلدان‌ها با مقوا های ۳۰×۳۰ سانتی‌متر پوشانده شد (شکل ۱). رهاسازی زنبور *T. brassicae* در سه تیمار A، B و CB، به طور همزمان و نهایتا در پنج تکرار انجام شد. با توجه به میانگین درصد خروج و نسبت جنسی زنبورهای مادهزا (A) و دوجنسی (B و CB)، تعداد زنبور ماده رهاسازی شده برای هر سه تیمار تا حد ممکن یکنواخت در نظر گرفته شد (۵۳۵ عدد). نوارهای کاغذی طعمه ۴۸ ساعت پس از رهاسازی زنبورها جمع‌آوری و به تفکیک هر بوته و تیمار تا سیاه شدن تخم‌های پارازیته در لوله‌های آزمایش و داخل انکوباتور نگهداری شدند. پس از تبدیل داده‌های به‌دست آمده به روش جذری $(\sqrt{x+0.5})$، درصد پارازیتیسم محاسبه شد. سپس داده ها برای مقایسه آماری بر پایه طرح کاملاً تصادفی در نرم‌افزار SAS (نسخه 6.2) به روش GLM تجزیه و تحلیل شدند.

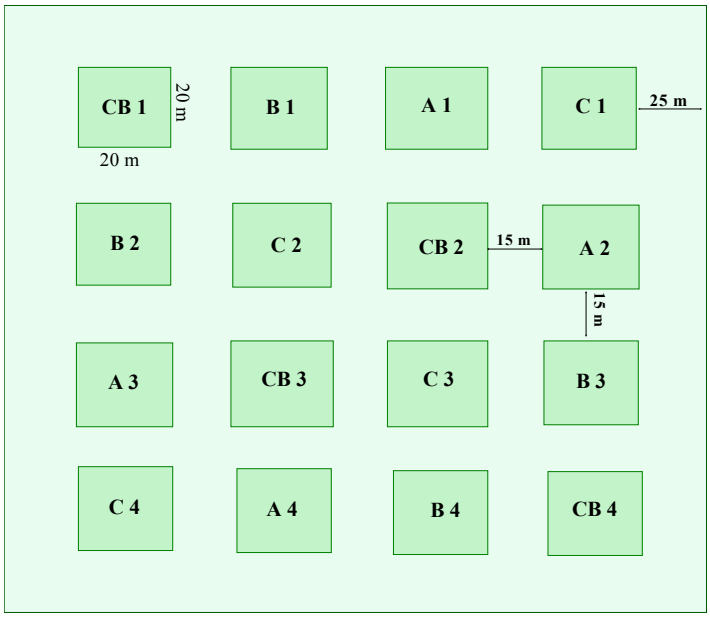
تعیین عملکرد جمعیت مادهزا (تک‌جنسی) زنبور تریکوگراما در شرایط مزرعه. برای این‌منظور قطعه‌ای به وسعت ۳۵۰۰ مترمربع از مزرعه ذرت علوفه‌ای (SC 704) شرکت زراعی دشت ناز ساری انتخاب، و با حذف تعدادی از بوته‌ها در ردیف‌های حاشیه‌ای، کرت‌هایی در داخل ۴ بلوک مشخص شد (شکل ۲). در هر بلوک چهار تیمار شامل رهاسازی جمعیت تک‌جنسی مادهزا (A)، رهاسازی جمعیت دوجنسی (B)، رهاسازی جمعیت دوجنسی تیمار شده با آنتی بیوتیک (CB) و شاهد بدون رهاسازی (C) در پنج تاریخ مختلف از اوایل مرداد تا اواخر شهریور مورد ارزیابی قرار گرفت. تیمارها در پلات‌هایی به وسعت ۴۰۰ مترمربع (۲۰×۲۰) به فاصله ۱۵ متر از یکدیگر در هر یک از قطعات در نظر گرفته شدند (برگرفته از: Wang *et al.* (1999) و Wright *et al.* (2002)). به دلیل عدم آلودگی طبیعی و یکنواخت در مزارع، مانند روش Sigsgaard *et al.* (2017)، از دسته تخم‌های طعمه استفاده شد. به این صورت که در زمان رهاسازی زنبورها، در هر

کرت ۳۰ عدد کارت مقوایی حاوی ۱۰۰ عدد تخم تازه بید غلات، در سه ردیف ده‌تایی و چهار عدد تریکوکارت ۰/۰۱ گرمی آماده تفریخ (معادل ۶۰۰ عدد تخم پارازیته) از هر یک از جمعیت‌ها یا لاین‌های مورد نظر (A، B و CB)، با فاصله ۱۰ متر از یکدیگر روی بوته‌ها نصب شدند (شکل ۲). با توجه به حضور فعال بندپایان شکارگر در مزرعه، ۲۴ ساعت پس از رهاسازی زنبورها، دستجات تخم به تفکیک هر تیمار جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه میزان پارازیتیسم آنها تعیین شد. ابتدا داده‌ها به روش جذری $(\sqrt{x+0.5})$، تبدیل و سپس بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی بر اساس تعداد کارت و تخم پارازیته، ابتدا به‌صورت تجمیع شده (Pooled Data) در هر یک از سه جمعیت و سپس برای هر یک از تاریخ‌های رهاسازی به طور جداگانه در نرم افزار SAS (نسخه 6.2) و به روش GLM مورد ارزیابی قرار گرفتند.



شکل ۱ – محل رهاسازی جمعیت‌های تک‌جنسی (A) و دوجنسی (B و CB) زنبور *Trichogramma brassicae* (پیکان قرمز رنگ) و موقعیت قرار گرفتن نوارهای کاغذی حاوی تخم بید غلات روی بوته‌های ذرت (پیکان‌های زرد رنگ) در ارزیابی گلخانه‌ای.

Fig. 1. Release point of thelytokous asexual (A) and bisexual (B & CB) populations of *Trichogramma brassicae* (red arrow) and mounted bait cards containing egg masses of grain moth (yellow arrows) on corn plants in greenhouse assesment.



شکل ۲– نقشه محل رهاسازی جمعیت‌های زنبور *Trichogramma brassicae* در کرت‌های آزمایشی مزرعه ذرت. A: لاین تک‌جنسی آلوده به باکتری ولباکیا (Asexual)، B: جمعیت دوجنسی طبیعی (Bisexual)، CB: جمعیت دوجنسی تیمار شده با آنتی‌بیوتیک (Cured Bisexual) و C: شاهد (Control).

Fig. 2. Release map of the *Trichogramma brassicae* populations in the corn field experimental plots. A: asexual *Wolbachia*-associated, B: natural bisexual, CB: cured bisexual, C: Control.

نتایج

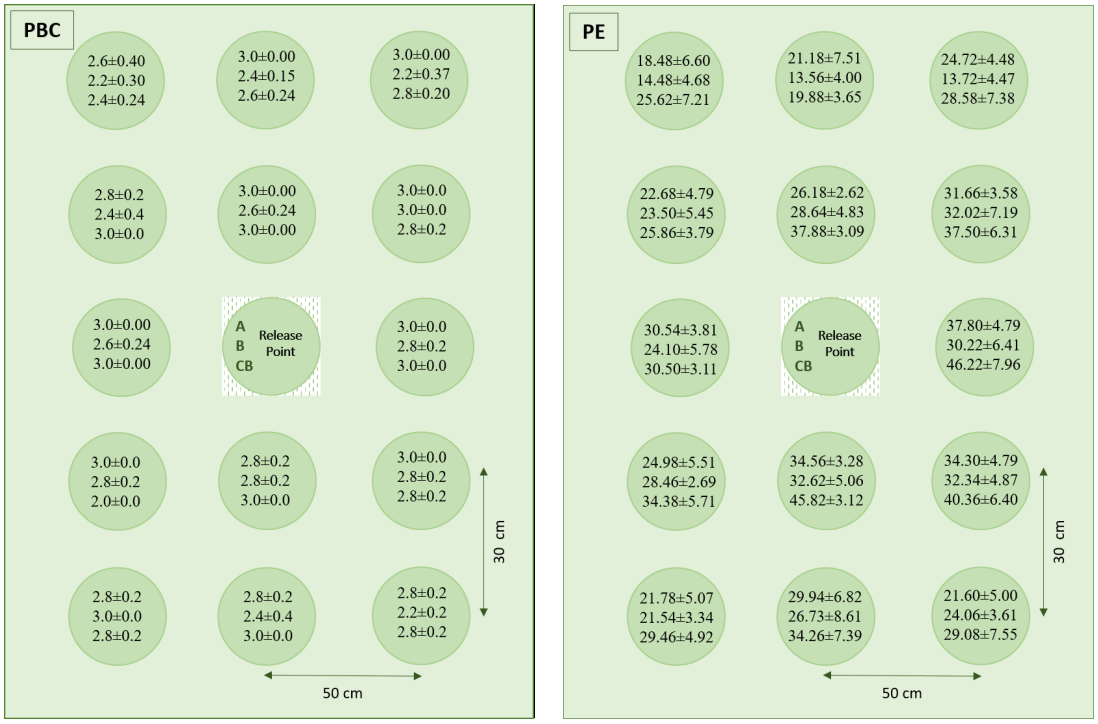
ارزیابی جمعیت تک‌جنسی *Trichogramma brassicae* در شرایط گلخانه. بر اساس نتایج بدست آمده، میانگین تعداد دسته تخم و تخم پارازیته به ازای یک زنبور ماده در هیچ یک از تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($F_{2,12}$ =۲/۲۴؛ P=۰/۱۴۹) و ($F_{2,12}$ =۱/۶۱؛ P=۰/۲۴۱) (شکل ۳)، گر چه از نظر عددی تعداد تخم پارازیت شده توسط جمعیت تیمار شده با آنتی بیوتیک (۰/۶۹ ± ۵/۲۳۲) بیش از دو جمعیت دیگر می‌باشد (جدول ۱). همچنین مقایسه میزان پارازیتیسم تعداد دسته تخم و تخم پارازیت‌شده سه جمعیت در هر یک از گلدان‌هایی که نسبت به محل رهاسازی در فواصل مختلفی قرار گرفته‌بودند، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۳). به عبارت دیگر می‌توان چنین اظهار نمود که جمعیت‌های تک‌جنسی و دوجنسی مورد نظر، به لحاظ قدرت پراکنش از طریق راه رفتن و یا پرواز مشابه یکدیگر می‌باشند. هرچند محاسبات نشان داد که با رهاسازی ۱۰۰ عدد زنبور (شامل هر دو جنس نر و ماده در جمعیت‌های دوجنسی)، تعداد تخم و دستجات تخم بیشتری توسط لاین تک‌جنسی آلوده به ولباکیا (A) در مقایسه با جمعیت‌های‌های دوجنسی، پارازیته خواهد شد (جدول ۱) و از نظر آماری نیز بین آنها تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ وجود دارد ($F_{2,12}$ =۲/۲۴؛ P=۰/۰۴۷۶) و ($F_{2,12}$ =۴/۱۱؛ P=۰/۰۴۳۸).

جدول ۱- میزان پارازیتیسم حاصل از رهاسازی جمعیت‌های تک‌جنسی (A) و دوجنسی (B و CB) زنبور *Trichogramma brassicae* طی مدت ۴۸ ساعت روی ۱۴ بوته ذرت در شرایط گلخانه (SE ± میانگین).

Table 1. Parasitism rate of thelytokous asexual (A) and bisexual (B & CB) populations of *Trichogramma brassicae* in 48 hours on 14 corn plants in greenhouse condition (M±SE).

Population (Line)	Sex Ratio (Female/Total)	No. of parasitized egg/one female wasp	No. of parasitized egg/100 released wasps	No. of parasitized bait card/one female wasp	No. of parasitized bait card/100 released wasps
A	1	4.267±0.48^{ns}	426.60^{a}	0.0757±0.001^{ns}	7.57^{a}
B	0.662	3.888±0.44	257.38^{b}	0.0680±0.004	4.50^{b}
CB	0.662	5.232±0.69	346.22^{ab}	0.0751±0.001	4.97^{b}

Means followed by the same letters within a column are not significantly different by Tukey's test (P<0.05).
ns: nonsignificant. **A:** asexual *Wolbachia*-associated, **B:** natural bisexual, **CB:** cured bisexual.



شکل ۳- نحوه پراکنش پارازیتیسم تخم و دسته تخم حاصل از رهاسازی سه جمعیت تک‌جنسی مادهزا، دو جنسی طبیعی و دوجنسی درمان شده زنبور *Trichogramma brassicae* طی مدت ۴۸ ساعت روی ۱۴ بوته ذرت در شرایط گلخانه (SE ± میانگین). تعداد زنبور ماده رهاسازی شده در لاین تک‌جنسی آلوده به باکتری (A): ۵/۹ ± ۵۳۶، جمعیت‌های دوجنسی طبیعی (B): ۳/۳ ± ۵۳۴/۹ و دوجنسی درمان‌شده با آنتی‌بیوتیک (CB): ۲/۶ ± ۵۳۵/۲. PBC: تعداد کارت طعمه پارازیت شده، PE: تعداد تخم پارازیته.

Fig. 3. Distribution of parasitized eggs and egg batches by thelytokous asexual (A) and bisexual populations of *Trichogramma brassicae* (B & CB) in 48 hours on 14 corn plants in greenhouse condition (M±SE). Number of released female wasp: **A**= 536 ± 5.9, **B**= 534.9 ± 3.3, **CB**= 535.2 ± 2.6. **PBC**: No. of parasitized bait card, **PE**: No. of parasitized egg.

ارزیابی جمعیت تک‌جنسی *Trichogramma brassicae* در شرایط مزرعه. نتایج رهاسازی مزرعه‌ای در مجموع پنج نوبت رها سازی، از نظر تعداد کارت طعمه و تخم پارازیت شده اختلاف معنی‌داری را بین شاهد (C) و جمعیت‌های A، B و CB نشان می‌دهد. با وجود آنکه از نظر میزان پارازیتیسم، تیمارهای A، B و CB در یک گروه قرار گرفته‌اند، اما از نظر عددی میانگین لاین تک‌جنسی آلوده به ولباکیا (A) بیشتر از سایر تیمار ها می‌با شد (۰/۲۱ ± ۱/۹۴ کارت طعمه و ۱/۲ ± ۷/۲۶ عدد تخم پارازیت شده). تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که در بین پنج نوبت رها سازی، در تاریخ های ۱۱ و ۲۸ شهریور ماه (۲ و ۱۹ سپتامبر)، تیمارها به لحاظ تعداد کارت طعمه پارازیت شده دارای اختلاف معنی‌دار هستند و در آخرین رهاسازی (۱۹ سپتامبر) نیز لاین تک‌جنسی آلوده به *Wolbachia* (A) میانگین عددی بیشتری را در هر دو شاخص به خود اختصاص داده (به ترتیب ۰/۱۱ ± ۲/۰۰ و ۰/۵۲ ± ۷/۲۷)، به‌نحوی‌که در گروهی متفاوت از سایر تیمارها قرار گرفت (جدول ۲).

جدول ۲- میزان پارازیتیسم حاصل از رهاسازی لاین تک‌جنسی ماده‌زا (A)، جمعیت‌های دوجنسی طبیعی (B) و دوجنسی درمان شده (CB) زنبور *Trichogramma brassicae* طی مدت ۲۴ ساعت در شرایط مزرعه ذرت شرکت زراعی دشت ناز در تاریخ‌های مختلف رهاسازی (SE ± میانگین).

Table 2. Parasitism rate of thelytokous asexual (A), natural bisexual (B), and cured bisexual (CB) populations of *Trichogramma brassicae* in the corn field of Dashte Naz Agriculture Co. whitin 24 hours for different release dates (M±SE).

		Treatments			
Release Date		**A**	**B**	**CB**	**C**
29 July	**PBC**	1.48±0.31^{ns}	1.27±0.20	1.69±0.19	1.05±0.21
	PE	2.86±1.23^{ns}	2.90±1.05	4.80±1.54	1.40±0.56
25 Aug.	**PBC**	2.47±0.20^{ns}	1.24±0.38	2.27±0.72	1.37±0.34
	PE	11.60±1.30^{ns}	4.18±2.30	11.00±4.33	5.58±1.70
2 Sept.	**PBC**	1.40±0.40^{ab}	2.00±0.58^{a}	0.83±0.12^{b}	0.70±0.00^{b}
	PE	5.17±2.60^{ab}	8.60±2.70^{a}	2.19±1.50^{ab}	0.70±0.00^{b}
10 Sept.	**PBC**	2.28±0.05^{a}	2.17±0.58^{a}	2.06±0.29^{a}	0.99±0.29^{b}
	PE	9.46±0.42^{a}	9.50±3.09^{a}	8.60±1.50^{a}	2.60±1.95^{b}
19 Sept.	**PBC**	2.00±0.11^{a}	1.05±0.21^{b}	1.14±0.25^{b}	1.10±0.30^{b}
	PE	7.27±0.52^{a}	2.10±0.83^{b}	2.32±0.93^{b}	2.80±1.22^{b}
Total Mean	**PBC**	1.94±0.21^{a}	1.56±0.39^{a}	1.60±0.31^{a}	1.32±0.13^{b}
	PE	7.26±1.20^{a}	5.46±1.99^{a}	5.82±1.96^{a}	2.46±0.99^{b}

Means followed by the same letters within a row are not significantly different by Tukey's test (P<0.05).
ns: nonsignificant. **A:** asexual *Wolbachia*-associated, **B:** natural bisexual, **CB:** cured bisexual population, **C:** Control. **PBC:** No. of parasitized bait card, **PE:** No. of parasitized egg.

بحث و نتیجه‌گیری

باکتری‌های همزیست به طور گسترده در حشرات و سایر جانوران دیده می‌شوند. بیشتر این باکتری‌ها همراه با ژن‌های میزبان خود انتقال عمودی داشته و باعث گسترش تنوع ژنتیکی وراثت‌پذیر در یک گونه می‌شوند (Ferrari & Vavre, 2011). یکی از باکتری‌هایی که برآورد می‌شود همزیست بیش از ۷۰ درصد گونه‌های حشرات باشد، باکتری *Wolbachia* است (Hilgenboecker *et al.*, 2008). از طرفی برخی دانشمندان به طور کلی معتقدند همزیستی *Wolbachia* در تعدادی از جانوران مثل نماتودها به صورت همیاری (mutualism) و در بندپایان از نوع پارازیتیسم است (Fenn & Blaxter, 2006؛ Bordenstein *et al.*, 2008) که بر این اساس، عدم انتفاع میزبان (به عنوان مثال: زنبور تریکوگراما) در تعامل با باکتری مزبور محتمل خواهد بود. با وجود این، به لحاظ نظریه‌های تکامل در علم اکولوژی، روابطی همچون پارازیتیسم و همیاری در طیف گسترده همزیستی‌ها نقطه ثابت و پایانی محسوب نمی‌شود. به عبارت دیگر در روند انتخاب طبیعی همواره این امکان وجود دارد که بسته به شرایط محیطی و نوع میزبان ماهیت این تعاملات تغییر یابد (Weeks *et al.*, 2007؛ Bordenstein *et al.*, 2008).

بر اساس نتایج پژوهش‌های قبلی، آلودگی به باکتری *Wolbachia* در جمعیت زنبور *Trichogramma* به دوصورت مختلط (mixed) و تثبیت شده (fixed) گزارش شده است. در جمعیت‌های fixed آلودگی به‌طور کامل تثبیت شده به نحوی که فقط افراد ماده‌زا (thelytokous) حضور دارند، اما در جمعیت مختلط زنبورهای ماده‌زا به همراه افراد نرزا (arrhenotokous) دیده می‌شوند و زنبورهای ماده قادر به جفتگیری و تولید نتاج به هر دو شیوه جنسی و بکرزایی می باشند. به نظر می‌رسد استرین‌هایی از باکتری که وابسته به جمعیت‌های تثبیت شده هستند در بسیاری از زمینه‌ها دارای جنبه‌های تکاملی با میزبان‌هایشان می‌باشند (Huigens, 2003؛ Almeida, 2004). در جمعیت مختلط تعارض هسته و سیتوپلاسم سلول‌ها به‌صورت یک توان بالقوه وجود دارد، در حالی که در جمعیت تثبیت شده دیگر چنین تعارضی دیده نمی‌شود و این روند تکاملی بین دو گونه به لحاظ تاثیر نیروهای انتخاب طبیعی در جهت کاهش اثرات منفی و تقویت رابطه مثبت

پیش می‌رود (Price, 1997). در چنین جمعیت‌هایی (fixed) اثر منفی باکتری بر شایستگی (fitness) میزبان کاسته می‌شود (Van Meer, *et al.*, 1999؛ Silva, 1999؛ Huigens & Stouthamer, 2003؛ Huigens, 2003). بر اساس نتایج Farrokhi (2010)، میزان آلودگی به باکتری ولباکیا در جمعیت *Trichogramma brassicae* جمع‌آوری شده از بابلسر، ۴۹/۵ درصد و دارای حالت حد واسط بین جمعیت‌های مختلط و تثبیت شده می‌باشد. در هر حال، به منظور افزایش کارایی دشمنان طبیعی و کاهش هزینه‌ها، مزیت استفاده از گونه‌ها یا جمعیت‌های تک‌جنسی زنبورهای پارازیتوئید در رهاسازی علیه یک آفت، در سال‌های اخیر به‌خوبی مورد بررسی قرار گرفته است (Aeschlimann, 1990؛ Stouthamer, 1993 & 2003).

با توجه به اینکه زنبور *T. brassicae* به‌عنوان گونه غالب در مقایسه با سایر گونه‌ها از فراوانی و گسترش بیشتری در کشور برخوردار بوده و در حال حاضر نیز برای رهاسازی در مزارع ذرت و برنج، در اغلب انسکتاریوم‌های کشور پرورش داده می‌شود (Ebrahimi, 1999؛ Ebrahimi *et al.*, 1998)، معرفی جمعیت‌های دارای ویژگی‌های زیستی و رفتاری برتر، کارایی برنامه‌های کنترل بیولوژیک را افزایش می‌دهد (Pourarian *et al.*, 2021). مطالعات نشان داده که باکتری *Wolbachia* عامل القای بکرمادەزایی در نمونه جمع‌آوری شده از بابلسر (استان مازندران) بوده و عدم اثرات منفی باکتری روی برخی از شاخص‌های زیستی زنبور اثبات شده است (Farrokhi, 2010). بررسی‌های تکمیلی تعیین قدرت پراکنش و پارازیتیسم جمعیت مادەزا و دوجنسی روی بوته‌های ذرت در شرایط گلخانه، برتری نسبی لاین تک‌جنسی آلوده به ولباکیا (A) را از نظر میانگین تعداد تخم و دستجات تخم پارازیت شده نسبت به جمعیت‌های دوجنسی (B و CB) نشان داد. از آنجایی که تفاوت معنی‌داری بین سه جمعیت در میزان پارازیتیسم تخم‌های میزبان روی بوته‌های ذرت در فواصل مختلف نسبت به محل رهاسازی وجود نداشت، این امر نشان می‌دهد که این سه جمعیت به صورت انفرادی از نظر میزان پارازیتیسم، قدرت یافتن دسته‌های تخم میزبان و قدرت پراکنش به هر دو شیوه راه رفتن روی برگ و پرواز کردن، تفاوتی با یکدیگر ندارند (شکل ۳). این یافته‌ها با نتایج عدم تفاوت در قدرت جستجو یا ضریب حمله (a) برآورد شده برای دو جمعیت تک‌جنسی آلوده به ولباکیا و دوجنسی طبیعی زنبور *T. brassicae* بابلسر (Farrokhi *et al.*, 2010b؛ Hosseini, 2011) هم‌خوانی دارد. در بررسی گلخانه‌ای که پیش از این توسط Farrokhi *et al.* (2013) با استفاده از دو جمعیت تک‌جنسی آلوده به ولباکیا و دوجنسی طبیعی انجام شد، نتایج مشابهی بدست آمد که تاییدی بر یافته‌های این پژوهش می‌باشد. اما با برآورد تعداد دسته تخم پارازیته به ازاء تعداد افراد رهاسازی شده هر جمعیت (برای مثال ۱۰۰ عدد زنبور)، زنبورهای تک‌جنسی آلوده به *Wolbachia* برتری محسوسی نسبت به جمعیت‌های دوجنسی طبیعی و درمان شده با آنتی‌بیوتیک (B و CB) در سطح احتمال ۹۵٪ نشان داد، که علت آن را می‌توان به تفاوت نسبت جنسی و فقدان زنبور نر در لاین تک‌جنسی آلوده به ولباکیا (A) و به تبع آن عدم نیاز به جفتگیری و صرف زمان نسبت داد. در آزمایش گلخانه‌ای که برای مقایسه جمعیت‌های دوجنسی و آلوده به باکتری در دو گونه زنبور *T. cordubensis* و *T. deion*، توسط Silva *et al.* (2000) انجام شد، تفاوت معنی‌داری در برآورد تعداد دسته تخم‌های پارازیت شده حاصل از رهاسازی ۱۰۰ عدد زنبور مشاهده شد که حاکی از برتری جمعیت‌های آلوده به باکتری بود، و با نتایج ما هم‌خوانی دارد.

در ادامه، نتایج رهاسازی مزرعه‌ای در این پژوهش نیز نشان داد که بین فرم تک‌جنسی (A) و جمعیت‌های دوجنسی (B و CB) تفاوت معنی‌داری در تعداد تخم و کارت طعمه پارازیت شده وجود ندارد. همچنین تجزیه و تحلیل آماری بر اساس تاریخ‌های رهاسازی نشان داد که در سه نوبت اول رهاسازی (۷ مرداد، ۳ و ۱۱ شهریور ماه) اختلاف معنی‌داری در تعداد کارت طعمه و تخم پارازیته وجود ندارد، اما در آخرین رهاسازی (۲۸ شهریور ماه) در هر دو شاخص اختلاف معنی‌دار مشاهده شد و لاین تک‌جنسی آلوده به باکتری ولباکیا (A) از میانگین عددی بیشتری برخوردار بود و در گروه‌بندی میانگین‌ها در گروه متفاوتی قرار گرفت. این نتایج در مجموع اثبات کرد که لاین تک‌جنسی در شرایط مزرعه از قدرت پراکنش بیشتری نسبت به جمعیت‌های دوجنسی برخوردار است. یکی از اثرات باکتری ولباکیا پس از تثبیت، افزایش مقاومت میزبان، به بیماری‌ها و شرایط نامساعد محیطی است و شاید این برتری عمکرد مزرعه‌ای در زنبور تک‌جنسی نسبت به فرم‌های دوجنسی، به واسطه افزایش بقای آن‌ها باشد. مطالعات متعددی اثرات مثبت این باکتری‌های همزیست را روی بقاء و مقاومت میزبان‌ها نشان داده (Haine *et al.*, 2005؛ Gil-Turnes & Fenical, 1992؛ Gil-Turnes *et al.*, 1989) که موید نتایج حاضر است. به‌علاوه، بررسی‌های به عمل آمده در زمینه تأثیر باکتری *Wolbachia* بر درصد خروج زنبورهای آلوده‌ای که در دماهای پائین ذخیره شده یا به دیاپوز رفته‌اند، نه تنها اثرات سوء و زیان‌باری را نشان نداده، بلکه برخی گزارش‌ها به لحاظ کاربردی و امکان ذخیره‌سازی جمعیت‌های تک‌جنسی، حاوی نکات مثبتی است. بنا به اظهار Wang & Smith (1996)، جمعیت‌های زنبور *Trichogramma minutum* Riley تک‌جنسی آلوده به باکتری همزیست، در مقایسه با جمعیت‌های دوجنسی بهتر می‌توانند دماهای پائین را تحمل کنند. همچنین این جمعیت‌ها آستانه حرارتی پائین‌تری را برای رشد و نمو از خود نشان داده‌اند و از طرفی نیز درصد خروج آنها پس از گذراندن یک دوره ذخیره‌سازی در دمای ۴ درجه سلسیوس، بیشتر بوده است. نتایج تحقیقات Farrokhi (2010) و Hosseini (2011) در زمینه تاثیر مثبت باکتری ولباکیا بر ذخیره‌سازی جمعیت مادەزای بابلسر، نظرات Wang & Smith (1996) را تایید می‌کند.

نتایج پژوهش‌های قبلی و یافته‌های جدید نشان داد که با وجود مشاهده برخی اثرات منفی *Wolbachia* بر زنبور تریکوگرامای میزبان، تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌های بومی *T. brassicae* تک‌جنسی آلوده به ولباکیا و دوجنسی به لحاظ پراکنش، قدرت جستجوگری و پارازیتیسم، باروری و طول عمر وجود ندارد (Farrokhi, 2010؛ Farrokhi *et al.*, 2010b؛ Farrokhi *et al.*, 2013) و از لحاظ کاربردی نتایج اخیر حاکی از برتری نسبی عملکرد فرم مادەزا در شرایط گلخانه و مزرعه می‌باشد. از طرفی، بر اساس نتایج آزمایش‌های مقایسه‌ای که روی جمعیت‌های بومی گونه *T. brassicae* مادەزا و دوجنسی انجام شد، همبستگی خوبی بین میزان باروری، پراکنش، درصد خروج، درصد پارازیتیسم لاین تک‌جنسی آلوده به باکتری در شرایط آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه مشاهده شد. بنابراین، از جنبه

کاربردی با توجه به برتری نسبی این جمعیت از تریکوگراما در شرایط گلخانه و مزرعه، می‌توان پیش‌بینی نمود که تهیه و توزیع تریکوکارت‌های لاین تک‌جنسی زنبور *T. brassicae* آلوده به *Wolbachia* علاوه بر مزیت‌های اقتصادی آن در شرایط تکثیر انبوه در انسکتاریوم، می‌تواند در شرایط مزرعه نیز در میزبان‌یابی و پارازیته کردن تخم آفت هدف، از کارایی مناسبی در مقایسه با هم‌گونه‌های دوجنسی خود برخوردار باشد. لذا برای اطمینان کامل از این فرضیه، پیشنهاد می‌شود ضمن تامین شرایط مناسب برای تکثیر انبوه و ذخیره‌سازی لاین تک‌جنسی ماده‌زای زنبور برگزیده تریکوگراما، کارایی آن با رهاسازی در شرایط مزرعه و کنترل آفت هدف مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از نتایج پروژه مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور بوده و کلیه هزینه‌های آن توسط این موسسه تامین شده که شایسته قدردانی است. بدینوسیله از مدیریت محترم شرکت زراعی دشت ناز ساری، آقای مهندس سلماسی، خانم مهندس حسینی، آقایان مهندس حسن‌زاده و مهندس شکری و تمامی همکارانی که در آزمایشگاه تحقیقات کنترل بیولوژیک آمل و بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور در این پژوهش همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌شود.

REFERENCES

Aeschlimann, J. P. (1990) Simultaneous occurrence of thelythoky and bisexuality in hymenopteran species, and its implications for the biological control of pests. *Entomophaga* 35, 3-5. https://doi.org/10.1007/BF02374295.

Almeida, R. P. (2004) *Trichogramma* and its relationship with *Wolbachia*: Identification of *Trichogramma* species, phylogeny, transfer and costs of *Wolbachia* symbionts. Ph.D. thesis, Wageningen University, The Netherlands. 142 pp.

Bordenstein S. R., Paraskevopoulos. C., Hotopp, J. C., Sapountzis, P., Lo, N., Bandi, C., Tettelin. H., Werren, J. H. & Bourtzis, K. (2008) Parasitism and mutualism in *Wolbachia*: what the phylogenomic trees can and cannot say. *Molecular Biology and Evolution* 26, 231-241. https://doi.org/10.1093/molbev/msn243.

Ebrahimi, E. (1999) Morphological and enzymatic study of the genus *Trichogramma* in Iran. Ph.D. thesis. Tarbiat Modarres University, Iran, 149 pp.

Ebrahimi, E., Pintureau, B. & Shojai, M. (1998) Morphological and enzymatic study of the genus *Trichogramma* in Iran. *Applied Entomology and Phytopathology* 66, 39-43. (in Persian with English summary).

Farrokhi, S. (2010) Evaluation of the affect of *Wolbachia* on some biological characteristics of a *Trichogramma brassicae* thelytokous population. Ph.D. thesis. University of Tehran. Iran. (in Persian with English summary).

Farrokhi, S., Ashouri, A., Huigens, M. E. & Verbaarschot, P. (2010a) Horizontal transmission of *Wolbachia* in *Trichogramma* wasps (Hym., Trichogrammatidae). *Iranian Journal of Plant Protection Science* 41(2), 315-325.

Farrokhi, S., Ashouri, A., Shirazi, J., Allahyari, H. & Huigens, M. E. (2010b) A comparative study on the functional response of *Wolbachia*-infected and uninfected forms of the parasitoid wasp *Trichogramma brassicae*. *Journal of Insect Science* 10, 167. https://doi.org/10.1673/031.010.14127.

Farrokhi, S., Huigens, M. E., Zare, R. & Verbaarschot, P. (2012) Detection of *Wolbachia* bacterium in Iranian strain of *Trichogramma brassicae* (Hym., Trichogrammatidae). *Journal of Entomological Society of Iran* 32(2), 49-69.

Farrokhi, S., Shirazi, J. & Attaran, M. R. (2013) *Wolbachia* effect on olfactory responses and parasitism rate of *Trichogramma brassicae* in laboratory conditions. *Biocontrol in Plant Protection* 1(1), 65-79. https://doi.org/10.22092/BCPP.2013.100600.

Fenn, K. & Blaxter, M. (2006) *Wolbachia* genomes: revealing the biology of parasitism and mutualism. *Trends in Parasitology* 22, 60-65. https://doi.org/10.1016/j.pt.2005.12.012.

Ferrari, J. & Vavre, F. (2011) Bacterial symbionts in insects or the story of communities affecting communities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B.* 366, 1389-1400. https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0226.

Gil-Turnes, M. S. & Fenical, W. (1992) Embryos of *Homarus americanus* are protected by epibiotic bacteria. *Biology Bulletin* 182, 105-108. https://doi.org/10.2307/1542184.

Gil-Turnes, M. S., Hay, M. E. & Fenical, W. (1989) Symbioticmarine bacteria chemically defend crustacean embryos from a pathogenic fungus. *Science* 246, 116-118. https://doi.org/10.1126/science.2781297.

Haine, E. R., Boucansaud, K. & Rigaud, T. (2005) Conflict between parasites with different transmission strategies infecting an amphipod host. *Proceedings of the Royal Society of London B* 272, 2505-2510. https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3244.

Hilgenboecker, K., Hammerstein, P., Schlattmann, P., Telschow, A. & Werren, J. H. (2008) How many species are infected with *Wolbachia*? a statistical analysis of current data. *FEMS Microbiology Letters* 281, 215-220. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01110.x.

Hassan, S. A. (1990) A simple method to select effective *Trichogramma* strains for use in biological control. In Book. Wajnberg E. & Vinson S. B. (1990) *Trichogramma* and other egg parasitoids, p: 201-205. *Les Colloques de l'INRA* 56.

Hohmann, C. L., Luck, R. F. & Stouthamer, R. (2001) Effect of *Wolbachia* on the survival and reproduction of *Trichogramma kaykai* Pinto & Stouthamer (Hym., Trichogrammatidae). *Neotropical Entomology* 30(4), 607-612. https://doi.org/10.1590/S1519-566X2001000400015.

Hosseini, F. (2011) Evaluation of some biological characteristics and applied aspects of a *Trichogramma brassicae* thelytokous population in the laboratory and field conditions. M.Sc. thesis. Faculty of Agricultural Sciences and Food Industry. Islamic Azad University Science and Research Branch, Iran.73 pp. (in Persian with English summary).

Huigens, M. E. (2003) On the evolution of the *Wolbachia*-induced parthenogenesis in *Trichogramma* wasps. Ph.D. thesis, Wageningen University, The Netherlands. 183 pp.

Huigens, M. E., Almeida, R. P. de., Boons, P. A. H., Luck, R. F. & Stouthamer, R. (2004) Natural interspecific and intraspecific horizontal transfer of parthenogenesis-inducing *Wolbachia* in *Trichogramma* wasps. *Proceedings of the Royal Society of London B* 271, 509-515. https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2640.

Huigens, M. E., Luck, R. F., Klaassen, R. H. G., Maas, M. F. P. M., Timmermans, M. J. T. N. & Stouthamer, R. (2000) Infectious parthenogenesis. *Nature* 405, 178-179.

Huigens, M. E. & Stouthamer, R. (2003) Parthenogenesis associated with *Wolbachia*. In Book. Bourtzis K. & Miller T. A. (2003) Insect symbiosis, p: 247-266. CRC Press.

Kishani Farahani, H., Ashouri, A., Goldansaz, S. H., Farrokhi, S., Ainouche A. & Van Baaren, J. (2015) Does *Wolbachia* infection affect decision-making in a parasitic wasp? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 155, 102-116. https://doi.org/10.1111/eea.12293.

Miura, K. & Tagami, Y. (2004) Comparison of life history characters of arrhenotokous and *Wolbachia*-associated thelytokous *Trichogramma kaykai* Pinto & Stouthamer (Hym., Trichogrammatidae). *Annals of the Entomological Society of America* 97(4), 765-769. https://doi.org/10.1603/0013-8746(2004)097[0765:COLHCO]2.0.CO;2.

Pinto, J. D. & Stouthamer, R. (1994) Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*. In Book. Wajnberg E. & Hassan S. A. (1994) Biological control with egg parasitoids, p. 1-36. CAB International, Wallingford.

Pintureau, B., Grenier, S., Heddi, A. & Charles, H. (2002) Biodiversity of *Wolbachia* and of their effects in *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annales de la Société Entomologique de* **France**. (n.s.) 38, 333-338. https://doi.org/10.1080/00379271.2002.10697347.

Pintureau, B., Pizzol, J. & Bolland, P. (2003) Effects of endosymbiotic *Wolbachia* on the diapause in *Trichogramma* hosts and effects of the diapause on *Wolbachia*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 106, 193-200. https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2003.00024.x.

Pourarian, S., Tirgari, S., Shirazi, J., Ahadiyat, A. & Shahrokhi Khaneghah, S. (2021) Application of olfactory response of natural enemies for species selection in biological control: a comparative study on *Trichogramma evanescens* West. and *T. brassicae* Bezd. *Biocontrol in Plant Protection* 9(1), 99-114. https://doi.org/10.22092/BCPP.2021.127780.

Price, P. W. (1997) Insect Ecology. 3rd edition. John Wiley & Sons. 888 pp.

Sigsgaard, L., Herz, A., Korsgaard, M. & Wührer, B. (2017) Mass release of *Trichogramma evanescens* and *T. cacoeciae* can reduce damage by the apple codling moth *Cydia pomonella* in organic orchards under pheromone disruption. *Insects* 8(41), 1-9. https://doi.org/10.3390/insects8020041.

Silva, I. M. M. S. (1999) Identification and evaluation of *Trichogramma* parasitoids for biological pest control. Ph.D. thesis, Wageningen University, The Netherlands, 151 pp.

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* 10, 223-238. https://doi.org/10.1080/09583150050044501.

Smith, S. M. (1996) Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and their potential use. *Annual Review of Entomology* 41, 375-406. https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.002111.

Stouthamer, R. (1993) The use of sexual versus asexual wasps in biological control. *Entomophaga* 38, 3-6.

Stouthamer, R. (1997) *Wolbachia*-induced parthenogenesis. In Book. O'Neill, S. L., Hoffmann, A. A. & Werren, J. H. (1997) Influential passengers: Inherited microorganisms and arthropod reproduction, p. 102-124. Oxford University Press, Oxford.

Stouthamer, R. (2003) The use of unisexual wasps in biological control. In Book. van Lenteren J. C. (2003) Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures, p. 93-113. CABI Publishing, Wallingford.

Stouthamer, R. & Luck, R. F. (1993) Influence of microbe-associated parthenogenesis on the fecundity of *Trichogramma deion* and *T. pretiosum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 67, 183-192. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1993.tb01667.x.

Stouthamer, R., Pinto, J. D., Platner, G. R. & Luck, R. F. (1990) Taxonomic status of thelytokous forms of *Trichogramma*. *Annals of the Entomological Society of America* 83, 475-481. https://doi.org/10.1093/aesa/83.3.475.

Tagami, Y., Miura, K. & Stouthamer, R. (2002) Positive effect of fertilization on the survival rate of immature stages in a *Wolbachia*-associated thelytokous line of *Trichogramma deion* and *T. kaykai*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 105, 165-167.

Van Meer, M. M. M., van Kan, F. & Stouthamer, R. (1999) Spacer 2 region and 5S rDNA variation of *Wolbachia* strains involved in cytoplasmic incompatibility or sex ratio distortion in arthropods. *Letters in Applied Microbiology* 28, 17-22. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00476.x.

Wang, B., Ferro, D. N. & Hosmer, D. W. (1999) Effectiveness of *Trichogramma ostriniae* and *T. nubilalis* for controlling the European corn borer Ostrinia nubilalis in sweet corn. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91, 297-303. https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00496.x.

Wang, Z. & Smith, S. M. (1996) Phenotypic differences between thelytokous and arrhenotokous *Trichogramma minutum* from *Zeiraphera canadensis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 78, 315-323. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1996.tb00796.x.

Weeks, A. R., Turelli, M., Harcombe, W. R., Reynolds, K. T., & Hoffmann, A. A. (2007) From parasite to mutualist: rapid evolution of *Wolbachia* in natural populations of *Drosophila*. *Plusbiology* 5, 997-1005. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050114.

Wright, M. G., Kuhar, T. P., Hoffmann, M. P. & Chenus, S. A. (2002) Effect of inoculative releases of *Trichogramma ostriniae* on populations of *Ostrinia nubilalis* and damage to sweet corn and field corn. *Biological Control* 23, 149-155. https://doi.org/10.1006/bcon.2001.0993.

Evaluation of asexual *Wolbachia*-infected *Trichogramma brassicae* (Hym., Trichogrammatidae) performance in greenhouse and field conditions

Shahram Farrokhi[1], Hemmat Dadpour Moghanloo[2], Jalal Shirazi[1] & MohammadReza Attaran[2]

1. Biological Control Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Oeganization (AREEO), Tehran, Iran

✉ shahram.farrokhi@gmail.com https://orcid.org/0000-0002-3056-0610
✉ jalal.shirazi@gmail.com https://orcid.org/0000-0001-9303-8056

2- Biological Control Research Lab. Amol, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Oeganization (AREEO), Tehran, Iran

✉ dadpour@gmail.com https://orcid.org/0000-0002-4761-5331
✉ attaran2000@yahoo.com https://orcid.org/0000-0003-1735-4967

Article History

Received: 8 January 2023 | *Accepted:* 16 March 2023 | Subject Editor: Yaghoub Fathipour

Abstract

In some *Trichogramma* species, parthenogenesis is mostly induced by intracellular symbiotic *Wolbachia* bacteria. Populations of this egg parasitoid wasp that produce more female progeny can potentially have higher fitness. After finding a thelytokous *Wolbachia*-infected native strain of *Trichogramma brassicae*, a study was conducted to evaluate its parasitism rate and foraging efficiency in the greenhouse and field conditions. Treatments included a *Wolbachia*-associated thelytokous *T. brassicae* strain (A), an uninfected natural bisexual population (B), and an antibiotic-cured bisexual population (CB). Results of the equal female wasps' releases revealed no significant difference among the three populations regarding their dispersal ability, mean parasitized eggs (PE) and parasitized bait cards (PBC) per female on forage corn (SC704) in greenhouse condition. However, when equal wasp individuals were released (e.g. 100 individual wasps including males in the bisexual populations), the number of mean parasitized egg batches by asexual line (7.57 PBC) was significantly higher compared with that in B and CB bisexual populations (4.50 and 4.97 PBC, respectively). Similarly, in the corn field condition, the highest number of parasitized bait cards and parasitized egg numbers belonged to asexual wasp (A) (1.94±0.21 PBC and 7.26±1.2 PE/female) compared with those in B (1.56±0.39 PBC and 5.46±1.99 PE/female), and CB (1.6±0.3 PBC and 5.82 ± 1.96 PE/female) bisexual populations. In general, it can be concluded that the use of an asexual *Wolbachia*-infected line of *T. brassicae* can increase the efficiency of this biological control agent at the field level in addition to reducing mass production costs.

Key words: Thelytokous population, *Trichogramma*, *Wolbachia* bacteria, parasitism, dispersion, corn

Corresponding Author: Shahram Farrokhi (Email: shahram.farrokhi@gmail.com)

Citation: Farrokhi, S., Dadpour Moghanloo, H., Shirazi, J. & Attaran, M. R. (2023) Evaluation of asexual *Wolbachia*-infected *Trichogramma brassicae* performance in greenhouse and field conditions. *J. Entomol. Soc. Iran* 43 (1), 1-10. https://doi.org.10.52547/jesi.43.1.1