



پاسخ *Trichogramma brassicae* به افزایش دما با تکیه بر روش‌های مولکولی و زیستی

پوریا ابرون^۱، حسین مددی^۱، آرش زیبایی^۲ و فؤاد فاتحی^۳

^۱ - گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

✉ pouria.abrun@gmail.com <https://orcid.org/0009-0000-5877-8569>

✉ hmadadi@basu.ac.ir <https://orcid.org/0000-0002-7868-3468>

^۲ - گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران

✉ arash.zibae@guilan.ac.ir <https://orcid.org/0000-0001-8819-3166>

^۳ - گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

✉ ffatehi@pnu.ac.ir <https://orcid.org/0000-0003-3261-080x>

چکیده: افزایش دمای کره زمین یکی از جدیدترین مشکلاتی است که زیست‌بوم زمین را تهدید می‌کند. حشرات به عنوان موجوداتی خونسرد وابستگی زیادی به دمای محیط از خود نشان می‌دهند به گونه‌ای که با افزایش دمای کره زمین در پراکنش، فعالیت و پراکنجه‌های زیستی آن‌ها تغییراتی به وجود می‌آید. زنبور *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae) یکی از مهم‌ترین عوامل کنترل بیولوژیک در ایران است که برای مهار بسیاری از گونه‌های بالپولکداران مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این مطالعه بررسی تغییرات دما روی پراکنجه‌های زیستی و بیان دو ژن شوک حرارتی *hsp70* و *hsp90* زنبور *T. brassicae* در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور کلنی اصلی این زنبورها به دو قسمت تقسیم و هر کدام از کلنی‌های جدید به مدت ۲۰ نسل در دو دمای ۳۰ و ۳۳ درجه سلسیوس پرورش داده شدند. بعد از ۲۰ نسل پراکنجه‌هایی مانند درصد پارازیتسم، نرخ خروج، نسبت جنسی و بیان دو نوع پروتئین دمایی (HSP90 و HSP70) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در دمای ۳۳ درجه سلسیوس میزان بیان پروتئین‌های دمایی HSP90 به میزان ۲/۴۵ برابر و پروتئین دمایی HSP70 به میزان ۱/۹ برابر بیان آن در دمای ۳۰ درجه سلسیوس بود که نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد بود. نرخ پارازیتسم در دماهای ۳۰ و ۳۳ درجه سلسیوس به ترتیب 0.37 ± 0.08 و 0.82 ± 0.08 بود. نسبت جنسی ماده‌ها به کل جمعیت در دمای ۳۰ و ۳۳ درجه سلسیوس به ترتیب $1/2 \pm 0.62$ و 0.8 ± 0.48 ثبت شد. در دمای ۳۳ درجه دوره رشد پیش از بلوغ برابر با 0.29 ± 0.08 روز و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس 0.29 ± 0.15 روز محاسبه شد. این نتایج نشان می‌دهد افزایش دمای کره زمین می‌تواند اثربخشی دشمنان طبیعی را کاهش دهد که منجر به افزایش احتمال طغیان آفات خواهد شد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین‌های شوک دمایی، زنبور تریکوگراما، پراکنجه‌های زیستی، بیان ژن

Citation: Abrun, P., Madadi, H., Zibaii, A. & Fatehi, F. (2023) Response of *Trichogramma brassicae* to increasing temperature using molecular and biological methods. *J. Entomol. Soc. Iran* 43(3), 195–205.

مقدمه

گرم شدن کره زمین در قرن اخیر یکی از بزرگترین پیامدهای اقدامات انسانی است که سامانه‌های طبیعی را تحت تاثیر قرار داده است (Gilman et al., 2006; Walther et al., 2002). از زمان انقلاب صنعتی، دمای سالانه جهان در مجموع کمی بیش از دو درجه سلسیوس افزایش یافته است. بین سال‌های ۱۸۸۰ تا ۱۹۸۰، در هر ۱۰ سال به طور متوسط، دما ۰/۷ درجه سلسیوس (۰/۱۳ درجه فارنهایت) افزایش پیدا کرده است. با این حال، از سال ۱۹۸۱، نرخ افزایش دما بیش از دو برابر شده است و در ۴۰ سال گذشته، در هر دهه دمای کره زمین ۰/۱۸ درجه سلسیوس افزایش داشته است (Wunderling et al., 2023). پیش بینی‌ها نشان می‌دهند که گرمایش جهانی منجر به تغییراتی گسترده در واکنش‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و اکولوژیکی طیفی وسیع از موجودات زنده شده که به دنبال آن باعث تغییراتی گسترده در زیست‌بوم‌های طبیعی می‌گردد (Katz et al., 2005). در این بین موجودات خونسرد از جمله حشرات بیش از موجودات خون گرم " که دمای بدن آن‌ها ثابت است " تحت تاثیر قرار می‌گیرند (Schwartz, 2003). افزایش دما در طیف گسترده‌ای از موجودات منجر به پیش افتادن زمان ظهور فرایندهای مختلف از جمله ظهور اولین برگ‌ها (Menzel et al., 2002)، گل‌دهی (Lu et al., 2007) و زمان برداشت (Menzel et al., 2005) در گیاهان، فراخوانی جفت و پرورش لارو دوزیستان (Gibbs & Breisch, 2001)، تخم‌گذاری و مهاجرت پرنندگان (Visser et al., 2004; Gaston et al., 2005)

Corresponding author: Hosein Madadi (Email: hmadadi@basu.ac.ir)



© 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.

شده است. نمونه‌هایی بیشتر از اثرات گرمایش شامل تغییرات در پویایی جمعیت (Dandan, 2022)، ترکیب جامعه (Sagarin et al., 1999)، چرخه کربن زیست‌بومها (Cox et al., 2000) و کاهش غنای گونه‌ای (Bradshaw & Holzapfel, 2001) در تعداد زیادی از پژوهش‌ها اثبات شده‌اند.

حشرات با حدود ۱/۵ میلیون گونه شناسایی شده به عنوان بزرگ‌ترین گروه موجودات خونسرد شناخته شده‌اند و در برابر تغییرات دمایی نسبت به بسیاری از مهره‌داران حساس‌تر هستند (Roy & Sparks, 2000). تغییرات ایجاد شده روی این گروه از موجودات زنده منجر به تغییراتی شگرف در اکوسیستم‌های طبیعی خواهد شد. افزایش دمای کره‌ی زمین باعث تغییر در رفتار، فراوانی حشرات و توزیع آن‌ها شده و در حالت شدید نیز برخی از جمعیت‌های محلی را به سمت نابودی سوق داده و باعث تغییر در ساختار جامعه آنها شده‌است (Roth, 2014). دلایل متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد افزایش دمای زمین باعث طغیان آفات از طریق ساز و کارهای مختلف از جمله افزایش زنده‌مانی حشرات در زمستان (Kiritani, 2006) و تسریع رشد (Miles et al., 1997) حشرات شده است. گرم شدن هوا باعث شده بسیاری از گونه‌های حشرات، به‌ویژه آن‌هایی که در مناطق معتدل به‌سر می‌برند، در هماهنگی با این پدیده، پراکنش خود را به عرض‌های جغرافیایی بالاتر تغییر دهند (Battisti et al., 2005; Hassell et al., 2007). به‌عنوان مثال، ۶۳ درصد از گونه‌های پروانه‌های مورد بررسی در اروپا، پراکنش خود را به سمت شمال گسترش داده‌اند (Robinet & Roques, 2010) و در مناطق جدید و بدون حضور دشمن طبیعی جمعیت خود را به سرعت افزایش داده و گسترش می‌یابند و از این طریق خسارت بالایی به محصولات کشاورزی و پوشش‌های گیاهی طبیعی نظیر جنگل‌ها و مراتع وارد می‌کنند.

در سطح مولکولی نیز حشرات به افزایش دما به صورت فیزیولوژیکی واکنش نشان می‌دهند که یکی از مهم‌ترین این پاسخ‌ها افزایش سریع سنتز مجموعه‌ای از پروتئین‌های حفاظت شده به نام پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) می‌باشد. این پروتئین‌ها اولین بار به دنبال تنش دمایی اعمال شده روی مگس‌های سرکه (*Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera: Drosophilidae)) شناسایی شدند که به همین دلیل به عنوان پروتئین‌های شوک حرارتی نامیده می‌شوند (Tissieres et al., 1974). پژوهش‌ها نشان داده است که پروتئین‌های شوک حرارتی طیفی گسترده از پروتئین‌ها هستند که در برابر طیفی وسیع از عوامل تنش‌زای زنده (پارازیتوئیدها، شکارگرها و پارازیت‌ها) و غیر زنده (تغییرات دمایی، خشکی و گرسنگی) واکنش نشان می‌دهند (Zhao & Jones, 2012).

در بین این تغییرات گسترده در فراوانی و توزیع حشرات که می‌تواند منجر به طغیان آفات شود تاثیر دشمنان طبیعی در کنترل و تنظیم این تغییرات اهمیت به‌سزایی دارد. از بین دشمنان طبیعی پارازیتوئیدها مهم‌ترین نقش را در کنترل جمعیت آفات دارند (Bellows & Fisher, 1999). در بین پارازیتوئیدها نیز زنبورها بزرگ‌ترین و با اهمیت‌ترین گروه را تشکیل می‌دهند. تعداد گونه‌های راسته بال غشائیان به‌طور تقریبی ۱۱۵۰۰۰ گونه تخمین زده شده است که از طریق کنترل طبیعی آفات نقشی مهم در حفظ تعادل زیست‌بوم‌ها ایفا می‌کنند (Ulrich, 1999). از میان زنبورهای پارازیتوئید که در سطح جهانی به عنوان عوامل کنترل زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرند، زنبورهای خانواده Trichogrammatidae یکی از مهم‌ترین عوامل کنترل بیولوژیک برای مهار آفات - به ویژه در چارچوب روش رهاسازی اشباعی (Inundative release) در بسیاری از کشورها بوده اند (Consoli et al., 2010). زنبور *Trichogramma* *Bezdenko* به عنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌های این خانواده (Lundgren et al., 2002) و تجاری‌ترین گونه زنبورهای پارازیتوئید در ایران است (Iranipour et al., 2009) که برای مهار تخم آفات مختلف مانند *Helicoverpa armigera* Hübner، *Cydia pomonella* L.، *Spectrobates ceratoniae* Zell، *Chilo suppressalis* Walker، *Ostrinia nubilalis* (Hübner) و *Tuta absoluta* Meyrick پرورش یافته و مورد استفاده قرار می‌گیرند (Li et al., 2019).

با توجه به اهمیت زنبورهای تریکوگراما در کنترل طیفی وسیع از تخم بالپولکداران، بررسی این تغییرات دمایی بر شایستگی و تغییرات مولکولی ایجاد شده در آن‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشد. بسیاری از پژوهشگران به بررسی اثرات فوری دما در یک نسل روی فاکتورهای رشدی و فیزیولوژیکی حشرات پرداخته‌اند اما پژوهش‌های اندکی به اثرات بلند مدت افزایش دما و چگونگی واکنش و سازش حشرات به این پدیده پرداخته است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی تغییرات ایجاد شده در زنبور *T. brassicae* تحت تاثیر دماهای گوناگون در مدت زمان‌های طولانی (۲۰ نسل) بر تعدادی از ویژگی‌های زیستی مانند نرخ پارازیتیسیم، نرخ ظهور بالغین، نسبت جنسی و بیان ژن‌های شوک حرارتی (*hsp70* و *hsp90*) به عنوان متداول‌ترین ژن‌های حساس به تغییرات دمایی بوده است.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات. جمعیت اولیه زنبورهای پارازیتوئید *T. brassicae* از موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه شد و با استفاده از تخم نوعی پروانه به نام شب پره مدیترانه‌ای آرد (*Ephesia kuehniella* Zeller (Pyralidae: Lepidoptera)) به مدت سه نسل پرورش داده شد. در ادامه جمعیت زنبور به دو گروه تقسیم شد. حشرات گروه شاهد در دمای بهینه ۳۰ درجه سلسیوس (Negahban et al., 2021) و رطوبت ۷۰ درصد نگهداری شدند. گروه دوم که حشرات گروه تیمار بودند در دمای ۳۳ درجه سلسیوس که بالاتر از دمای بهینه رشد زنبور *T. brassicae* است و رطوبت ۷۰ درصد قرار گرفتند. هر دو گروه در دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی پرورش یافتند.

پراسنجه‌های زیستی زنبور *T. brassicae*. بعد از ۲۰ نسل پرورش زنبور *T. brassicae*، درون هر کدام از کلنی‌های شاهد (۳۰ درجه سلسیوس) و تیمار (۳۳ درجه سلسیوس)، یک پرگاله (Patch) حاوی ۲۰۰ عدد تخم شب‌پره بید آرد *E. kuehniella* قرار داده شد. بعد از یک ساعت این پرگاله تخم از کلنی خارج و هر کدام در ظرف شیشه‌ای به ابعاد ۱۰×۲ سانتی‌متر قرار داده شدند. از روز ششم به بعد دو مرتبه در روز، این پرگاله‌های تخم بررسی و سوراخ‌های خروجی روی تخم‌های میزبان شمارش و به عنوان زمان دوره پیش از بلوغ در نظر گرفته شدند. بیست و چهار ساعت بعد از اولین خروج بالغین، ۳۰ عدد زنبور ماده جفت‌گیری کرده یک روزه به طور تصادفی از هر کدام از ظروف شاهد و تیمار انتخاب و به ظروف شیشه‌ای به ابعاد ۱۰×۲ سانتی‌متر جداگانه‌ای منتقل شدند. برای هر زنبور یک پرگاله به اندازه ۱×۶ سانتی‌متر حاوی ۲۰۰ عدد تخم تازه بید آرد *E. kuehniella* که به کمک آب عسل روی یک کارت مقوایی

چسبانده شده بود، آماده و در هر کلنی قرار داده شد. این پرگاله‌ها ۲۴ ساعت در اختیار زنبور قرار گرفت و پس از آن، از دسترس زنبور ماده خارج شد. هر روز دو مرتبه لوله‌های حاوی زنبور بررسی شد و زمان مرگ زنبور ماده درون لوله ثبت گردید (de Freitas Bueno, 2012).

بعد از گذشت پنج روز که تخم‌های پارازیت‌دهنده سیاه شدند تعداد تخم‌های پارازیت‌دهنده شمارش و ثبت شدند. برای به دست آوردن طول دوره رشدی پیش از بلوغ، بعد از روز هشتم روزانه دو بار پیچ‌های تخم در زیر بینه‌کولر بررسی و تعداد زنبورهای خارج شده شمارش و ثبت شد. برای محاسبه درصد افراد بالغ ظاهر شده یا درصد ظهور زنبورهای بالغ (پارازیت‌سیسم موفق) بعد از ۳۶ ساعت از خروج اولین زنبور، تعداد کل زنبورها شمرده و جنسیت آنها از طریق شاخک‌ها ثبت شد (Bowen & Stern, 1966).

بررسی بیان ژن

تشریح حشرات. پس از ۲۰ نسل پرورش زنبور تریکوگراما زنبورهای تازه ظاهر شده و تخم‌ریزی نکرده به آزمایشگاه منتقل شدند. به دلیل کوچکی این زنبور امکان تشریح وجود نداشت. بنابراین ۵۰۰ زنبور برای هر تکرار در آب DEPC (Diethyl pyrocarbonate) فاقد RNase تحت شرایط استریل و روی یخ با استفاده از هموژنایزر شیشه‌ای همگن شدند. بافت‌های همگن شده به میکروتیوب‌های استریل برای استخراج RNA منتقل شدند (Amiri et al., 2016).

استخراج RNA و سنتز cDNA. استخراج RNA کل با استفاده از کیت P-Biozol (Bio Flux) طبق دستورالعمل شرکت سازنده در سه تکرار بیولوژیک انجام شد و هر تکرار بیولوژیک از سه تکرار تکنیکال تشکیل شد. برای حذف DNA ژنومی از تیمار به کمک DNaseI (Fermentas)، صورت گرفت. پس از آن، کمیّت و کیفیت RNA استخراج شده با دستگاه نانودراپ (شرکت Thermo Scientific مدل 2000c) و الکتروفورز در ژل آگارز یک درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای ساخت cDNA تک رشته‌ای، RNA به میزان یک میکروگرم (DNA Free) از هر نمونه و آغازگر 8 Oligo-dT و با استفاده از کیت سنتز cDNA برای AccuPower R RocketScript™ Cycle RT PreMix (Daejeon, Bioneer)، کره جنوبی) انجام شد.

برای آنکه از سنتز cDNA اطمینان حاصل شود، با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و جفت آغازگر Actin به عنوان ژن کنترل داخلی (Housekeeping) تکثیر قطعات انجام شد. ارزیابی محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در بافر TBE صورت گرفت و رنگ آمیزی ژل با استفاده از ماده FluoroDye (SMOBIO) DNA Loading Dye 6× انجام شد.

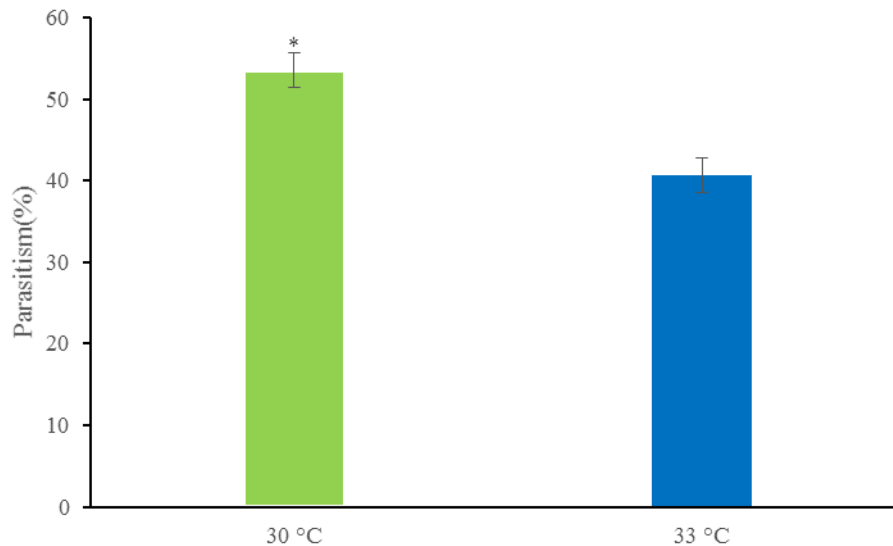
طراحی آغازگر. در این مطالعه از دو پرایمر ژن‌های *hsp70* و *hsp90* برای انجام PCR و دو پرایمر ژن‌های *rt-hsp70* و *rt-hsp90* برای اندازه‌گیری بیان ژن (Real-time PCR) (جدول ۱) استفاده شد (Farahani et al., 2020).

بررسی تغییرات بیان ژن به روش Real-Time PCR. برای تعیین تغییرات بیان ژن در فازهای مختلف از تکنیک Real-time PCR Quantitative استفاده شد (Macpherson et al., 2006). بدین منظور، یک میکرولیتر از cDNA برای انجام آنالیز بیان ژن استفاده شد (با رقت ۱:۲۰). علاوه بر آن در محلول واکنش ۰/۵ میکرولیتر آغازگر اختصاصی ژن‌های پروتئین‌های دمایی (جدول ۱) (۱۰ میکرومولار)، ۵ میکرولیتر SYBR green mix 2x و تا حجم ۱۰ میکرولیتر آب DEPC و با استفاده از دستگاه Rotor-Gene® Q thermocycler system (Qiagen) برای انجام واکنش مورد استفاده قرار گرفت. بعد از انجام آزمون‌های اولیه، برنامه حرارتی شامل واسرشت اولیه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس و ۴۰ چرخه با واسرشت سازی به مدت ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، اتصال پرایمر به مدت ۲۰ ثانیه در دمای ۵۵ و بسط به مدت ۲۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس انجام شد.

جدول ۱ - مشخصات آغازگرها؛ ژن *actin* (ژن کنترل داخلی) و ژن‌های *hsp70* و *hsp90* برای PCR و ژن‌های *re-hsp70* و *re-hsp90* برای RT-PCR می‌باشند.

Table 1- The characteristics of primers; *actin* gene (Housekeeping gene) and *hsp70* and *hsp90* genes for PCR and *re-hsp70* and *re-hsp90* genes for RT-PCR.

Gene	Primer	Primer sequence	Amplicon (bp)
<i>actin</i>	ACTIN -F	GATAGCGTGAGGGAGAGCAT	224
	ACTIN -R	ACCCAGTTCTCTTGACCGAG	
<i>hsp70</i>	HPS70-F	AACCACTTCGTTCCAGGAGT	674
	HPS70-R	TTGTTGTCCTTGGTCATGGC	
<i>hsp90</i>	HPS90-F	CAGTTCGGTGTGGGTTTCTA	518
	HPS90-R	TTGTAGAAGTCGCCGACTCC	
<i>re-hsp70</i>	re-HSP70-F	AACCACTTCGTTCCAGGAGT	183
	re-HSP70- R	CTCCTCTGTCGCTCGGTAT	
<i>re-hsp90</i>	re-HSP90-F	CAGTTCGGTGTGGGTTTCTA	197
	re-HSP90- R	GAGGATGACAAGCCCAAGAT	

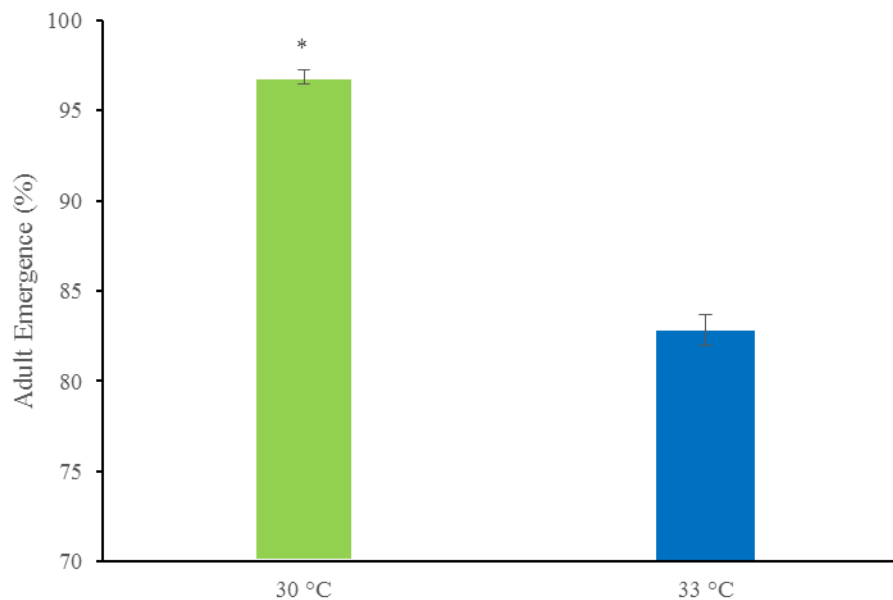


شکل ۱ - نرخ پارازیتسیم زنبورهای *Trichogramma brassicae* تیمار شده در دماهای ۳۰ و ۳۳ درجه سلسیوس برای ۲۰۰ عدد تخم. علامت ستاره نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد می‌باشد.

Fig. 1 - Parasitism rate of *Trichogramma brassicae* treated at temperatures of 30 and 33°C. The asterisk indicates a significant difference at the 0.01 level.

بعد از اتمام برنامه تکثیر، منحنی ذوب از دمای ۶۵-۹۴ درجه سلسیوس با شیب افزایش دمایی یک درجه سلسیوس ترسیم گردید. تمام نمونه‌ها در سه تکرار بیولوژیک حاوی سه تکرار تکنیکال مورد ارزیابی قرار گرفتند. کمیت نسبی بیان ژن با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد (Livak & Schmittgen, 2001). اهمیت تفاوت در بیان ژن با استفاده از نرم افزار Rest 2009 تعیین شد.

تجزیه آماری. تجزیه و تحلیل آماری به منظور تعیین معنی‌دار بودن تفاوت بین تیمارها با استفاده از آزمون آماری Paired Samples t-test و نرم افزار SPSS 26 انجام گرفت. برای تجزیه آماری نسبت جنسی نیز از آزمون کای اسکوئر دوسویه (Chi-Square test) در سطح احتمال ۰/۰۱ ($P < 0/01$) استفاده شد (SAS 9.4).



شکل ۲ - درصد خروج زنبورهای بالغ *Trichogramma brassicae* تیمار شده در دماهای ۳۰ و ۳۳ درجه سلسیوس. علامت ستاره نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد می‌باشد.

Fig. 2- The emergence percentage of *Trichogramma brassicae* adults treated at temperatures of 30 and 33°C. The asterisk indicates a significant difference at the 0.01 level.

نتایج

نرخ پارازیتیسیم. نتایج حاصل از تجزیه واریانس میزان پارازیتیسیم توسط هر ماده نشان داد که بین زنبورهای پرورش یافته در ۳۰ و ۳۳ درجه سلسیوس اختلاف معنی داری وجود دارد (T -test, $df=29$, $t=4/16$, $P<0/01$). این نتایج که در شکل ۱ نشان داده شده مشخص می کند که زنبورهای مورد بررسی در دمای ۳۰ درجه سلسیوس قدرت پارازیتیه کردن بیشتری دارند و افزایش دما سبب کاهش قدرت تخم گذاری این زنبورها شده است.

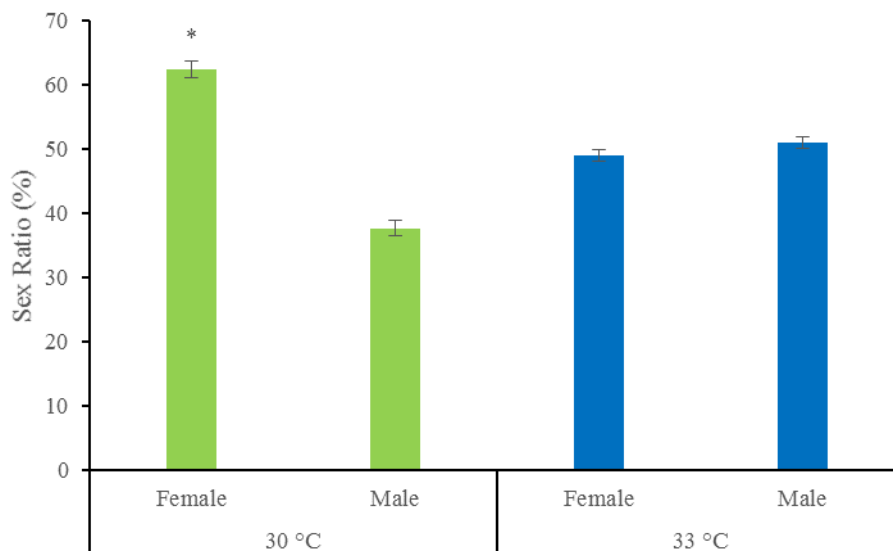
درصد خروج بالغین. مقایسه ای انجام شده بین میانگین های زنبورهای خارج شده در دو تیمار بیانگر وجود اختلافی معنی دار در درصد خروج بالغین از تخم های میزبان بود (T -test, $df=29$, $t=13/43$, $P<0/01$). همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده است با افزایش دما، نمو زنبور *T. brassicae* مختل شده و درصدی قابل توجه از افراد در همان مراحل اولیه پیش از بلوغ از بین می روند.

دوره رشدی پیش از بلوغ. نتایج نشان داد بین طول دوره پیش از بلوغ زنبورهای *T. brassicae* تحت تاثیر دماهای ۳۰ و ۳۳ درجه سلسیوس تفاوتی معنی دار وجود دارد (T -test, $df=128$, $t=20/365$, $P<0/01$). دوره پیش از بلوغ در دمای ۳۰ درجه سلسیوس برابر با $9/15 \pm 0/029$ روز و در دمای ۳۳ درجه سلسیوس برابر با $8/3 \pm 0/029$ روز بدست آمد. بنابراین، نتایج نشان می دهد که افزایش دما می تواند دوره رشدی پیش از بلوغ را در زنبورها کاهش دهد.

طول عمر افراد بالغ. تجزیه ای آماری داده ها نشان داد که بین طول عمر زنبورهای *T. brassicae* در دو دمای ۳۰ و ۳۳ درجه سلسیوس تفاوت معنی داری وجود دارد (T -test, $df=29$, $t=6/15$, $P<0/01$). زنبورهای بالغ *T. brassicae* در دمای ۳۰ درجه سلسیوس $4/5 \pm 0/21$ روز و در دمای ۳۳ درجه سلسیوس به مدت $3/5 \pm 0/16$ روز زنده ماندند. بر این اساس، با افزایش دما طول عمر زنبورهای بالغ کاهش یافت، به گونه ای که در دمای ۳۳ درجه سلسیوس میانگین عمر زنبورهای بالغ به کمتر از ۴ روز رسیده است.

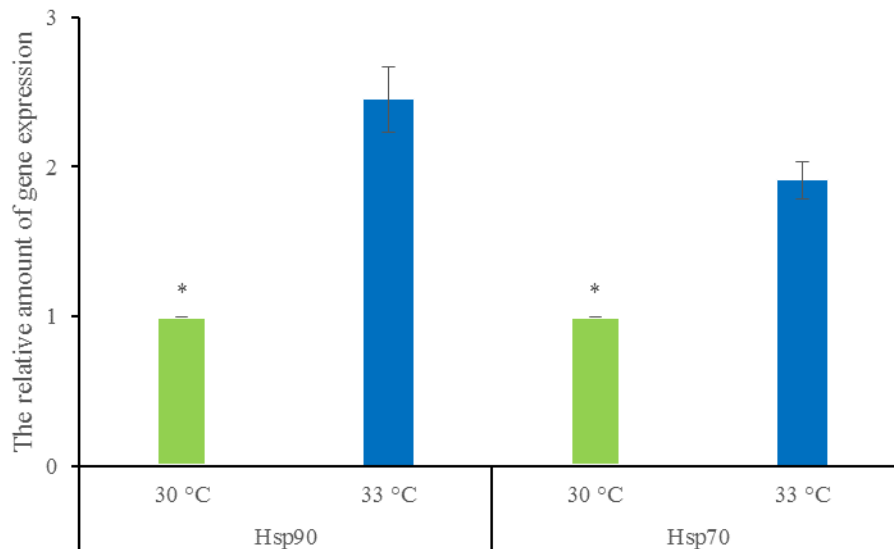
نسبت جنسی. با تحلیل آماری داده های نسبت جنسی زنبورها مشخص شد که از این نظر بین دو دما اختلاف معنی داری وجود دارد (χ^2 square test, $df=1$, $P<0/01$). با توجه به نتایجی که در شکل ۳ آمده است در دمای ۳۰ درجه سلسیوس نسبت جنسی به نفع ماده ها بوده که درصد ماده ها برابر با $62 \pm 1/3$ درصد است در حالی که در دمای ۳۳ درجه سلسیوس نسبت جنسی به نفع نرها و درصد نرها در جمعیت برابر با $51 \pm 0/9$ درصد بود.

پروتئین های شوک دمایی. در مورد پروتئین های دمایی تجزیه آماری نتایج نشان داد که بین بیان ژن *hps90* در زنبورهای *T. brassicae* مورد بررسی در دماهای ۳۰ و ۳۳ درجه سلسیوس، اختلاف معنی داری وجود دارد (T -test, $df=2$, $t=6/57$, $P<0/01$). همچنین میزان بیان ژن *hps70* بین دو تیمار مختلف دارای اختلافی معنی دار بود (T -test, $df=2$, $t=7/27$, $P<0/01$). پروتئین شوک دمایی HSP90 بیشتر از پروتئین شوک دمایی HSP70 تحت تاثیر افزایش دما تغییر کرده و بیان آن افزایش یافته است (شکل ۴).



شکل ۳- نسبت جنسی زنبورهای *Trichogramma brassicae* تیمار شده در دمای ۳۰ و ۳۳ درجه سلسیوس. علامت ستاره نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح یک درصد می باشد.

Fig. 3- Sex ratio of *Trichogramma brassicae* treated at 30 and 33°C. The asterisk indicates a significant difference at the 0.01 level .



شکل ۴ – میزان بیان ژن‌های پروتئین‌های دمایی HSP90 و HSP70 زنبورهای *Trichogramma brassicae* تیمار شده در دمای ۳۰ و ۳۳ درجه سلسیوس. علامت ستاره نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد می‌باشد.

Fig. 4 - Expression level of HSP70 and HSP90 temperature proteins genes of *Trichogramma brassicae* treated at 30 and 33°C. The asterisk indicates a significant difference at the 0.01 level.

بحث و نتیجه گیری

تغییرات اقلیمی کره‌ی زمین و افزایش دمای آن باعث تحمیل طیف گسترده‌ای از تغییرات فیزیولوژیکی، زیستی و مولکولی در حشرات شده است. تنش‌های محیطی ایجاد شده منجر به تولید ترکیبات اکسیژنی فعال (Reactive oxygen species) در سطح سلول‌ها می‌شود که این ترکیبات بسیار واکنش پذیر بوده و به ترکیبات مختلف شامل لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها در سطح سلول حمله کرده و فعالیت آنها را مختل می‌نمایند. Zhao *et al.* (2020) گزارش کردند که پرورش عنکبوت *Hylyphantes graminicola* (Araneae: Linyphiidae) در دماهای بالاتر از بهینه منجر به افزایش تولید ترکیبات اکسیژنی فعال گردیده است. ساز و کار دفاعی حشرات در برابر تنش‌های محیطی شامل پروتئین‌های شوک حرارتی و سیستم آنتی‌اکسیدانی است. پروتئین‌های شوک حرارتی به عنوان پروتئین‌هایی شناخته می‌شوند که با تاثیر روی طیف گسترده‌ای از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی باعث سازگاری موجود با محیط اطراف خود می‌شوند. (King & MacRae, 2015). خانواده پروتئین‌های دمایی متشکل از پروتئین‌ها با اندازه و وزن مولکولی متفاوتی می‌باشند که شامل HSP90، HSP100، HSP70، HSP60 و HSP40 و پروتئین‌های کوچک (sHSP) هستند. افزایش بیان ژن‌های *hsp* در شرایط تنش دمایی در پژوهش‌های مختلفی همانند پژوهش حاضر گزارش شده است (King & MacRae, 2015; Basha *et al.*, 2012). اگرچه پروتئین‌های دمایی در واکنش به شرایط تنش‌زا تولید می‌شوند اما باید توجه داشت که هر کدام از آنها وظایفی خاص، در شرایط غیر تنش بر عهده دارند و به عنوان مولکول‌های چاپرون، در فرایند تشکیل پروتئین‌های مختلف شرکت می‌کنند. به عنوان مثال، HSP70 در فرایند تا زدن و تشکیل ساختار سه بعدی پروتئین از رشته‌های پلی‌پپتید تازه ترجمه شده شرکت دارند در حالی که HSP90 باعث حفظ ساختار سه بعدی پروتئین‌های موجود می‌شود (Ding *et al.*, 2021). در این پژوهش میزان بیان دو ژن شوک حرارتی مورد بررسی (*hsp70* و *hsp90*) به دنبال تنش دمایی ایجاد شده افزایش یافت. افزایش میزان بیان ژن شوک حرارتی *hsp70* به دلیل تشکیل پروتئین‌های حفاظتی در طی فرایند مقابله با تنش دمایی ایجاد شده می‌باشد. مهم‌ترین پروتئین‌های حفاظتی تولید شده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند. این آنزیم‌ها نقشی مهم در تعدیل تنش ایجاد شده در موجودات زنده از طریق کاهش غلظت ترکیبات اکسیژنی فعال دارند به عنوان مثال آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز منجر به تبدیل ROS به پراکسید هیدروژن می‌گردد و به دنبال تولید پراکسید هیدروژن، آنزیم کاتالاز منجر به تبدیل آن به اکسیژن و آب می‌شود. در شرایط تنش، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد؛ بنابراین نیاز به HSP70 برای تا کردن این پروتئین‌ها جهت تشکیل شکل سه بعدی و فعال آنها ضروری می‌باشد (Tan *et al.*, 2019). از سوی دیگر افزایش غلظت ترکیبات اکسیژنی فعال منجر به تخریب ساختار سه بعدی پروتئین‌های موجود (ساختاری و عملکردی) می‌گردد که به دنبال آن نیاز به HSP90 جهت تا کردن مجدد این پروتئین‌های تخریب شده ضروری می‌باشد که این موضوع منجر به افزایش بیان *hsp90* تحت شرایط تنش می‌شود (Pascual *et al.*, 2023).

حشرات برای طی مراحل رشد و نمو خود نیاز به تامین انرژی از منابع غذایی دارند و این انرژی کسب شده صرف رشد، نمو و تولید مثل آنها می‌شود. قرار گیری در شرایط تنش منجر به صرف انرژی کسب شده جهت حفظ حالت پایدار بدن (هموستازیس) می‌شود که این موضوع رشد، نمو و تولید مثل حشره را تحت تاثیر قرار خواهد داد. تولید پروتئین فرایندی بسیار انرژی‌بر بوده، به طوریکه گزارش شده است حدود ۴۰ درصد انرژی حشرات صرف تولید پروتئین‌های مختلف طی مراحل رشدی می‌گردد. اما باید توجه داشت که این سازگار شدن با شرایط تنش‌زا که منجر به تولید سامانه آنتی‌اکسیدانی و افزایش تولید HSPs می‌شود، پرهزینه است و باعث افزایش مصرف ATP در بدن می‌شود (King & MacRae, 2015; Chatterjee *et al.*, 2018). به عنوان نمونه اشاره شده است که

Ectomyeloid ceratoniae Zeller در مواجهه با شرایط تنش‌زای محیطی با افزایش بیان ژن‌های *hsp70* و *hsp90* و افزایش تولید مالون دی آلدئید و افزایش فعالیت دو آنزیم آنتی‌اکسیدانی، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) به این شرایط پاسخ می‌دهد (Farahani et al., 2023). با مصرف بیشتر منابع انرژی بدن برای تولید این پروتئین‌ها و سازش با محیط، منابع اندکی برای فعالیت‌های زیستی دیگر باقی می‌ماند در نتیجه حشره با تأخیر در رشد و کاهش باروری و تولید مثل مواجه خواهد شد (Sørensen et al., 2003). بر اساس نتایج پژوهش حاضر، مشخص شد که با افزایش دما اگرچه بیان پروتئین‌های دمایی افزایش یافته اما نرخ خروج و پارازیتسم و نسبت ماده‌ها کاهش می‌یابد. در تایید با پژوهش حاضر del Pino et al. (2020) گزارش کرده‌اند که در زنبورهای *Trichogramma achaeae* Nagaraja and Nagarkatti تا دمای ۳۰ درجه سلسیوس طول دوره رشدی کوتاه می‌شود اما با افزایش دما به ۳۵ درجه سلسیوس زنده‌مانی لاروها و درصد خروج بالغ و نسبت جنسی ماده‌ها کاهش یافته است. همچنین Atashi et al. (2023) با توجه به بررسی‌های خود روی زنبور *Trichogramma euproctidis* Girault در چندین دمای مختلف گزارش نمودند که اگرچه طول دوره رشدی در دمای ۳۳ درجه سلسیوس به کمترین حد خود رسیده اما میزان زنده‌مانی در این دما نسبت به بقیه دماها کاهش یافته است و زنبورهای کمتری تحمل رشد و بقا در چنین دمایی را داشتند.

با توجه با نتایج پژوهش حاضر و گزارش‌های پژوهشگران دیگر می‌توان این‌گونه استدلال کرد که افزایش دمای کره‌ی زمین می‌تواند روی پارازیتوئیدها و به تبع آن در میزان اثر بخشی روش‌های کنترل بیولوژیک تأثیر منفی بگذارد. استفاده موفقیت‌آمیز از راهبرد کنترل بیولوژیک توسط گونه‌های جنس *Trichogramma* به عواملی مانند آگاهی از پتانسیل گونه و یا سوبیه مورد استفاده، میزبانی که باید کنترل شود، نیازهای حرارتی و تأثیر شرایط آب و هوایی غالب بستگی دارد. بنابراین، این عوامل ممکن است برای موفقیت کنترل آفات و پارازیتسم موفق آن تعیین کننده باشد (Marchioro et al., 2015). به‌عنوان نمونه Wang et al. (2004) با بررسی چندین دمای مختلف نشان دادند که میزان پارازیتسم و نرخ خروج در دمای ۳۳ درجه سلسیوس کمتر از دماهای دیگر است و با افزایش دما پراسنجه‌های زیستی آفت دستخوش تغییر می‌شود. همچنین نتایج مشابهی توسط Bari et al. (2015) از ارزیابی عملکرد *Trichogramma zahiri* (Polaszek, 2002) روی تخم‌های *Diadisa armigera* (Oliver, 180) به دست آمد که نشان می‌داد پایین‌ترین نرخ پارازیتسم در دماهای ۱۸ و ۳۴ درجه سلسیوس بوده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش دما، زنبور برای سازگاری و خنثی کردن اثرات مضر آن با تخصیص منابع بیشتر برای تولید پروتئین‌های دمایی، انرژی کمتری برای رشد و تولیدمثل در اختیار خواهد داشت و این می‌تواند منجر به کاهش اثرگذاری آن‌ها در کنترل آفات شود که می‌تواند منجر به طغیان آفات شود.

سپاسگاری

از دانشگاه بوعلی سینا بابت تأمین منابع مالی و حمایت از این تحقیق، قدردانی می‌شود.

حمایت مالی و معنوی

این مقاله براساس بخشی از نتایج حاصل از اجرای رساله دکتری نویسنده‌ی اول و با حمایت دانشگاه بوعلی سینا همدان بوده و بخشی از هزینه‌های آن توسط دانشگاه بوعلی سینا تأمین شد.

REFERENCES

- Amiri, A., Bandani, A. R. & Alizadeh, H. (2016) Molecular identification of cysteine and trypsin protease, effect of different hosts on protease expression, and rnaI mediated silencing of cysteine protease gene in the sunn pest. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 91(4), 189-209. <https://doi.org/10.1002/arch.21311>.
- Atashi, N., Seraj, A. A., Rasekh, A. & Hemmati, S. A. (2023) The effect of temperature on the bionomics of *Trichogramma euproctidis* (Hym.: Trichogrammatidae) parasitizing the tomato fruitworm, *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae). *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*. <https://doi.org/10.22055/PPR.2023.42910.1677>.
- Bari, M. N., Jahan, M. & Islam, K. S. (2015) Effects of temperature on the life table parameters of *Trichogramma zahiri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), an egg parasitoid of *Diadisa armigera* (Chrysomelidae: Coleoptera). *Environmental Entomology* 44(2), 368-378. <https://doi.org/10.1093/ee/nvu028>
- Basha, E., O'Neill, H. & Vierling, E. (2012) Small heat shock proteins and α -crystallins: dynamic proteins with flexible functions. *Trends in Biochemical Sciences* 37(3), 106-117. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2011.11.005>
- Bellows, T. S. & Fisher, T. W. (1999). *Handbook of biological control: principles and applications of biological control* (No. 632.96 B4).
- Battisti, A., Stastny, M., Netherer, S., Robinet, C., Schopf, A., Roques, A. & Larsson, S. (2005) Expansion of geographic range in the pine processionary moth caused by increased winter temperatures. *Ecological Applications* 15(6), 2084-2096. <https://doi.org/10.1890/04-1903>

- Bowen, W. R. & Stern, V. M.** (1966) Effect of temperature on the production of males and sexual mosaics in a uniparental race of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annals of the Entomological Society of America* 59(4), 823-834. <https://doi.org/10.7717/peerj.7567>
- Bradshaw, W. E. & Holzapfel, C. M.** (2001) Genetic shift in photoperiodic response correlated with global warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(25), 14509-14511. <https://doi.org/10.1073/pnas.241391498>
- Chatterjee, P., Samaddar, S., Niinemets, Ü. & Sa, T. M.** (2018) *Brevibacterium linens* RS16 confers salt tolerance to *Oryza sativa* genotypes by regulating antioxidant defense and H⁺ ATPase activity. *Microbiological Research* 215, 89-101. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.06.007>
- Coelho Jr, A., Rugman-Jones, P. F., Reigada, C., Stouthamer, R. & Parra, J. R.** (2016) Laboratory performance predicts the success of field releases in inbred lines of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *PLoS One* 11(1), e0146153. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146153>
- Consoli, F. L., Parra, J. R. & Zucchi, R. A. (Eds.)**. (2010) *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma* (Vol. 9). Springer Science & Business Media.
- Cox, P. M., Betts, R. A., Jones, C. D., Spall, S. A. & Totterdell, I. J.** (2000) Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model. *Nature* 408(6809), 184-187. <https://doi.org/10.1038/35041539>.
- Dandan, X., Deshuai, A. & Jianqin, Z.** (2022) Dynamics of the Alpine Treeline Ecotone under Global Warming: A Review. *Journal of Resources and Ecology* 13(3), 476-482. <https://doi.org/10.5814/j.issn.1674-764x.2022.03.012>
- de Freitas Bueno, R. C. O., Parra, J. R. P. & de Freitas Bueno, A.** (2012) *Trichogramma pretiosum* parasitism of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatilis* eggs at different temperatures. *Biological Control* 60(2), 154-162. <https://doi.org/10.1590/1806-9665-RBENT-2019-105>
- Del Pino, M., Gallego, J. R., Hernández Suárez, E. & Cabello, T.** (2020) Effect of temperature on life history and parasitization behavior of *Trichogramma achaeae* Nagaraja and Nagarkatti (Hym.: Trichogrammatidae). *Insects* 11(8), 482. <https://doi.org/10.3390/insects11080482>
- Ding, Z., Kong, Y., Qi, C., Liu, Y., Zhang, Y. & Ye, J.** (2021) The alleviative effects of taurine supplementation on growth, antioxidant enzyme activities, hepatopancreas morphology and mRNA expression of heat shock proteins in freshwater prawn *Macrobrachium nipponense* (De Haan) exposed to dietary lead stress. *Aquaculture Nutrition* 27(6), 2195-2204. <https://doi.org/10.1111/anu.13354>
- Farahani, S., Bandani, A. R., Alizadeh, H., Goldansaz, S. H., & Whyard, S.** (2020) Differential expression of heat shock proteins and antioxidant enzymes in response to temperature, starvation, and parasitism in the Carob moth larvae, *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae). *PLoS one*, 15(1), e0228104. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228104>
- Farahani, S. & Bandani, A. R.** (2023) Plant essential oils induce expression of heat shock proteins and antioxidant enzyme activity in carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae). *European Journal of Entomology* 120(1), 161-169. <https://doi.org/10.14411/eje.2023.021>
- Gaston, A. J., Gilchrist, H. G. & Hipfner, J. M.** (2005) Climate change, ice conditions and reproduction in an Arctic nesting marine bird: Brunnich's guillemot (*Uria lomvia* L.). *Journal of Animal Ecology* 832-841. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2005.00982.x>
- Gibbs, J. P. & Breisch, A. R.** (2001) Climate warming and calling phenology of frogs near Ithaca, New York, 1900–1999. *Conservation Biology* 15(4), 1175-1178.
- Gilman, S. E., Wethey, D. S. & Helmuth, B.** (2006) Variation in the sensitivity of organismal body temperature to climate change over local and geographic scales. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103(25), 9560-9565. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510992103>
- Hassall, C., Thompson, D. J., French, G. C. & Harvey, I. F.** (2007) Historical changes in the phenology of British Odonata are related to climate. *Global Change Biology* 13(5), 933-941. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01318.x>
- Iranipour, S., Farazmand, A., Saber, M. & Mashhadi, J. M.** (2009) Demography and life history of the egg parasitoid, *Trichogramma brassicae*, on two moths *Anagasta kuehniella* and *Plodia interpunctella* in the laboratory. *Journal of Insect Science* 9(1). <https://doi.org/10.1673/031.009.5101>

- Iranipour, S., Vaez, N., Nouri Ghanbalani, G., Asghari Zakaria, R. & Mashhadi Jafarloo, M. (2010) Effect of host change on demographic fitness of the parasitoid, *Trichogramma brassicae*. *Journal of Insect Science* 10(1), 78. <https://doi.org/10.1673/031.010.7801>
- Katz, M. E., Wright, J. D., Miller, K. G., Cramer, B. S., Fennel, K. & Falkowski, P. G. (2005) Biological overprint of the geological carbon cycle. *Marine Geology* 217(3-4), 323-338. <https://doi.org/10.1016/j.margeo.2004.08.005>
- King, A. M. & MacRae, T. H. (2015) Insect heat shock proteins during stress and diapause. *Annual Review of Entomology* 60, 59-75. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162107>
- Kiritani, K. (2006) Predicting impacts of global warming on population dynamics and distribution of arthropods in Japan. *Population Ecology* 48(1), 5-12. <https://doi.org/10.1007/s10144-005-0225-0>
- Li, T. H., Tian, C. Y., Zang, L. S., Hou, Y. Y., Ruan, C. C., Yang, X., Monticelli, L. & Desneux, N. (2019). Multiparasitism with *Trichogramma dendrolimi* on egg of Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*, enhances emergence of *Trichogramma ostrinae*. *Journal of Pest Science* 92, 707-713. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-1018-5>
- Livak, K. J. & Schmittgen, T. D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method. *Methods* 25(4), 402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Lu, J., Vecchi, G. A. & Reichler, T. (2007) Expansion of the Hadley cell under global warming. *Geophysical Research Letters* 34(6). <https://doi.org/10.1029/2006GL028443>
- Lundgren, J. G., Heimpel, G. E. & Bomgren, S. A. (2002) Comparison of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) augmentation with organic and synthetic pesticides for control of cruciferous Lepidoptera. *Environmental Entomology* 31(6), 1231-1239. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-31.6.1231>
- Macpherson, J. S., Jodrell, D. I. & Guichard, S. M. (2006) Validation of real-time reverse-transcription-polymerase chain reaction for quantification of capecitabine-metabolizing enzymes. *Analytical Biochemistry* 350(1), 71-80. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.11.040>
- Marchioro, C. A., Krechmer, F. S. & Foerster, L. A. (2015) Assessing the total mortality caused by two species of *Trichogramma* on its natural host *Plutella xylostella* (L.) at different temperatures. *Neotropical Entomology* 44, 270-277. <https://doi.org/10.1007/s13744-014-0263-4>
- Menzel, A. (2002) Phenology: its importance to the global change community. *Climatic Change* 54(4), 379. <https://doi.org/10.1023/A:1016125215496>
- Menzel, A., Estrella, N. & Testka, A. (2005) Temperature response rates from long-term phenological records. *Climate Research* 30(1), 21-28. <https://doi.org/10.3354/cr030021>
- Miles, J. E., Bale, J. S. & Hodkinson, I. D. (1997) Effects of temperature elevation on the population dynamics of the upland heather psyllid *Strophingia ericae* (Curtis) (Homoptera: Psylloidea). *Global Change Biology* 3(3), 291-297. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.1997.00079.x>
- Negahban, M., Sedaratian-Jahromi, A., Ghane-Jahromi, M., Haghani, M. & Zalucki, M. P. (2021) Response of *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae) to temperature: Utilizing thermodynamic models to describe curvilinear development. *Crop Protection* 143, 105562. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105562>
- Pascual, S., Rodríguez-Álvarez, C. I., Kaloshian, I. & Nombela, G. (2023) Hsp90 gene is required for Mi-1-mediated resistance of tomato to the Whitefly *Bemisia tabaci*. *Plants* 12(3), 641. <https://doi.org/10.3390/plants12030641>
- Robinet, C. & Roques, A. (2010) Direct impacts of recent climate warming on insect populations. *Integrative Zoology* 5(2), 132-142. <https://doi.org/10.1111/j.1749-4877.2010.00196.x>
- Roth, T., Plattner, M. & Amrhein, V. (2014) Plants, birds and butterflies: short-term responses of species communities to climate warming vary by taxon and with altitude. *PloS One* 9(1), e82490. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082490>
- Roy, D. B. & Sparks, T. H. (2000) Phenology of British butterflies and climate change. *Global Change Biology* 6(4), 407-416. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2000.00322.x>
- Sagarin, R. D., Barry, J. P., Gilman, S. E. & Baxter, C. H. (1999) Climate-related change in an intertidal community over short and long time scales. *Ecological Monographs* 69(4), 465-490. <https://doi.org/10.2307/2657226>
- Schwartz, M. D. (Ed.). (2003) Phenology: an integrative environmental science (p. 564). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

- Sørensen, J. G., Kristensen, T. N. & Loeschcke, V. (2003) The evolutionary and ecological role of heat shock proteins. *Ecology Letters* 6(11), 1025-1037. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00528.x>
- Tan, K., Zhang, B., Ma, H., Li, S. & Zheng, H. (2019) Oxidative stress responses of golden and brown noble scallops *Chlamys nobilis* to acute cold stress. *Fish & Shellfish Immunology* 95, 349-356. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.047>
- Tissi eres, A., Mitchell, H. K. & Tracy, U. M. (1974) Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs. *Journal of Molecular Biology* 84(3), 389-398. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(74\)90447-1](https://doi.org/10.1016/0022-2836(74)90447-1).
- Ulrich, W. (1999) Species composition, coexistence and mortality factors in a carrion-exploiting community composed of necrophagous Diptera and their parasitoids(Hymenoptera). *Polish Journal of Ecology* 47(1), 49-72.
- Visser, M. E., Both, C. & Lambrechts, M. M. (2004) Global climate change leads to mistimed avian reproduction. *Advances in Ecological Research* 35, 89-110. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(04\)35005-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(04)35005-1)
- Walther, G. R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T. J., Fromentin, J. M., Hoegh-Guldberg, O. & Bairlein, F. (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416(6879), 389-395. <https://doi.org/10.1038/416389a>.
- Wang, B., Ferro, D. N., Wu, J. & Wang, S. (2004) Temperature-dependent development and oviposition behavior of *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), a potential biological control agent for the European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *Environmental Entomology* 33(4), 787-793. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-33.4.787>
- Wunderling, N., Winkelmann, R., Rockstr om, J., Loriani, S., Armstrong McKay, D. I., Ritchie, P. D., Sakschewski, B. & Donges, J. F. (2023). Global warming overshoots increase risks of climate tipping cascades in a network model. *Nature Climate Change* 13(1), 75-82. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1418830/v1>
- Zhao, L. & Jones, W. A. (2012) Expression of heat shock protein genes in insect stress responses. *Invertebrate Survival Journal* 9(1), 93-101.
- Zhao, Y., Li, Y., He, M., Yun, Y. & Peng, Y. (2020) Antioxidant responses of the pest natural enemy *Hylyphantes graminicola* (Araneae: Linyphiidae) exposed to short-term heat stress. *Journal of Thermal Biology* 87, 102477. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.102477>

Response of *Trichogramma brassicae* to increasing temperature using molecular and biological methods

Pouria Abrun¹ , Hosein Madadi¹ , Arash Zibaii²  & Foad Fatehi³ 

1- Department of plant protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

✉ pouria.abrun@gmail.com  <https://orcid.org/0009-0000-5877-8569>

✉ hmadadi@basu.ac.ir  <https://orcid.org/0000-0002-7868-3468>

2- Department of plant protection, Faculty of Agriculture, Gilan University, Gilan, Iran

✉ arash.zibae@guilan.ac.ir  <https://orcid.org/0000-0001-8819-3166>

3- Department of Agriculture, Payam Noor University, Tehran, Iran

✉ ffatehi@pnu.ac.ir  <https://orcid.org/0000-0003-3261-080x>

Article History

Received: 9 May 2023 | Accepted: 20 July 2023 | Subject Editor: Javad Karimi

Abstract

The increase in the earth's temperature is one of the latest problems threatening the earth's ecosystem. Insects, as poikilothermic organisms, have a high dependence on their environment's temperature, so increasing global temperature makes impressions on their distributions, activity, and biological parameters. *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) wasp is one of Iran's most important biological control agents used to control many species of lepidopterans. In this study, the effect of temperature changes on biological parameters and the expression of two heat shock genes, *hsp70* and *hsp90*, in *T. brassicae* was studied under laboratory conditions. At first, the main *T. brassicae* colony was divided into two groups, each separately reared for 20 generations at 30 and 33 °C. Then, biological parameters, such as the rate of parasitism, appearance rate, and sex ratio, beside two heat shock gene expressions were assessed. The results indicated that at 33 °C, the HSP90 and HSP70 expressions were 2.45 and 1.9 times more than 30 °C, respectively, suggesting significant differences at a 99% confidence level. Furthermore, the parasitism rate of *T. brassicae* at 30 and 33 °C were 53.5 ± 2.09 and 40.7 ± 2.14 (from 200 initial eggs), respectively. The results showed that rearing at higher temperature caused to affect the sex ratio, adult appearance rate, and preadult development time. The results of the current study show that increasing global temperature could reduce the natural enemies' efficacy, which will lead to an increase in the probability of pest outbreaks.

Keywords: Heat shock proteins, *Trichogramma*, Biological parameters, Gene expression

Corresponding Author: Hosein Madadi (Email: hmadadi@basu.ac.ir)

Citation: Abrun, P., Madadi, H., Zibaii, A. & Fatehi, F. (2023) Response of *Trichogramma brassicae* to increasing temperature using molecular and biological methods. *J. Entomol. Soc. Iran* 43 (3), 195–205. <https://doi.org/10.61186/jesi.43.3.1>