مطالعه فراسنجه‌های جدول زندگی زنبور انگل‌واره *Habrobracon hebetor* (Say) روی کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* (Hübner) آلوده به باکتری *Bacillus thuringiensis* Berliner

ناهید واعظ[1*]، شهزاد ایرانی‌پور[2] و میرجلیل حجازی[3]

[1] استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

[2] دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[3] استاد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

*مسئول مکاتبه: naheedvaez@gmail.com

تاریخ دریافت: 91/12/27 تاریخ پذیرش: 92/09/23

چکیده

کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* (Hübner) یکی از آفات مهم پنبه محسوب می‌شود. امروزه در ایران، عملیات کنترل تلفیقی کرم غوزه پنبه، با استفاده از *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) همراه با زنبور براکون یا تریکوگراما اجرا می‌شود. برای بررسی اثرات غیرمستقیم باکتری روی زنبور *Habrobracon hebetor* (Say)، جدول زندگی آن روی لاروهای سن سوم کرم غوزه پنبه، در شاهد (لاروهای تغذیه‌شده با غذای مصنوعی معمولی فاقد باکتری) و تیمار باکتری (لاروهای سن سوم تغذیه‌شده با غذای مصنوعی حاوی غلظت LC_{20} باکتری) در دمای 1± 26 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد و شرایط نوری 8 : 16 ساعت (تاریکی : روشنایی) مطالعه شد. نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m)، نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ)، نرخ خالص تولیدمثل (R_0)، متوسط مدت زمان نسل (T) و زمان دوبرابر شدن جمعیت (DT) برای شاهد و تیمار باکتری به‌ترتیب 0/017 ± 0/2051، 0/017 ± 0/1644 بر روز، 0/021 ± 1/227، 0/021 ± 1/178 بر روز، 17/60 ± 61/863، 6/81 ± 28/32 بر نسل، 0/70 ± 20/10، 0/70 ± 20/33 روز، 0/15 ± 3/37، 0/36 ± 4/21 روز برآورد گردید. امید زندگی زنبور در اولین روز در شاهد 25/5 و تیمار باکتری 16/83 روز بود. نتایج نشان داد که باکتری *B. thuringiensis* تأثیر منفی بر خصوصیات زیستی زنبور *H. hebetor* داشته و موجب کاهش رابطه انگلی و نرخ رشد لحظه‌ای جمعیت زنبور شده است.

واژه‌های کلیدی: بیمارگر حشرات، انگل‌واره، دز زیرکشنده، نرخ ذاتی افزایش جمعیت، نرخ خالص تولیدمثل

مقدمه

کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* (Hübner) از خانواده‌ی Noctuidae یکی از آفات مهم پنبه محسوب می‌شود که کنترل آن در اکثر نقاط دنیا با استفاده از حشره‌کش‌ها صورت می‌گیرد (بهداد 1381). خسارت بسیار زیاد این آفت و مقاوم‌شدن آن در برابر حشره‌کش‌های شیمیایی، موجب شده است تا برای کاهش اثرات جانبی ناخواسته و کنترل بهینه آفت، بحث مدیریت تلفیقی مورد نظر قرار گیرد و در این بین استفاده از عوامل میکروبی همراه با انگل‌واره‌های تخم و

لارو آفت بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (لامرز و مک لود 2007).

زنبور *Habrobracon hebetor* (Say) از خانواده Braconidae یکی از انگل‌واره‌های مهم بسیاری از بال-پولکداران به‌ویژه شب‌پره‌های خانواده‌های Noctuidae و Pyralidae می‌باشد که اکثر آن‌ها آفات مهم زراعی و انباری هستند (بیکر و فابریک 2000، ماگرو و پارا 2001، میلوناس 2005، امیرمعافی و چی 2006، عبدی بسطامی و همکاران 1389). این زنبور با حمله به مرحله لاروی میزبان‌های خود از ادامه تغذیه و ایجاد خسارت جلوگیری می‌کند (رسول خان و همکاران 2009). این انگل‌واره از نقاط مختلف دنیا روی میزبان‌های متعدد جمع‌آوری و گزارش شده است (هوپر 2003).

باکتری *Bacillus thuringiensis* Berliner به‌عنوان یک حشره‌کش زیستی موفق در بین سایر حشره‌کش‌های زیستی مطرح است و فرآورده‌های آن سالیانه در چندین میلیون هکتار علیه آفات مختلف از راسته‌های دوبالان، بال‌پولکداران و سخت‌بال‌پوشان مورد استفاده قرار می‌گیرد و به‌خاطر مزیت‌های فراوان جای‌گاه ویژه‌ای در مدیریت آفات دارد (تانادا و کایا 1993، پدیگو 1999، بیلی و همکاران 2010، جیکلی 2010، سانسیننا 2012). کریستال یا توکسین اصلی این باکتری (دلتا اندوتوکسین) به‌صورت حشره‌کش اختصاصی عمل می‌کند و روی موجودات غیرهدف اثر ناخواسته کمی دارد. متداول‌ترین زیرگونه این باکتری *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* است که بیشتر علیه لاروهای بال‌پولکداران مورد استفاده قرار می‌گیرد (وگا و کایا 2012). آلودگی میزبان به این باکتری به‌طور غیرمستقیم دشمنان طبیعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، طوری‌که ممکن است کارایی و میزان تأثیر آن‌ها را تا حد زیادی کاهش دهد یا روی رفتار، تغذیه و تحرک دشمنان طبیعی، سرعت تکثیر آن‌ها نسبت به میزبان یا تعادل جمعیت میزبان و دشمن طبیعی اثر نامطلوبی بر جای بگذارد (رخشانی 1381، هاجک و همکاران 2009، ساندراراجان 2012).

با این‌که امروزه در برخی نقاط پنبه‌کاری کشور از تلفیق حشره‌کش میکروبی *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* همراه با زنبورهای تریکوگراما یا براکون استفاده می‌شود (کنعانی و فقیهی 1387)، اما هنوز اطلاع دقیق و درستی از میزان اثر این ماده میکروبی روی دشمنان طبیعی کرم غوزه پنبه در دست نیست. بنابراین در این تحقیق اثر باکتری *B. thuringiensis* روی انگل-واره لارو کرم غوزه پنبه، *H. hebetor* مورد بررسی قرار گرفت تا معلوم شود که آیا استفاده از باکتری، تأثیر ناخواسته‌ای روی این انگل‌واره دارد یا خیر.

مواد و روش ها

پرورش کرم غوزه پنبه

حشرات مورد استفاده در این بررسی به‌صورت لاروهای سنین مختلف از پرورش‌های موجود در گلخانه گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز تهیه گردید. جهت پرورش لاروها از غذای مصنوعی با استفاده از روش ذکرشده توسط سینگ (1982) استفاده شد. لاروهای سنین یک تا چهار داخل ظروف استوانه‌ای پلاستیکی به - قطر 20 و ارتفاع 15 سانتی‌متر که حاوی مقدار کافی غذای مصنوعی بودند، نگهداری گردیدند. روی درب ظروف مزبور دو سوراخ به قطر 2/5 و فاصله 5/5 سانتی‌متر از یک‌دیگر، برای تهویه ایجاد و با پارچه‌ی توری 70 مش پوشانده شدند. تراکم مناسب برای لاروها در این ظروف حدود 120- 100 لارو به‌ازای هر ظرف بود (محمدی 1384). پس از این‌که لاروها به سن چهارم رسیدند، به‌منظور جلوگیری از هم‌نوع‌خواری، هر لارو به‌صورت انفرادی به داخل قوطی‌های فیلم معمولی به قطر دهانه سه و ارتفاع پنج سانتی‌متر منتقل شد که روی درب آن‌ها سوراخی به قطر 7/5 میلی‌متر ایجاد و با توری سیمی 16 مش پوشانده شده بود. بازدیدهای روزانه به‌منظور تمیزکردن ظروف و اضافه‌نمودن غذا

صورت گرفت. پس از ظهور حشرات کامل، تعداد 10 جفت حشره نر و ماده (به نسبت 1:1) داخل ظروف تخم-گیری منتقل گردید. ظروف تخم‌گیری عبارت بودند از استوانه‌های پلاستیکی شفاف به ارتفاع 18 و قطر دهانه 20 سانتی‌متر که دهانه آن‌ها با توری پارچه‌ای50 مش پوشانده شد و به‌منظور تغذیه حشرات کامل، داخل هر ظرف، یک قوطی فیلم حاوی حدود 35 میلی‌لیتر آب‌عسل 20 درصد قرار داده شد. توری‌های مذکور روزانه تعویض و تا تفریخ تخم‌ها نگهداری گردید. لاروهای سن یک ظاهرشده برای ادامه پرورش کلنی مورد استفاده قرار گرفتند. این کار به مدت شش نسل انجام گرفت و از لاروهای نسل ششم برای انجام آزمایش‌های اصلی استفاده شد.

پرورش زنبور انگل‌واره

کلنی اولیه زنبور *H. hebetor* مورداستفاده در این آزمایش، از پرورش‌های موجود در انسکتاریوم زنبور براکون وابسته به جهاد کشاورزی استان آذربایجان-شرقی واقع در منطقه خمارلوی شهرستان کلیبر تهیه شد. سپس در آزمایشگاه، شش نسل روی بید آرد، *Anagasta kuehniella* Zeller پرورش داده شد و زنبورهای نسل ششم برای انجام آزمایش‌های اصلی مورد استفاده قرار گرفتند.

جهت پرورش زنبورهای انگل‌واره *H. hebetor* از ظروف پتری پلاستیکی شفاف به قطر نه سانتی‌متر استفاده شد. داخل هر ظرف پتری 15 لارو سن آخر بید آرد که توسط پنس فلزی از ظروف پرورشی جدا شده بودند، به همراه سه جفت نر و ماده زنبور انگل‌واره رهاسازی شدند. برای تغذیه زنبورها از محلول آب‌عسل 20 درصد که روی نوارهای کاغذی به ابعاد 0/5×2/5 سانتی‌متر مالیده شده بود، استفاده گردید. پس از 24 ساعت زنبورها حذف و ظروف پتری حاوی لاروهای انگلی‌شده میزبان و تخم زنبور انگل‌واره روی آن‌ها، تا زمان ظهور حشرات کامل زنبور در اطاقک رشد در شرایط دمایی 1± 26 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد و شرایط نوری 8 : 16 ساعت (تاریکی : روشنایی) نگهداری شدند.

باکتری *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* PB54 Strain

باکتری مورداستفاده در این آزمایش، به‌صورت پودر قابل‌تعلیق در آب (WP) با نام تجارتی بلتی‌رول[1] ساخت شرکت Problete کشور اسپانیا از بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های جهاد کشاورزی تبریز تهیه شد. پودر مذکور حاوی 32000 واحد مؤثر بر میلی‌گرم اسپور و کریستال باکتری بود.

جمعیت‌نگاری[2] زنبور انگل‌واره *H. hebetor* در شاهد و تیمار باکتری

حشرات کامل تازه ظاهرشده‌ی زنبور در نسل ششم پرورش برای انجام آزمایش‌های اصلی مورد استفاده قرار گرفتند. برای تیمار شاهد،200 لارو سن سوم کرم غوزه پنبه به‌طور تصادفی انتخاب شدند. هر 20 لارو داخل یک ظرف پتری پلاستیکی به قطر نه سانتی‌متر انتقال داده شد و جهت جلوگیری از هم‌نوع‌خواری، مقداری غذای مصنوعی فاقد باکتری در اختیار آن‌ها قرار داده شد. سپس 10 زنبور ماده‌ی 24 ساعته جفت‌گیری-کرده داخل هر پتری رها و به‌مدت 24 ساعت اجازه داده شد که زنبورها لاروها را پارازیته کنند. پس از 24 ساعت، زنبورها از روی لاروها حذف، لاروهای حاوی تخم‌های زنبور جدا و با حذف تخم‌های اضافی فقط یک تخم روی هر لارو نگه داشته شد. سپس هر لارو به یک ظرف پتری پلاستیکی به قطر شش سانتی‌متر منتقل شد و تا زمان ظهور حشره‌ی کامل زنبور داخل اطاقک رشد در شرایط ذکرشده در بالا نگهداری گردید. پس از خروج حشرات کامل، افراد نر و ماده بر اساس شکل شاخک و

1. Belthirul
2. Demography

وجود تخم‌ریز در افراد ماده جدا شدند و یک جفت نر و ماده به پتری‌های پلاستیکی شش سانتی‌متری انتقال یافتند.

برای آماده‌سازی تیمار باکتری، 200 لارو سن سوم 24 ساعته کرم غوزه پنبه به‌طور تصادفی انتخاب شده، داخل ظروف استوانه‌ای پلاستیکی به قطر 20 و ارتفاع 15 سانتی‌متر منتقل و به مدت یک ساعت بدون تغذیه نگهداری شدند. سپس لاروها به مدت یک روز با غذای حاوی غلظت LC_{20} باکتری *B. thuringiensis* که بر اساس آزمایش‌های زیست‌سنجی مقدار آن $9/8 \times 10^5$ واحد بین‌المللی بر لیتر ماده‌ی غذایی[1] تعیین شده بود (واعظ و همکاران 2013)، تغذیه گردیدند. همانند شاهد، داخل ظرف پتری پلاستیکی به قطر دهانه نه سانتی‌متر، 20 لاروی که از غذای حاوی باکتری تغذیه شده بودند منتقل و مقداری غذای حاوی باکتری درون پتری قرار داده شد که تا حد ممکن از هم‌نوع‌خواری لاروها جلوگیری شود. سپس 10 زنبور ماده 24 ساعته جفت-گیری‌کرده داخل هر پتری رهاسازی و به مدت 24 ساعت اجازه داده شد که زنبورها لاروها را انگلی کنند. بقیه مراحل مشابه آزمایش شاهد انجام شد. حشرات کامل تازه ظاهرشده پس از جداسازی نر و ماده به تعداد یک جفت داخل ظروف پتری به قطر شش سانتی‌متر انتقال داده شدند. تعداد چهار لارو سن سوم کرم غوزه پنبه به‌صورت روزانه و تا زمان مرگ آخرین فرد ماده در اختیار زنبورهای ماده هر دو گروه قرار گرفت تا آن-ها را انگلی کنند. پس از 24 ساعت پتری حاوی لاروهای انگلی‌شده تعویض، تخم‌های زنبور شمارش و زنبورهای هر دو گروه به پتری‌های جدید با چهار لارو سن سوم 24 ساعته کرم غوزه پنبه منتقل شدند. جهت تغذیه زنبورها از آب‌عسل 20 درصد که روی یک تکه کاغذ به - ابعاد 1×1 سانتی‌متر مالیده شده بود، استفاده گردید. همه مراحل ذکرشده روزانه تا مرگ آخرین فرد برای شاهد و تیمار باکتری تکرار شد. تلفات نر و ماده، تعداد لارو فلج‌شده و تعداد تخم گذاشته‌شده روی هر لارو به تفکیک یادداشت گردید.

فراسنجه‌های زیستی مورد بررسی و نحوه محاسبه آن‌ها

برای تشکیل جدول زندگی و محاسبه فراسنجه‌های مربوط به‌آن، از روش کری (1993) استفاده‌شد. نرخ بقا (l_x) و امید زندگی (e_x) با استفاده از فرمول‌های مربوط محاسبه شدند. نوع منحنی بقا از روی مقدار انتروپی[4] تعیین گردید.

با استفاده از روش کری (1993) فراسنجه‌های رشد جمعیت پایدار شامل نرخ تولیدمثل ناخالص (GRR)، نرخ تولیدمثل خالص (R_0)، نرخ متناهی رشد (λ)، میانگین طول مدت یک نسل (T)، زمان دوبرابر شدن جمعیت (DT)، نرخ ذاتی تولد (b) و نرخ ذاتی مرگ (d) محاسبه گردیدند. مقدار دقیق نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m) با حل معادله اویلر- لوتکا (کری1993) محاسبه شد:

$$\sum_{x=0}^{w} l_x m_x e^{-r_m . x} = 1$$

طرح آزمایشی و نحوه تجزیه داده‌ها

آزمایش‌ها در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام شد. برای مقایسه دو تیمار از آزمون t در سطح احتمال یک و پنج درصد استفاده گردید. قبل از انجام آزمون t، آزمون تجانس واریانس‌های دو تیمار (آزمون F) برای هر فراسنجه صورت گرفت. در صورت معنی‌دار نبودن آزمون F از آزمون t با واریانس‌های مساوی و در صورت معنی‌دار بودن آن از آزمون t با واریانس‌های نامساوی نرم‌افزار Excel استفاده گردید. نمودارهای مربوط نیز در محیط Excel رسم شدند.

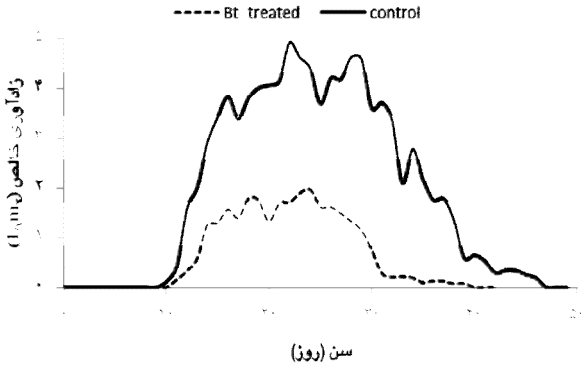
[1]. International Unit/ liter diet (IU/l diet)

[2]. Entropy

نتایج

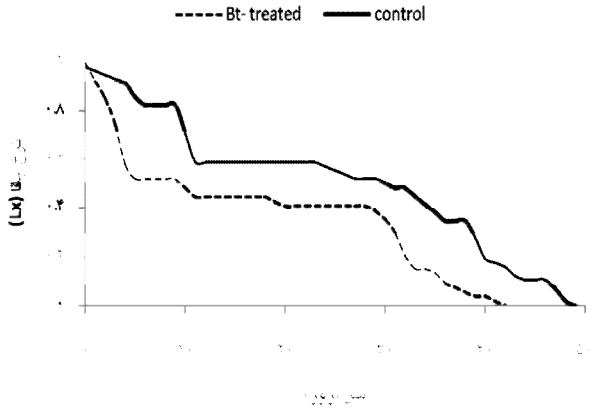
نتایج آزمایش مربوط به فراسنجه‌های زیستی زنبور نشان داد که میانگین طول عمر زنبورهای ماده *H. hebetor* روی لاروهای سن سوم کرم غوزه پنبه در شاهد و تیمار باکتری به‌ترتیب 2/34 ± 27/6 و 2/34 ± 22/42 روز و در این مدت میانگین تخم گذاشته‌شده به‌ترتیب 0/83± 213/30 و 0/83± 150/42 بود. آزمون t نشان داد که بین شاهد و تیمار باکتری هم از لحاظ طول عمر زنبورهای ماده (P = 0/04، t = 2/21، df =27) و هم از لحاظ میانگین تعداد تخم گذاشته‌شده (P = 0/013، t = 2/58، df =27) تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد وجود دارد، یعنی باکتری، طول عمر و میانگین تخم گذاشته‌شده توسط زنبورهای ماده را تحت تأثیر قرار داده است.

روند تخم‌گذاری روزانه زنبور *H. hebetor* روی لاروهای سن سوم *H. armigera* در شاهد و تیمار باکتری در شکل 1 نشان داده شده است. در روزهای اول خروج حشرات کامل، تعداد تخم گذاشته‌شده کم بود ولی در زمان کوتاهی بر میزان آن افزوده شد. بیشترین میزان تخم‌ریزی در شاهد تقریباً در روزهای پنج تا 21 طول عمر زنبور ماده و در تیمار باکتری در روزهای هفت تا 17 طول عمر حشره ماده زنبور دیده شد.



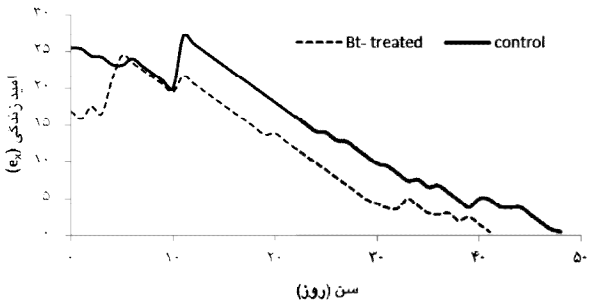
شکل 1- روند تخم‌گذاری روزانه زنبور ***H. hebetor*** روی لاروهای سن سوم ***H. armigera*** در شاهد و تیمار آغشته به غلظت LC_{20} باکتری ***B. thuringiensis***

منحنی بقای زنبور *H. hebetor* در شاهد نزدیک به نوع دوم و در تیمار باکتری از نوع سوم بود. منحنی بقای زنبور *H. hebetor* پرورش یافته روی *H. armigera* در هر دو گروه در شکل 2 نشان داده شده است. مقدار انتروپی منحنی بقای *H. hebetor* روی کرم غوزه پنبه در شاهد 0/48 به‌دست آمد که نزدیک به نوع دوم است. در منحنی بقای نوع دوم یک کاهش یکنواخت خطی در تعداد افراد رخ می‌دهد ولی در منحنی بقای براکون در سنین جوانی تلفات قدری بیشتر بوده که با تلفات کمتر سنین میانی خنثی شده و در نتیجه مقدار انتروپی به 0/5 نزدیک شده که مشخصه منحنی بقای نوع دوم است. مقدار آنتروپی منحنی بقای زنبور در تیمار باکتری 0/69 به‌دست آمد که نشان دهنده تقعر منحنی می‌باشد. در این نوع منحنی، کاهش بقا نمایی بوده و سرعت تلفات در طول زمان ثابت است. نتایج حاکی از آن است که باکتری توانسته میزان بقای زنبورها را تحت تأثیر قرار دهد و باعث تغییر نوع منحنی شود. زیراکه در طول آزمایش اکثر لاروهای سن سوم انگلی شده کرم غوزه پنبه که قبلاً با غذای حاوی غلظت LC_{20} باکتری تغذیه شده بودند قبل از اتمام مراحل لاروی زنبور از بین می‌رفتند. این خود موجب مرگ و از بین رفتن لاروهای موجود روی لاشه می‌شد که در نتیجه میزان مرگ‌ومیر دوران نابالغی زنبورها افزایش یافت و در نهایت موجب تغییر نوع منحنی بقا شد. سطح زیر منحنی بقا در شاهد 754 و در تیمار باکتری 467 حشره-روز بود که نشان می‌دهد تقریباً 60 درصد حشرات شاهد، بیشتر زندگی کرده‌اند.



شکل 2- منحنی بقای ***H. hebetor*** پرورش‌یافته روی لاروهای سن سوم ***H. armigera*** در شاهد و تیمار آغشته به غلظت LC_{20} باکتری ***B. thuringiensis***

امید زندگی زنبور *H. hebetor* در آغاز آزمایش در شاهد، 25/5 و در تیمار باکتری 16/83 روز تعیین شد که عبارت است از متوسط روزهای باقیمانده زندگی یک فرد در یک سن مشخص. سطح زیر منحنی امید زندگی در شاهد، 704/42 و در تیمار باکتری، 508/42 روز تعیین شد. منحنی روند امید زندگی زنبور در آزمایش‌های انجام یافته در شاهد و تیمار باکتری در شکل 3 نشان داده شده است. در هر دو تیمار یک افزایش بعد از روزهای اول زندگی اتفاق افتاد که موجب یک نقطه اوج به‌ترتیب در روزهای دوازدهم و پنجم زندگی شده که امید زندگی در این روزها به‌ترتیب 26/09 و 24/5 روز است.



شکل 3- تغییرات سنی امید زندگی زنبور ***H. hebetor*** روی لاروهای سن سوم ***H. armigera*** در شاهد و تیمار آغشته به غلظت LC_{20}باکتری ***B. thuringiensis***

مقادیر مربوط به هشت فراسنجه رشدی جمعیت پایدار زنبور انگل‌واره *H. hebetor* روی لاروهای سن سوم *H. armigera* در شاهد و تیمار باکتری در جدول 1 ارایه شده است. آزمون t بین دو گروه شاهد و تیمار باکتری نشان داد که فراسنجه‌های نرخ تولیدمثل خالص (R_0)، نرخ تولیدمثل ناخالص (GRR)، نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m)، نرخ متناهی رشد (λ)، زمان دوبرابر شدن جمعیت (DT) و نرخ ذاتی مرگ (d) در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار دارند. فراسنجه‌های میانگین طول مدت یک نسل (T) و نرخ ذاتی تولد (b) تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار نشان ندادند. جدول 1 نتایج به‌دست‌آمده از آزمون t را نشان می‌دهد.

بحث

عطاران (1374) گزارش کرد که در دمای 30 درجه سانتی‌گراد میانگین طول عمر زنبورهای *H. hebetor* پرورش‌یافته روی لاروهای *A. kuehniella* و *Galleria mellonella* L. به‌ترتیب 23/5 و 27/33 روز بود که نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش حاضر هم برای هر دو تیمار با نتایج محققین مذکور هم‌خوانی دارد.

یوم و گیلزترپ (1993) طول عمر ماده‌های *H. hebetor* را که روی *Heliocheilus albipunctella* (de Joann's) پرورش یافته بودند، 24/7 روز ذکر کردند. این ماده‌ها به‌طور متوسط 22 روز تخم‌ریزی کردند، نتاج تولیدشده به تعداد 137/7 بود. در بررسی حاضر هم از میزبان اصلی به‌عنوان موجود زنده مورد آزمایش استفاده شد. داده‌های به‌دست‌آمده تقریباً با نتایج محققین مزبور مشابه است.

در مطالعه انجام شده توسط میسون (2003) میانگین تعداد تخم‌های افراد ماده *H. hebetor* روی لارو شب‌پره هندی 100 و طول عمر ماده‌های بالغ درحدود 22 روز بود. گوندوز وگولل (2004) در شرایط دمایی 2 ± 26 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 5 ±60 درصد،

طول عمر افراد ماده *H. hebetor* را روی بید آرد، 27/44 و روی پروانه‌ی موم خوار، 29/39 روز به‌دست آوردند. با این‌که در اکثر تحقیقات، از میزبان‌های آزمایشگاهی این زنبور برای بررسی فراسنجه‌های زیستی استفاده شده است، اما نتایج تحقیق حاضر که روی میزبان اصلی صورت گرفته با نتایج محققین یاد شده مطابقت دارد.

امیرمعافی و چی (2006) زیست‌شناسی زنبور *H. hebetor* را در شرایط دمایی 28 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 5 ±70 درصد روی لاروهای بید آرد بررسی و گزارش کردند که حشرات کامل زنبورها یک تا دو روز بعد از خروج از پوسته شفیرگی جفت‌گیری کردند. طول عمر زنبورهای ماده جفت‌گیری‌کرده بین20 تا 35 روز بود. زنبورهای ماده اکثر تخم‌های خود را در 10 روز اول از طول عمر خود قرار دادند. تعداد تخم‌های گذاشته‌شده توسط هر زنبور ماده به‌طور متوسط روزانه هشت تا 12 گزارش شد. در آزمایش حاضر هم زنبور بیشترین تخم‌های خود را بعد از روز پنجم تا روز بیست و هشتم در تیمار شاهد و روز ششم تا هجدهم در تیمار باکتری قرار داد.

دابی و همکاران (2011) طول عمر زنبور *H. hebetor* را روی *H. armigera* در دمای 27 درجه سانتی‌گراد، 20/92 روز به‌دست آوردند. در تیمار شاهد مطالعه حاضر میانگین طول عمر زنبور 27/6 روز به‌دست آمد که کمی بیشتر از نتایج محققین مذکور می‌باشد. هم‌چنین در مطالعه انجام‌شده توسط گوندوز و گولل(2004) وقتی افراد ماده بالغ زنبور*H. hebetor* از محلول عسل به‌اضافه لاروهای میزبان تغذیه شدند، طول عمر آن‌ها به‌علت تغذیه از مکمل عسل از 27/44 روز به 32/56 روز افزایش یافت که نتایج تحقیق حاضر از نظر طول عمر زنبورها مشابهت نسبی با یافته‌های آنان دارد.

عبدی بسطامی و همکاران (1389) امید به زندگی زنبور *H. hebetor* را روی بید آرد در اولین روز تولد برای سه جمعیت چگنی، گریت و الشتر به‌ترتیب 24/12، 29/85 و 35/15 روز تعیین نمودند که امید زندگی جمعیت چگنی با تیمار شاهد آزمایش حاضر مشابهت نشان می‌دهد.

در مورد تیمار باکتری چون جمعیت زیادی از لاروهای کرم غوزه پنبه پس از پارازیته‌شدن از بین می‌رفتند، درنتیجه لاروهای زنبور موجود روی آن‌ها هم از بین می‌رفتند. بنابراین امید زندگی در اولین روز کاهش زیادی نسبت به‌تیمار شاهد نشان می‌دهد. عبدی بسطامی و همکاران (1389) در مطالعه نرخ بقای زنبور اعلام کردند که مرگ‌ومیر در هر سه جمعیت مورد مطالعه با نسبتی مساوی در مراحل مختلف سنی رخ داده است که تقریباً با منحنی بقای به‌دست‌آمده برای زنبور در تیمار شاهد مطابقت می‌کند.

یوم و گیلزترپ (1993) نرخ ذاتی رشد جمعیت و نرخ خالص تولیدمثل این گونه را روی *H. albipunctella* به‌ترتیب 0/26 بر روز و 86/50 ماده بر نسل تعیین کردند که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی ندارد و اختلاف‌ها می‌تواند به‌علت متفاوت‌بودن میزبان، شرایط آزمایشگاهی و تفاوت جمعیت زنبور مورد آزمایش باشد.

امیرمعافی و چی (2006) نرخ ذاتی رشد جمعیت زنبور را روی پروانه‌ی موم‌خوار و بید آرد به‌ترتیب 0/152 و 0/137 بر روز تعیین کردند. نرخ متناهی افزایش جمعیت، نرخ خالص تولیدمثل، نرخ ناخالص تولیدمثل و میانگین طول یک نسل روی دو میزبان به‌ترتیب ذکرشده عبارت بودند از 1/15 و 1/16 بر روز، 12/5 و 11/9 ماده بر نسل و 50/1 و 54/9 ماده بر نسل، 16/8 و 18/2 روز. تفاوت‌های موجود به‌علت اختلاف نوع میزبان‌ها، جمعیت زنبورهای مورد استفاده و مهم‌تر از همه نحوه محاسبه فراسنجه‌ها می‌باشد.

جدول 1- میانگین (±SE) فراسنجه‌های رشد جمعیت پایدار زنبور ***H. hebetor*** روی لاروهای سن سوم ***H. armigera*** در شاهد و تیمار آغشته به غلظت LC_{20} باکتری ***B. thuringiensis*** در شرایط دمایی 1± 26 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 65 درصد و شرایط نوری 8 : 16 ساعت (تاریکی : روشنایی)

فراسنجه‌ها	آماره F	F جدول[1]	آماره t	t جدول[2]	df	SE ± میانگین	
						تیمار شاهد	تیمار باکتری
R_0	3/50**	1/91	3/54 **	2/03	36	61/863 ± 17/60	28/32 ± 6/81
GRR	7/15**	1/91	7/81 **	2/02	43	123/84 ± 13/22	76/65 ± 7/32
r_m	1/58ns	1/89	3/ 13 **	2/00	54	0/2051 ± 0/017	0/1644 ± 0/017
λ	1/41ns	1/89	3/16 **	2/00	54	1/227 ± 0/021	1/178 ± 0/021
b	1/57ns	1/89	0/55 ns	2/00	54	0/2355 ± 0/02	0/2390 ± 0/02
d	3/27**	1/89	2/03 **	2/02	40	0/0304 ± 0/01	0/0746 ± 0/02
T	1/55ns	1/89	0/52 ns	2/00	54	20/10 ± 0/70	20/33 ± 0/70
DT	5/23**	1/89	2/64 **	2/03	35	3/37 ± 0/15	4/21 ± 0/36

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و ns، عدم معنی‌داری را نشان می‌دهد.

[1] در دو مورد اول درجه آزادی صورت و مخرج به‌ترتیب 28 و 26 و در بقیه موارد عکس آن می‌باشد.

[2] در مواردی که F معنی‌دار بود از آزمون t با واریانس‌های نامساوی استفاده شده است (مراجعه به‌متن)

این محققین از دو جنس نر و ماده برای محاسبه نرخ بقا استفاده کردند در حالی‌که در تحقیق حاضر فقط از جنس ماده برای تعیین فراسنجه‌ها استفاده گردید. هم‌چنین محققین مذکور روزانه دو لارو در اختیار زنبورها قرار دادند که می‌تواند موجب تفاوت در اعداد به‌دست‌آمده باشد. زیرا در تحقیق حاضر روزانه چهار لارو در اختیار هر زنبور قرار می‌گرفت که موجب افزایش تعداد تخم هر زنبور شده است.

فروزان و همکاران (1387) فراسنجه‌های رشدی جمعیت پایدار *H. hebetor* را روی *G. mellonella* در دمای 25 و 30 درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار دادند. آنان نرخ ذاتی رشد زنبور را به‌ترتیب 0/096 و 0/17 بر روز و نرخ متناهی افزایش جمعیت را 1/101 و 1/186 بر روز به‌دست آوردند. این محققین هم‌چنین نرخ خالص تولیدمثل را در دو دمای ذکرشده به‌ترتیب 9/313 و 17/06 ماده بر نسل و نرخ ناخالص تولیدمثل را 69/18 و 56/99 ماده بر نسل گزارش نمودند. در آزمایش این پژوهش‌گران، میانگین طول یک نسل در دو تیمار فوق به‌ترتیب 23/26 و 16/67 روز، زمان دوبرابر شدن جمعیت، 7/225 و 4/072 روز، نرخ ذاتی تولد، 0/254 و 0/311 بر روز و نرخ ذاتی مرگ، 0/158 و 0/141 بر روز به‌دست آمد. اختلاف‌های موجود بین تحقیق مذکور و بررسی حاضر می‌تواند به‌علت تفاوت میزبان‌ها، شرایط آزمایشگاهی، نحوه محاسبه فراسنجه‌ها، تفاوت در جمعیت زنبورها و تعداد لاروی باشد که در اختیار زنبورها قرار داده شده است.

الیوپولوس و استاتوس (2008) فراسنجه‌های رشدی جمعیت پایدار زنبور *H. hebetor* را روی بید آرد و شب پره هندی به‌ترتیب نرخ ذاتی افزایش جمعیت 0/163 و 0/151 بر روز، نرخ متناهی افزایش جمعیت، 1/18 و 1/16 بر روز، نرخ خالص تولیدمثل، 30/33 و 22/00 ماده بر نسل، نرخ ناخالص تولیدمثل، 113/63 و 97/91 ماده بر نسل، مدت‌زمان یک نسل، 20/92 و 20/51 روز و زمان دوبرابر شدن جمعیت، 4/25 و 4/60 روز به‌دست آوردند. تفاوت‌های موجود در این تحقیق و تیمار شاهد بررسی حاضر می‌تواند ناشی از تفاوت میزبان‌ها و جمعیت زنبور مورد مطالعه باشد.

عوامل زیستی و غیرزیستی متعددی از قبیل دما، رطوبت، سن انگل‌واره‌ها، نوع میزبان، اندازه میزبان و رژیم غذایی آن می‌تواند باروری و نسبت جنسی نتاج

انگل‌واره‌ها را تحت تأثیر قرار دهد (عطاران 1374، فروزان و همکاران 1387، الیوپولوس و استاتوس 2008).

اخیراً به‌واسطه کاربرد انگل‌واره‌ها و عوامل میکروبی برای کنترل آفات در بوم‌سامانه‌های کشاورزی، برهم-کنش‌های بین این دو عامل کنترل، اهمیت بسیار یافته‌اند (گروت و دیک 2002، شارما و همکاران 2004). این برهم‌کنش‌ها از حالت هم‌افزایی (synergistic) تا رقابتی (competitive) بسته به‌شرایط محیطی و زمان برهم-کنش متفاوت می‌باشند (چی‌کات و تاباشنیک 1997الف و 1997ب). به‌طور مثال، آلودگی به Bt می‌تواند روی اندازه بدن و دوره نشوونمای یک حشره تأثیر بگذارد به‌طوری که چنین حشره‌ای آهسته‌تر رشدونمو کرده، کوچک‌تر خواهد بود. بنابراین، نسبت به‌حمله انگل‌واره‌ها حساس‌تر خواهد بود (ماسکارناس و لوترل 1997). از طرف دیگر، این امکان نیز وجود دارد که آلودگی میزبان با Bt، سبب ایجاد تغییراتی در ترکیبات شیمیایی همولنف آن شده و انگل‌واره‌ای که بعداً آن را مورد حمله قرار خواهد داد با خوردن مقداری از محتویات همولنف میزبان، تغییراتی در فیزیولوژی انگل‌واره‌ایجاد گردد که سبب تغییراتی در فراسنجه‌های زیستی انگل‌واره می‌شود (ارب و همکاران 2001، بولت و استاکلین 2005). در این رابطه، پیامدهای بوم‌شناختی تلفیق یک عامل بیماری و یک انگل‌واره جهت مدیریت حشرات آفت باید مورد توجه قرار گیرند. به‌نظر می‌رسد این همان وضعیتی است که در این بررسی مشاهده گردید و تیمار میزبان با Bt سبب تضعیف کارآیی انگل‌واره شد.

برهم‌کنش بین Bt و انگل‌واره‌ها بسته به فنوتیپ میزبان می‌تواند متفاوت باشد، به‌این معنی که مقاومت میزبان به باکتری می‌تواند باعث کاهش موفقیت انگل‌واره گردد(ارب و همکاران 2001، ژو و همکاران 2011). تحقیقات مختلف نشان داده است که در میزبان حساس، انگل‌واره عملکرد بیمارگر را تحت تأثیر قرار نداده است ولی بیمارگر اثر منفی روی انگل‌واره داشته است. در میزبان نیمه‌مقاوم به Bt، برهم‌کنش بین انگل‌واره و بیمارگر حالت رقابتی از خود نشان داده است. به‌طوری که هر دو، اثر منفی روی عملکرد یک‌دیگر داشته‌اند.

میزبان کاملاً مقاوم به Bt به بیمارگر حساسیت نداشته و به‌عنوان پناه‌گاهی برای انگل‌واره در مقابل اثر رقابتی Bt می‌باشد. با افزایش مقاومت میزبان به Bt، اثر بیمارگر کم شده ولی اثر انگل‌واره ثابت باقی می‌ماند. اثر تلفیقی این دو عامل بستگی به حساسیت میزبان به بیمارگر دارد (ماسکارناس و لوترل 1997). بر اساس اطلاعات فوق به‌نظر می‌رسد جهت تلفیق این دو عامل باید مرگ‌ومیر مراحل نابالغ انگل‌واره در میزبان‌های آن مورد توجه قرار گیرد.

در نهایت از نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش حاضر می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که باکتری Bt اثر منفی روی فراسنجه‌های رشدی جمعیت پایدار زنبور *H. hebetor* داشته است، به‌طوری که کاهش زادآوری به نصف و کاهش 25 درصدی نرخ رشد جمعیت زنبور انگل‌واره را سبب شده است.

منابع

بهداد ا، 1381. حشره‌شناسی مقدماتی و آفات مهم گیاهی ایران. انتشارات مرکز نشر یادبود.

رخشانی ا، 1381. اصول سم‌شناسی کشاورزی. انتشارات فرهنگ جامع.

عبدی بسطامی ف، فتحی‌پور ی و طالبی ع‌ا، 1389. مقایسه پارامترهای جدول زیستی سه جمعیت مختلف زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae) روی *Ephestia kuehniella* (Lep.: Pyralidae) در شرایط آزمایشگاه. آفات و بیماری‌های گیاهی، جلد هفتاد و هشتم، شماره 2، صفحه‌های 153 تا 176.

عطاران م، 1374. اثر میزبان‌های آزمایشگاهی بر روی خصوصیات زیستی زنبور پارازیتویید *Habrobracon hebetor* . پایان-نامه‌ی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.

فروزان م، امیرمعافی م و صحراگرد ا، 1387. دموگرافی زنبور پارازیتویید *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae) روی *Galleria mellonella* (Lep.: Pyralidae). در دماهای مختلف. نامه انجمن حشره‌شناسی ایران، جلد بیست‌وهشتم، شماره 2، صفحه‌های 27 تا 44.

کنعانی ز و فقیهی ع، 1387. آشنایی با مهم‌ترین آفات پنبه و راه‌های مبارزه با آن‌ها. تاریخ دسترسی: 1389/3/15، http://tarvij.jkm.ir/index.php?option=com content&task=view&id=330&Itemid=11

محمدی د، 1384. بررسی اثر برخی سموم بر روی *Helicoverpa armigera* Hub.، پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.

Amir-Maafi M and Chi H, 2006. Demography of *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae) on two pyralid hosts (Lep.: Pyralidae). Annals of the Entomological Society of America 99: 84-90.

Bailey A, Chandler D, Grant WP, Greaves J, Gillian P and Tatchell M, 2010. Biopesticides, pest management and regulation. CAB International Publishing.

Baker JE and Fabrick JA, 2000. Host hemolymph proteins and protein digestion in larval *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae). Insect Biochemistry and Molecular Biology 30: 937 – 946.

Bulet PH and Stöcklin R, 2005. Insect antimicrobial peptides: Structures, properties and gene regulation. Protein and Peptide Letters 12: 3-11.

Carey JR, 1993. Applied demography for biologists with special emphasis on insects. Oxford University Press, UK.

Chilcutt CF and Tabashnik BE, 1997a. Host-mediated competition between the pathogen *Bacillus thuringiensis* and the parasitoid *Cotesia plutellae* of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). Environmental Entomology 26: 38-45.

Chilcutt CF and Tabashnik BE, 1997b. Independent and combined effects of *Bacillus thuringiensis* and the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) on susceptible and resistant diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Economic Entomology 90: 397-403.

Dabhi MR, Korat DM and Vaishnav PR, 2011. Comparative biology of *Bracon hebetor* Say on seven lepidopteran hosts. Karnataka Journal of Agricultural Science 24 (4): 549-550.

Eliopoulos PA and Stathas GJ, 2008. Life tables of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) parasitizing *Anagasta kuehniella* and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): effect of host density. Journal of Economic Entomology 101(3): 982- 988.

Erb SL, Bourchier RS, van Frankenhuyzen K and Smith SM, 2001. Sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp. *kurstaki* on *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) and the tachinid parasitoid *Compsilura concinnata* (Diptera: Tachinidae). Environmental Entomology 30: 1174-1181.

Groot AT and Dicke M, 2002. Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. Plant Journal 31: 387-406.

Gunduz EA and Gulel A, 2004. The effect of host species and food types on longevity of *Bracon hebetor* (Say) (Hym.: Braconidae). Turk Entomology Dergisi 28: 275-282.

Hajek AE, Glare T and O'Callaghan M, 2009. Use of microbes for control and eradication of invasive arthropods, Springer Science & Business.

Hopper KR, 2003. United States Department of Agriculture-Agricultural research service research on biological control of arthropods. Pest Management Science 59 (6): 643-653.

Jijkli MH, 2010. European market of biological control agents: actual situation and perspectives. Final Report of an EU Project. No. 416. p 6.

Lammers JW and Macleod A, 2007. Report of a pest risk analysis, *Helicoverpa armigera* (Hubner). Plant Protection Service (NL) and Central Science Laboratory (UK) Joint Pest Risk Analysis for *Helicoverpa armigera*. http://www.fera.defra.gov.uk/plants/plantHealth/pestsDiseases/documents/helicoverpa.pd. 2010.5.17.

Magro SR and Parra JRP, 2001. Biology of ectoparasitoid *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) on seven lepidopteran species. Science Agriculture 58 (4): 693–698.

Mascarenhas VJ and Luttrell RG, 1997. Combined effect of sublethal exposure to cotton expressing the endotoxin protein of *Bacillus thuringiensis* and natural enemies on survival of bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Environmental Entomology 26: 939-945.

Mayson LJ, 2003. Parasitic wasps: *Habrobracon hebetor* and *Anisoptermalus calandrae*. http://www.Ces.purdue.edu/extmedia (23 March 2010).

Milonas GP, 2005. Influence of initial egg density and host size on the development of the gregarious parasitoid *Bracon hebetor* on three different host species. BioControl 50: 415-428.

Pedigo LP, 1999. Entomology and pest management. 3rd ed. Prentice Hall.

Rasool Khan R, Ashfaq M Ahmed and Talib Sahi SH, 2009. Mortality responses in *Bracon hebetor* (Say) (Braconidae, Hymenoptera) against some new chemistry and conventional insecticides under laboratory conditions. Pakistan Journal of Agriculture Science 46(1): 111-119.

Sansinenea E, 2012. *Bacillus thuringiensis* Biotechnology. Springer. 392 p.

Sharma H, Sharma K and Crouch J, 2004. Genetic transformation of crops for insect resistance: potential and limitations. Critical Reviews in Plant Sciences 23: 47-72.

Singh P, 1982. Artificial diets for insects, mites and spiders. IFI/ Plenum Data Company.

Soundararajan RP, 2012. Pesticides- advances in chemical and botanical pesticides. InTech Janeza Trdine, Rijeka, Croatia. 392 p.

Tanada Y and Kaya HK, 1993. Insect pathology. Academic Press.

Vaez N, Iranipour S and Hejazi MJ, 2013. Effect of treating eggs of cotton bollworm with *Bacillus thuringiensis* Berliner on functional response of *Trichogramma brassicae* Bezdenko. Archives of Phytopathology and Plant Protection, http://www.tandfonline.com /doi/abs/10.1080/03235408.2013.799820

Vega FE and Kaya HK, 2012. Insect pathology. Academic Press.

Youm O and Gilstrap FE, 1993. Life-fertility of *Bracon hebetor* (Say) (Hym.: Braconidae) reared on *Heliothis albipunctella* de Joann's (Lep.: Noctuidae). Insect Science and Its Application, 14: 455-459.

Zhu JY, Ye GY and Cui Hu C, 2011. Venom of the endoparasitoid wasp *Pteromalus puparum*: An overview. Psyche, Hindawi Publishing Corporation. http://www.hindawi.com /journals/psyche/2011/520926/

Life Table Parameters of *Habrobracon hebetor* (Say) on *Helicoverpa armigera* (Hübner), Infected with *Bacillus thuringiensis* Berliner

N Vaez[1*], S Iranipour[2] and M J Hejazi[3]

[1]Asistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University.
[2]Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz.
[3]Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz.
[*]Corresponding author: naheedvaez@gmail.com

Received: 17 Mar 2013 Accepted: 14 Dec 2013

Abstract

The cotton bollworm (CBW), *Helicoverpa armigera* (Hübner) is a major pest of cotton in Iran. Nowadays, integrated control of CBW is done using *Bacillus thuringiensis* Berliner and *Trichogramma* or *Habrobracon*. To determine indirect effects of the bacteria on *Habrobracon hebetor* (Say), its life table in two treatments of cotton bollworm, one a control (larvae fed by normal artificial diet without Bt) and the other Bt treated (the 3rd instar larvae of CBW that fed by artificial diet involving LC_{20} concentration of *B. thuringiensis*) at 26±1 ˚C, 65±5% RH and 16: 8 (light: darkness) was studied. Intrinsic rate of increase (r_m), finite rate of increase (λ), net reproductive rate (R_0), mean generation time (T), doubling time (DT) for control and Bt treatment were evaluated as 0.2051±0.017, 0.1644±0.017 d^{-1}, 1.227±0.021,1.178±0.021 d^{-1}, 61.863±17.60, 28.32±6.81 per generation, 20.10±0.70, 20.33±0.70 d, 3.37±0.15, 4.21±0.36 d, respectively. The life expectancy of *H. hebetor* at the beginning of the cohort life was 25.5 and 16.83 d in control and *Bt* treatment, respectively. The results suggested that *B. thuringiensis* has an inverse effect on biological parameters of *H. hebetor* and caused a decrease in parasitism as well as intrinsic rate of increase.

Key words: *Bt* insecticide, Intrinsic rate of increase, Net reproductive rate, Parasitoid, Sublethal dose