

## زیست‌شناسی شته مومی کلم، *Brevicoryne brassicae* و زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae* روی کلزای تلقیح شده با باکتری *Bacillus subtilis*، در شرایط آزمایشگاهی

سمیه کرمان<sup>۱</sup>، عباسعلی زمانی<sup>۱</sup>✉، روح‌الله شریفی<sup>۱</sup>، محسن سعیدی<sup>۲</sup>

گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. ✉azamani@razi.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۱۹ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۱/۲۷ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۹

### چکیده

باکتری‌های پروبیوتیک گیاهی می‌توانند با القای دفاع سیستمیک در گیاهان، روی برهمکنش‌های میان گیاه و حشرات، در سطوح مختلف تغذیه‌ای تاثیر بگذارند. در این تحقیق، تاثیر جدایه S باکتری پروبیوتیک *Bacillus subtilis* روی آماره‌های جدول زندگی شته مومی کلم، *Brevicoryne brassicae*، و زنبور پارازیتوئید آن، *Diaeretiella rapae*، در گیاه کلزا مورد مطالعه قرار گرفت. براساس نتایج به دست آمده، کاربرد باکتری پروبیوتیک، نرخ ذاتی افزایش جمعیت ( $r$ ) شته را به طور معنی‌داری کاهش داد. مقادیر نرخ ذاتی افزایش جمعیت شته در تیمارهای شاهد و باکتری به ترتیب  $0.302 \pm 0.012$  و  $0.237 \pm 0.007$  (بر روز) و نرخ خالص تولیدمثل به ترتیب  $16.60 \pm 1.90$  و  $33.71 \pm 2.60$  (نتاج/فرد) به دست آمد. در مورد زنبور پارازیتوئید، به استثنای میانگین طول دوره یک نسل ( $T$ )، سایر آماره‌های جدول زندگی در حضور و یا عدم حضور جدایه S باکتری تفاوت معنی‌داری نداشتند. هم‌چنین تبدلات گازی کلزای شاهد و تلقیح شده با جدایه‌های S، GBO3، INR7، AS و BS باکتری *B. subtilis* اندازه‌گیری شد که بر این اساس بیش‌ترین و کمترین نرخ فتوسنتز در تیمارهای S و AS، به ترتیب برابر با  $21.66$  و  $5.91 \mu\text{mol} (\text{CO}_2)/\text{m}^2/\text{S}$ ، به ترتیب محاسبه گردید. بر اساس نتایج حاصل، جدایه S باکتری *B. subtilis*، از طریق کاهش ظرفیت شته مومی کلم برای افزایش جمعیت، می‌تواند در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آن موثر واقع شود.

کلمات کلیدی: باکتری‌های پروبیوتیک گیاهی، جدول زندگی، دانه‌های روغنی، مقاومت القایی

### Biology of *Brevicoryne brassicae* and its parasitoid wasp *Diaeretiella rapae* on canola inoculated with *Bacillus subtilis*, in the laboratory conditions

Somayeh Karamian<sup>1</sup>, Abbas Ali Zamani<sup>1</sup>✉, Rouhollah Sharifi<sup>1</sup>, Mohsen Saeidi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Protection, College of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran. <sup>2</sup>Department of Production Engineering and Plant Genetics, College of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran. ✉azamani@razi.ac.ir

Received: 10 November 2023 Revised: 15 April 2024 Accepted: 28 April 2024

### Abstract

Plant probiotic bacteria have been found to induce systemic plant defense and affect the interactions between plants and insects across different trophic levels. In this research, the effect of a probiotic bacterium, *Bacillus subtilis* (strain S) on life table parameters of *Brevicoryne brassicae*, and its parasitoid wasp, *Diaeretiella rapae*, on canola was investigated. The results showed that the S strain significantly reduced the intrinsic rate of increase ( $r$ ) of the cabbage aphid. The values of the intrinsic rate of increase ( $r$ ) were  $0.302 \pm 0.012$  and  $0.237 \pm 0.007$  ( $\text{day}^{-1}$ ) for control and plant probiotic bacteria-treatments, respectively, while, net reproductive rates ( $R_0$ ) were  $16.60 \pm 1.90$ , and  $33.71 \pm 2.60$  (offspring/individual), respectively. The study on the biology of parasitoid wasp showed no significant differences in various life table parameters, except for the mean generation time ( $T$ ) between control and bacteria-treatments. Additionally, the gas exchange was measured on the control and canola treated with the various strains of *B. subtilis* including S, GBO3, INR7, AS, and BS. The results indicated that the highest and lowest photosynthetic rates were calculated in S and AS, with rates of  $21.66$  and  $5.91 \mu\text{mol} (\text{CO}_2)/\text{m}^2/\text{S}$ , respectively. Based on our findings, the S strain of *B. subtilis*, by reducing the aphid's capacity to increase its population, can be used as an effective agent in the integrated management of the cabbage aphid.

**Keywords:** Plant probiotic bacteria, Life table, Oilseeds, Induced resistance

### How to cite:

Karamian S, Zamani AA, Sharifi R, Saeidi M, 2024. Biology of *Brevicoryne brassicae* and its parasitoid wasp *Diaeretiella rapae* on canola inoculated with *Bacillus subtilis*, in the laboratory conditions. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 13 (3): 245-256.

## مقدمه

(ISR)، را در گیاه میزبان علیه عوامل بیماری‌زا و حشرات گیاه‌خوار حتی در قسمت‌های هوایی ایجاد کنند که با پیام‌رسانی جاسمونیک اسید روی می‌دهد. هم‌چنین حمله گیاه‌خواران، سبب رهاسازی ترکیبات فرار، توسط گیاه می‌شود، این ترکیبات در دفاع غیر مستقیم نقش دارند و تحت عنوان HIPVs (Herbivore-induced plant volatiles) شناخته می‌شوند و باعث جلب دشمنان طبیعی می‌شود (Dicke & Baldwin 2010). در بین باکتری‌های پروبیوتیک گیاهی، گونه‌های غیربیماری‌زای جنس *Bacillus* اهمیت زیادی در کنترل زیستی آفات و عوامل بیماری‌زای گیاهی دارند (Xun-Chao et al. 2021; Kahia et al. 2013). تعدادی از گونه‌های جنس *Bacillus* که از طریق مقاومت القایی سیستمیک باعث کاهش خسارت آفات و بیماری‌های گیاهی می‌شوند، *B. amyloliquefaciens*، *B. pasteurii* Bergey، *B. subtilis* (Ehrenberg) Priest، *B. pumilus* Meyer and *B. cereus* Frankland & Frankland، *B. sphaericus* (Meyer و *B. mycooides* Flügge، Gottheil and Neide را شامل می‌شوند (Klopper et al. 2004; Choudhary & Johri 2009).

تجزیه و تحلیل جدول زندگی، روشی معتبر برای بررسی روند بقا و باروری جمعیت حشرات است و به عنوان ابزاری مهم، امکان مطالعه و پیش‌بینی تغییرات جمعیت، در طول مراحل مختلف زندگی حشرات را فراهم می‌آورد. نرخ ذاتی افزایش جمعیت، نرخ خالص تولید مثل، نرخ محدود افزایش جمعیت و میانگین زمان یک نسل، از مهمترین پارامترهای جدول زندگی، برای مقایسه ویژگی‌های جمعیت‌های مختلف است (Carey 2001).

مطالعات اندکی در مورد تاثیر باکتری‌های پروبیوتیک بر سطح سوم تغذیه‌ای از جمله پارازیتوئیدها و شکارگرها و کارایی و جلب آنها به سمت گیاهان مورد هجوم آفات انجام شده است (Denoirjean et al. 2022; Montazersaheb et al. 2023). در تحقیقی، اثرات متقابل باکتری *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r (Flügge)، گیاه آرابیدوپسیس و شته سبز هلو، روی زنبور پارازیتوئید *D. rapae*، به عنوان سطح سوم تغذیه‌ای، با روش‌های اکولوژیکی، مولکولی و شیمیایی بررسی شد. آزمایش‌های ترجیح رفتار بویایی و تخم‌گذاری نشان داد، ترکیبات فرار در تیمار تلقیح شده با باکتری، نسبت به تیمار شته به تنهایی، به مقدار کمتری برای زنبور پارازیتوئید، جلب کننده بودند (Pineda et al. 2012). در مقابل، تلقیح گیاه آرابیدوپسیس با همین جدایه از باکتری *P. fluorescens*، موجب افزایش کارایی و پارازیتسیم زنبور (Hym., Braconidae) (Haliday)

کلزا، *Brassica napus* L. یکی از گیاهان زراعی خانواده چلیپاییان (Brassicaceae) است که عموماً در اروپا و کانادا کشت می‌شود. کلزا پس از سویا، به عنوان مهم‌ترین منبع روغن‌های گیاهی در دنیا مطرح است و جایگزین مهمی برای سایر گیاهان روغنی، از جمله آفتابگردان، بادام زمینی و پنبه‌دانه شده است (Raymer 2002; Solhjoui-Fard et al. 2023). میزان تولید کلزا در کشور در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸، بیش از ۲۹۵ هزار تن برآورد شده است و تولید کلزا در ایران ۰/۰۴ درصد از تولید کلزای جهان را به خود اختصاص داده است. عملکرد این محصول در مزارع آبی استان کرمانشاه ۲۱۴۷ کیلوگرم در هکتار است (Ahmadi et al. 2021). شته مومی کلم، (*Brevicoryne brassicae*)، یکی از آفات مهم کلزا است که با حمله به برگ، ساقه، گل و غلاف گیاه میزبان، باعث کاهش محصول و انهدام کامل بوته می‌شود علاوه بر این، شته مومی کلم، ناقل ۲۳ ویروس گیاهی در خانواده چلیپاییان بوده و از این طریق خسارت غیر مستقیم وارد می‌کند (Ellis et al. 1998). از جمله عوامل مهار زیستی شته مومی کلم، زنبور پارازیتوئید (*M'Intosh*) *Diaeretiella rapae* از زیر خانواده Aphidiinae است که به عنوان پارازیتوئید چندخواره شته‌ها شناخته می‌شود. زنبور *D. rapae* تنها گونه از جنس *Diaeretiella* و تنها پارازیتوئید شناخته شده روی شته مومی کلم است و علاوه بر این، پارازیتسیم آن روی ۶۰ گونه شته زیان‌آور گیاهی دیگر نیز گزارش شده است (Bernal et al. 2001). در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، دوره زندگی زنبور *D. rapae* از مرحله تخم تا ظهور حشرات کامل حدود ۱۰ روز به طول می‌انجامد (Kazemi et al. 2020).

باکتری‌های پروبیوتیک گیاهی، گروهی از باکتری‌های مرتبط با ریشه هستند که می‌توانند شدت خسارت آفات و بیماری‌های گیاهی را کاهش دهند و رشد و عملکرد گیاه را در شرایط گلخانه و مزرعه افزایش دهند (Yi et al. 2013). این باکتری‌ها تأثیر خود را بر رشد گیاه از طریق تولید هورمون‌های گیاهی، تثبیت ازت، افزایش حلالیت عناصر غذایی، مهار اثر عوامل بیماری‌زای گیاهی از طریق رقابت بر سر غذا و مکان، افزایش سطح تحمل گیاه نسبت به تنش‌های غیر زیستی و القای مقاومت سیستمیک در گیاه نشان می‌دهند (Xun-Chao et al. 2013; Jayakumar et al. 2019). باکتری‌های پروبیوتیک گیاهی علاوه بر کمک به تحمل تنش خشکی و بهبود شرایط تغذیه‌ای، قادر هستند مقاومت سیستمیک القایی (Induced systemic resistance, ISR)

## تهیه کلنی شته مومی کلم

شته‌های ماده بالغ از مزارع کلزای اطراف شهر کرمانشاه جمع‌آوری و سپس در محیط آزمایشگاه با استفاده از قلم‌موی سه صفر روی برگ‌های کلزا انتقال یافتند. پس از پوره‌زایی، شته‌های بالغ حذف شد. هر ۱۵ روز یک‌بار به منظور حفظ کلنی شته، شته‌های بالغ از نسل آزمایشگاهی روی گلدان‌های جدید رهاسازی می‌شدند.

تهیه کلنی زنبور *Diaeretiella rapae*

برای تشکیل کلنی زنبور *D. rapae*، برگ‌های حاوی مومیایی شته‌ها از مزارع کلزای کرمانشاه جمع‌آوری و با استفاده از ظروف پلاستیکی دارای تهویه، به آزمایشگاه منتقل گردیدند. پس از خروج زنبورهای پارازیتوئید از شته‌های مومیایی جمع‌آوری شده، از آنها جهت ایجاد نسل آزمایشگاهی استفاده شد. ابتدا با استفاده از طلق‌های شفاف استوانه‌ای شکل به قطر ۱۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر، اطراف بوته‌های کلزای حاوی شته محصور و به منظور تهویه، بالای طلق‌ها با استفاده از توری ارگانزا پوشانده شد. سپس حداقل ۱۰ جفت زنبور پارازیتوئید نر و ماده بالغ، با استفاده از آسپیراتور جمع‌آوری و روی گلدان‌های حاوی پوره‌های شته رهاسازی شدند. برای تغذیه زنبورهای رهاسازی شده داخل استوانه‌ها، از نوارهای کاغذی حاوی عسل رقیق ۱۰ درصد استفاده شد. برای حفظ کلنی آزمایشگاهی، هر هفته زنبورهای جدید از نسل آزمایشگاهی، روی گلدان‌های جدیدی منتقل می‌شدند.

## تهیه سوسپانسیون باکتری

جدایه S باکتری *B. subtilis* مورد استفاده در این تحقیق، از کلکسیون باکتری‌های آنتاگونیست گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی تهیه شد. باکتری‌ها در محیط کشت آگار مغذی (Nutrient agar محصول شرکت HiMedia از کشور هند) کشت و نگهداری شد. جدایه باکتری با استفاده از لوپ و در حضور شعله روی محیط آگار مغذی کشت شد و ظروف پتری با پارافیلیم مسدود شدند. تمامی مراحل آماده‌سازی محیط و کشت باکتری زیر هود بیولوژیک سترون شده با نور فرابنفش انجام شد. برای تهیه سوسپانسیون، ابتدا سرم فیزیولوژیک با اضافه کردن هشت گرم نمک کلرید سدیم به یک لیتر آب مقطر استریل تهیه شد. سپس سرم حاصل در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردید و پس از سرد شدن سرم، باکتری‌های کشت داده شده با سرم حاصل شستشو شدند.

*Microplitis mediator* روی لاروهای شب‌پره کلم، (Lep., Pangesti et al. 2015)، گردید (*Mamestra brassicae* L. (Noctuidae) و باکتری‌های *B. subtilis*، *B. amyloliquefaciens* و *B. cereus* باعث افزایش میزان پارازیتیسیم زنبور *D. rapae* روی شته مومی کلم شدند (Gadhav et al. 2016). همین سه گونه باکتری، موجب کاهش جمعیت شته‌های مومی کلم، سبز هلو، *Myzus persicae* (Sulzer) و خردل، *Lipaphis* (Kaltenbach) روی کلم بروکلی و افزایش پارازیتیسیم زنبور *D. rapae* شدند، ولی تاثیری روی حشرات برگ‌خوار شامل کک *Phyllotreta cruciferae* (Goeze) (Chrysomelidae) شب‌پره پشت الماسی، *Plutella xylostella* L. (Lep., Plutellidae) و شکارگرهای شته‌ها نداشتند (Gadhav & Gange, 2022). با توجه به اینکه باکتری‌های پروبیوتیک اثرات متفاوتی روی حشرات گیاه‌خوار و دشمنان طبیعی آنها دارند، ضروری است مطالعات بیشتری در این زمینه انجام شود و بر همین اساس، طی این تحقیق، اثر باکتری پروبیوتیک *B. subtilis* بر آماره‌های زیستی شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید *D. rapae* مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

## پرورش کلزا

در این تحقیق از گیاه کلزا رقم ساریگل که از ارقام بهاره رایج است، استفاده شد. به‌منظور از بین بردن آلودگی‌های سطحی، در ابتدا بذور با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد، به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی سطحی و سپس با آب مقطر شسته شدند. به منظور تسریع در جوانه زنی، بذور در تشتک‌های پتری شیشه‌ای حاوی کاغذ صافی و آب مقطر خیس‌انده شده و به مدت ۲۴ ساعت درون ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. بذرها سپس در داخل گلدان‌های پلاستیکی و در بستری حاوی خاک مزرعه، ماسه و کود برگ به نسبت ۲: ۱: ۱ در عمق یک سانتی‌متری کشت شدند. بستر کشت قبل از استفاده به مدت ۲۰ دقیقه، در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس در داخل اتوکلاو استریل گردید. گلدان‌ها در اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی نگهداری شدند. برای بررسی زیست‌شناسی شته، از گلدان‌هایی به قطر ۱۷ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و برای آزمایش‌های مربوط به زنبور پارازیتوئید از گلدان‌هایی به قطر ۷ و ارتفاع ۸/۵ سانتی‌متر استفاده گردید.

تعداد پنج عدد شته بالغ رهاسازی و هر یک از گلدان‌ها با طلق استوانه‌ای شکل محصور گردید. بعد از گذشت ده روز، تعداد شته‌های سنین مختلف روی هر گلدان شمارش شد و بر اساس آن موثرترین جدایه باکتری که جدایه S بود، انتخاب شد. در آزمایش اصلی، زیست‌شناسی شته، تنها روی کلزای تلقیح شده با جدایه S باکتری و شاهد بررسی گردید. بدین منظور برای تشکیل کوهورت، تعدادی شته ماده بالغ از نسل آزمایشگاهی انتخاب و جهت پوره‌زایی روی گلدان‌های کلزا رهاسازی شدند. پس از ۲۴ ساعت، شته‌های بالغ جمع‌آوری شده و هر یک از پوره‌های سن یک به صورت جداگانه به داخل قفس‌های برگی منتقل شدند. برای تهیه قفس‌های برگی، از ظروف پتری پلاستیکی به قطر پنج سانتی‌متر استفاده شد. برای تهویه، روی ظرف بالایی، سوراخی به قطر یک سانتی‌متر ایجاد و با استفاده از توری ارگانزا پوشانده شد و برای نگهداری قفس‌های برگی، از گیره‌های مناسب استفاده شد. تغییرات سنین مختلف پورگی با استفاده از تغییر اندازه پوره‌ها و پوسته‌های مربوط به هر سن مطالعه و روند نشو و نمای هر یک از آنها تا زمان ظهور شته‌های بالغ بررسی شد. پس از ظهور شته‌های بالغ، تعداد پوره‌های تولید شده توسط هر شته بالغ در هر روز، تا انتهای عمر آنها شمارش و ثبت گردید. این رویه تا زمان مرگ آخرین شته بالغ مورد مطالعه ادامه داشت. تمام آزمایش‌ها در ژرمیناتور با دمای  $1 \pm$  ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $5 \pm 60$  درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شدند.

جهت اندازه‌گیری آماره‌های جدول زندگی زنبور *D. rapae*، نیاز به کوهورت بود که برای این منظور، تعدادی زنبور نر و ماده به طور تصادفی از گلدان‌های مخزن برداشته و جهت جفت‌گیری به مدت ۲۴ ساعت در لوله‌های آزمایش به قطر یک و طول ده سانتی‌متر نگهداری شدند. برای تغذیه زنبورها از نوارهای کاغذی آغشته به عسل رقیق ۱۰ درصد استفاده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، زنبورهای بالغ جهت تخم‌گذاری روی گلدان‌های کلزای حاوی پوره‌های سن سه شته رهاسازی شدند. پس از ۲۴ ساعت، زنبورهای بالغ جمع‌آوری و از محیط آزمایش خارج شدند و شته‌های در معرض پارازیتیسیم، به صورت جداگانه نگهداری شدند. تغییرات هر یک از شته‌ها به صورت روزانه بررسی شده و زمان تشکیل مومیایی‌ها و خروج زنبورهای پارازیتوئید از مومیایی‌ها یادداشت گردید. پس از خروج زنبورهای بالغ، یک گلدان حاوی ۲۰ پوره سن سه شته جهت پارازیتیسیم در اختیار هر زنبور ماده قرار گرفت. در هر روز گلدان‌های جدید آلوده به پوره سن سه شته جایگزین گلدان‌های قبلی می‌شدند. گلدان‌های

در مرحله بعد، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، غلظت باکتری در مقدار  $1 \times 10^9$  CFU/ml تنظیم و در بطری‌های سترون ریخته شد و به این ترتیب سوسپانسیون باکتری به دست آمد. بذور کلزا به مدت ۴۸ ساعت در آب خیسانده شد. سپس بذور سترون شده در سوسپانسیون باکتری آنتاگونیست شناور شده و به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر با ۷۰ دور در دقیقه قرار گرفت. در نهایت، بذره‌های تلقیح شده در گلدان‌ها کشت شدند و اولین آبیاری نیز با سوسپانسیون باکتری انجام گرفت.

#### اندازه‌گیری تبادلات گازی کلزا

به منظور مقایسه تبادلات گازی، گیاه کلزا با تیمارهای مختلف باکتری *B. subtilis*، شامل جدایه‌های S، AS، BS، GBO3، INR7 و تیمار شاهد، در گلدان‌هایی به قطر هفت و ارتفاع هشت و نیم سانتی‌متر در گلخانه کشت شد. تمام جدایه‌ها از کلکسیون باکتری‌های آنتاگونیست گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی تهیه شدند. پس از گذشت چهار هفته و رسیدن بوته‌ها به مرحله چهار تا پنج برگی، نیمی از گلدان‌های هر تیمار، به شته آلوده شدند. به این صورت که روی هر گلدان تعداد ۱۰ عدد شته بالغ قرار داده شد و اطراف آنها با طلق‌های شیشه‌ای پوشانده شد. پس از گذشت هفت روز از آلودگی، دمای برگ ( $^{\circ}\text{C}$ )، غلظت دی‌اکسید کربن اتافک روزانه (mmol)، سرعت تعرق ( $\text{mmolH}_2\text{O/m}^2\cdot\text{s}$ )، نرخ فتوسنتز ( $\mu\text{molCO}_2/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ) و هدایت روزنه‌ای ( $\text{Mol/m}^2\cdot\text{s}$ ) در شرایط گلخانه اندازه‌گیری شد. تمام اندازه‌گیری‌ها ساعت ۱۲-۱۰ صبح و در شدت نور معادل ۱۲۰۰-۱۴۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه و با استفاده از دستگاه فتوسنتز متر (LCi, ADC Bio Scientific Ltd. Hoddesdon, UK) انجام گردید. در هر تیمار، قسمت میانی برگ داخل محفظه شیشه‌ای دستگاه قرار داده شد و پس از ۴۵ ثانیه داده‌های دستگاه ثبت شدند. داده‌های حاصل از این آزمایش، با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) بین تیمارهای مختلف مقایسه آماری شدند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSD انجام شد. برای مقایسه هر یک از صفات اندازه‌گیری شده روی گیاهان سالم و گیاهان آلوده به شته از آزمون t استفاده شد.

#### مطالعه زیست‌شناسی شته مومی کلم

برای انتخاب جدایه موثر از بین جدایه‌های در دسترس، در ابتدا و قبل از انجام آزمایش اصلی، برای هر یک از جدایه‌های GBO3، INR7، AS، BS و S و تیمار شاهد (بدون باکتری)، ده گلدان کلزا کشت داده شد. پس از چهار هفته روی هر گلدان،

بر اساس نتایج حاصل (جدول ۱)، طول دوره‌های پوره سن اول، سن دوم، سن سوم، سن چهارم و کل دوره پیش از بلوغ شته، بین تیمار شاهد و تیمار تلقیح شده با باکتری از نظر آماری متفاوت نبود، اما بین طول دوره‌های پیش از تولید مثل، تولید مثل و پس از تولید مثل روی تیمارهای شاهد و تلقیح شده با باکتری تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (Paired bootstrap test). طول دوره زندگی شته‌های بالغ و کل دوره زندگی نیز به طرز معنی‌داری روی تیمار شاهد بیش از تیمار تلقیح شده با باکتری بود. بنابراین، تلقیح کلزا با باکتری پروبیوتیک، روی هیچ یک از مراحل نشو و نمایی پیش از بلوغ شته تاثیر معنی‌داری نداشت، ولی باعث کاهش حدود ۳۰ درصدی دوره پس از بلوغ شته در مقایسه با تیمار شاهد شده است.

مطالعات نشان داد که کاربرد باکتری پروبیوتیک (*P. (PA23)*، *B. amyloliquefaciens* (BS6) و *chlororaphis* Bergey *Priest*، روی طول تمامی مراحل نشو و نمایی شته خردل، *L. erysimi*، تاثیر معنی‌داری نداشته است (Bergen 2008). همچنین بر اساس مطالعات *Pineda et al.* (2012a)، طول دوره‌های رشدی شته مومی کلم، روی گیاه آرابیدوپسیس تلقیح شده با باکتری افزایش دهنده رشد (*P. (WCS417r)*)، *fluorescens*، با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت که با نتایج این تحقیق مشابه است.

**جدول ۱.** میانگین ( $\pm$ SE) طول دوره مراحل مختلف زیستی شته مومی کلم (روز) روی کلزای تلقیح شده با جدایه S باکتری *Bacillus subtilis* و تیمار بدون باکتری (شاهد).

**Table 1.** Mean ( $\pm$ SE) duration of different life stages of cabbage wax aphid (days) on the canola inoculated with S strain of *Bacillus subtilis* and no-bacteria treatment (control).

Life stages	Control	S strain
Nymph1	1.22 $\pm$ 0.06 <sup>a*</sup>	1.18 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
Nymph2	1.88 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	2.17 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>
Nymph3	2.30 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	2.07 $\pm$ 0.77 <sup>a</sup>
Nymph4	1.69 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	1.50 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>
Total preimaginal period	7.10 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	6.98 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
Pre-reproduction period	0.21 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	0.77 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>
Reproduction period	12.83 $\pm$ 0.61 <sup>a</sup>	9.17 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>
Post-reproduction period	3.76 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>	2.20 $\pm$ 0.27 <sup>b</sup>
Total adult longevity	16.80 $\pm$ 0.83 <sup>a</sup>	11.89 $\pm$ 0.91 <sup>b</sup>
Total life cycle	23.90 $\pm$ 0.86 <sup>a</sup>	18.66 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>

\*Means with different letters in each row, indicate significant difference between the treatments (Paired bootstrap test;  $\alpha = 0.05$ )

آن است که باکتری موجب افزایش میزان تلفات شته در مقایسه با تیمار شاهد شده است. منحنی بقای ویژه سنی ( $l_x$ ) شته در تیمار شاهد، به منحنی بقای نوع یک شبیه است و درصد بالایی از افراد به سن بلوغ رسیدند و میزان مرگ و میر پیش از بلوغ ناچیز بود. اما منحنی بقا در شته رشد یافته روی کلزای تلقیح

روز قبل تا زمان تشکیل مومیایی، داخل ژرمیناتور نگه‌داری می‌شدند. این کار تا زمان مرگ آخرین زنبور ماده مورد مطالعه ادامه یافت و به این ترتیب تعداد مومیایی مربوط به پارازیتیسیم هر روز به طور جداگانه به دست آمد. در هر روز حداقل یک زنبور نر جهت جفتگیری در اختیار زنبورهای ماده گذاشته شد. این آزمایش‌ها به طور مشابه برای تیمار شاهد و تیمار تلقیح شده با باکتری تحت شرایط دمایی  $1 \pm 25$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $60 \pm 5$  درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. مطالعات مربوط به جدول زندگی شته مومی کلم و زنبور *D. rapae*، با ۷۰ تکرار در هر تیمار انجام شد.

#### آماره‌های جدول زندگی

داده‌های به دست آمده از تیمارهای مطالعه شده، مطابق با روش جدول زندگی سنی-مرحله‌ای دو جنسی و با استفاده از نرم‌افزار TWISEX-MSChart (ver. 2019) تجزیه شد (Chi & Liu 1985; Chi 1988; Chi & Getz 1988; Chi 1990; Chi & Liu 1994; Chi, 2019). مقایسه آماره‌های جدول زندگی بین تیمارها با روش paired bootstrap test (PBT pooled) انجام گرفت.

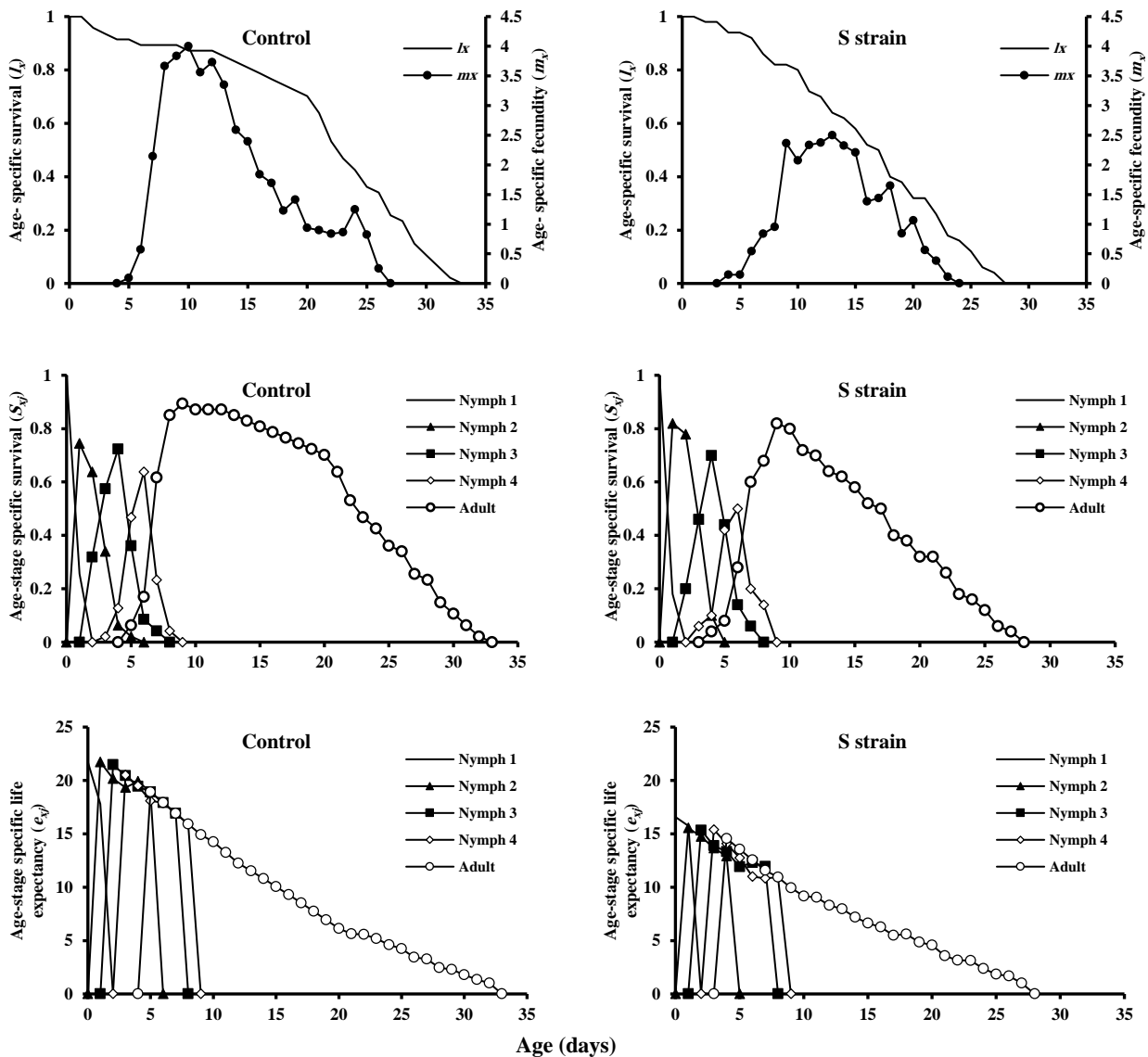
#### نتایج و بحث

زیست‌شناسی شته مومی کلم در تیمار شاهد و گیاه تلقیح شده با جدایه S باکتری

نرخ بقای ویژه سنی-مرحله‌ای ( $S_{xj}$ )، نشان دهنده نسبت بقا به تفکیک سنین و مراحل مختلف زندگی است. با توجه به منحنی بقای سنی-مرحله‌ای، احتمال اینکه پوره‌های سن یک به مرحله بلوغ وارد شوند، روی تیمار شاهد ۸۹ درصد و روی تیمار تلقیح شده با باکتری، معادل ۸۲ درصد بوده است و این حاکی از

شاهد رخ داده است و در مقایسه با تیمار شاهد نسبت کمتری از شته‌ها به سنین بلوغ رسیده‌اند (شکل ۱).

شده با باکتری تا حدودی به منحنی بقای نوع دو نزدیک‌تر است و بیانگر این است که مرگ میر در سنین اولیه بلوغ بیشتر از



شکل ۱. منحنی‌های بقای ویژه‌ی سنی ( $l_x$ )، باروری ویژه‌ی سنی ( $m_x$ )، بقای ویژه‌ی سنی-مرحله‌ای ( $S_{xy}$ ) و امید به زندگی سنی-مرحله‌ای ( $e_{xy}$ ) شته مومی کلم روی کلزای تلقیح شده با سویه S باکتری *Bacillus subtilis* و تیمار بدون باکتری (شاهد).

**Figure 1.** Curves of age-specific survival ( $l_x$ ), age-specific fecundity ( $m_x$ ), age-stage specific survival ( $S_{xy}$ ) and age-stage specific life expectancy ( $e_{xy}$ ) of *Brevicoryne brassicae* on the canola inoculated with S strain of *Bacillus subtilis* and no-bacteria treatment (control).

(شکل ۱).

نتایج مربوط به باروری ویژه سنی ( $m_x$ ) نشان داد که میانگین تعداد روزهای باقی مانده از عمر شته در روز اول، روی میزبان شاهد، ۲۱/۷۲ روز و روی میزبان تلقیح شده با جدایه S، معادل ۱۶/۵۸ روز بوده است. امید به زندگی شته در تمام سنین و مراحل زندگی روی تیمار شاهد بیش‌تر از تیمار تلقیح شده با باکتری بود (شکل ۱).

مقادیر میانگین و خطای استاندارد، مربوط به آماره‌های

نتایج مربوط به باروری ویژه سنی ( $m_x$ ) نشان داد که شروع پوره‌زایی در تیمار شاهد از روز پنجم و در تیمار تلقیح شده با باکتری، از روز چهارم بوده است. نقطه اوج پوره‌زایی در تیمارهای شاهد و باکتری به ترتیب در روزهای ۱۰ و ۱۳ برابر با ۴ و ۲/۵ پوره به ازای هر فرد بود. روند پوره‌زایی در تیمار شاهد در روز ۲۷ و در تیمار تلقیح شده با باکتری، در روز ۲۴ پایان یافته است. بنابراین روند پوره‌زایی و تعداد پوره‌های گذاشته شده در هر روز توسط شته روی کلزای شاهد و تیمار شده با باکتری متفاوت بود

از باکتری *P. fluorescens*، شامل جدایه‌های 68، UTPF1، UTPF6 و PF169، بر رشد و عملکرد خیار و پارامترهای رشدی شته جالیز، *Aphis gossypii* Glover (Hem., Aphididae)، مورد بررسی قرار دادند. بین آنها تنها جدایه PF169، به طور معنی‌داری نرخ ذاتی افزایش جمعیت ( $r$ ) شته را کاهش داد. بین تیمارها هیچ تفاوت معناداری در میانگین طول دوره رشدی پوره دوم و چهارم دیده نشد، اما دوره رشدی پوره اول و سوم باهم تفاوت معنی‌دار داشتند. طی تحقیق دیگری، نقش باکتری *P. fluorescens* WCS417r، در القای مقاومت ISR گیاه آراییدوپسیس، علیه شته‌های سبز هلو و مومی کلم بررسی شد. نتایج نشان داد که این باکتری اثر مثبت در عملکرد شته سبز هلو داشت، ولی هیچ تاثیری بر شته مومی کلم نشان نداد (Pineda et al. 2012).

جدول زندگی شته، روی کلزای شاهد و تلقیح شده با جدایه S باکتری *B. subtilis*، با روش بوت استرپ محاسبه شده و نتایج حاصل در جدول ۲ ارائه شده است. مقادیر نرخ ذاتی افزایش جمعیت ( $r$ ) شته روی تیمارهای شاهد و باکتری به ترتیب،  $0.302 \pm 0.007^a$  و  $0.237 \pm 0.012^b$  (بر روز) محاسبه گردید و بیانگر تأثیر منفی کلزای تیمار شده با باکتری روی مقدار  $r$  است. این کاهش معنی‌دار آماری می‌تواند به دلیل کم شدن نرخ بقا و باروری شته روی میزبان تلقیح شده با باکتری باشد و می‌توان بیان نمود که جدایه S باکتری *B. subtilis* توانسته است پتانسیل افزایش ذاتی جمعیت شته را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش دهد و گیاه کلزا را به میزبان نامناسبی برای شته تبدیل کند. طی تحقیقی، Fahimi et al. (2013)، تاثیر تلقیح بذر خیار با چهار جدایه بومی

جدول ۲. آماره‌های جدول زندگی شته مومی کلم روی کلزای تلقیح شده با جدایه S باکتری *Bacillus subtilis* و تیمار بدون باکتری (شاهد).

**Table 2.** Life table parameters of cabbage wax aphid on the canola inoculated with S strain of *Bacillus subtilis* and no-bacteria treatment (control).

Population parameters	Control	S strain
Intrinsic rate of increase ( $r$ ) ( $\text{day}^{-1}$ )	$0.302 \pm 0.007^a$	$0.237 \pm 0.012^b$
Finite rate of increase ( $\lambda$ ) ( $\text{day}^{-1}$ )	$1.353 \pm 0.010^a$	$1.268 \pm 0.016^b$
Net reproduction rate ( $R_0$ ) (offspring/individual)	$33.71 \pm 2.60^a$	$16.60 \pm 1.90^b$
Gross reproduction rate ( $GRR$ ) (offspring/individual)	$41.99 \pm 2.48^a$	$26.24 \pm 1.92^b$
Mean generation time ( $T$ ) (days)	$11.62 \pm 0.23^a$	$11.79 \pm 0.41^a$

\*The different letters in each row, indicate significant difference between the treatments (Paired bootstrap test)

با باکتری نسبت به روز قبل  $1/268$  برابر شده است. مقایسه نرخ ناخالص تولید مثل (GRR) بین تیمارهای شاهد و باکتری نشان می‌دهد که مقادیر این آماره نیز روی تیمار شاهد به طور معناداری بیش‌تر از تیمار تلقیح شده با باکتری بوده است.

نتایج نشان داد که میانگین طول زمان یک نسل ( $T$ ) شته روی میزبان‌های شاهد و تلقیح شده با باکتری در سطح پنج درصد تفاوت معناداری نداشته است. مقدار نرخ محدود افزایش جمعیت ( $\lambda$ ) نشان می‌دهد جمعیت شته روی میزبان شاهد نسبت به روز قبل  $1/353$  برابر شده است، در حالی که روی میزبان تلقیح شده

جدول ۳. میانگین ( $\pm$ SE) طول دوره مراحل مختلف رشد و نمو (روز) زنبور *Diaeretiella rapae* روی گیاه کلزای تلقیح شده با جدایه S باکتری *Bacillus subtilis* و تیمار بدون باکتری (شاهد).

**Table 3.** Mean ( $\pm$ SE) duration of various developmental stages (days) of *Diaeretiella rapae* on canola inoculated with S strain of *Bacillus subtilis* and no-bacteria treatment (control).

Treatment	Gender	Eggs+larvae	Pupa	Preimaginal period	Adult longevity	Total cycle	life	Oviposition period
Control	Female	$8.77 \pm 0.41^{a*}$	$4.22 \pm 0.13^a$	$13.00 \pm 0.44^a$	$2.50 \pm 0.10^b$	$15.50 \pm 0.44^a$		$2.50 \pm 0.10^b$
	Male	$8.75 \pm 0.39^a$	$3.90 \pm 0.16^a$	$12.81 \pm 0.50^a$	$2.00 \pm 0.19^a$	$14.92 \pm 0.53^a$		-
	Male+female	$8.76 \pm 0.29^a$	$4.12 \pm 0.10^a$	$12.94 \pm 0.33^a$	$2.33 \pm 0.10^b$	$15.17 \pm 0.36^a$		-
S strain	Female	$8.35 \pm 0.27^a$	$3.46 \pm 0.13^b$	$11.82 \pm 0.31^b$	$2.78 \pm 0.15^a$	$14.60 \pm 0.29^a$		$2.78 \pm 0.15^a$
	Male	$8.44 \pm 0.44^a$	$3.44 \pm 0.24^a$	$11.88 \pm 0.51^a$	$2.50 \pm 0.18^a$	$14.56 \pm 0.24^a$		-
	Male+female	$8.34 \pm 0.22^a$	$3.46 \pm 0.11^b$	$11.83 \pm 0.26^b$	$2.72 \pm 0.12^a$	$14.56 \pm 0.24^a$		-

\*The different letters in each column, indicate that there is significant difference in the data of the same sex between two different treatments (Paired bootstrap test)

شاهد بیشتر بود ولی دوره زندگی حشرات بالغ روی جدایه S باکتری طولانی‌تر بود. بین طول دوره زندگی زنبورهای نر و ماده در تیمار تلقیح شده با باکتری، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که در تیمار شاهد، تفاوت معنی‌داری بین طول زندگی زنبورهای نر و ماده وجود داشته است. در مطالعات Pineda et

زیست‌شناسی زنبور *Diaeretiella rapae* در تیمار شاهد و گیاه تلقیح شده با جدایه S باکتری *Bacillus subtilis* نتایج حاصل از رشد و نمو زنبور *D. rapae* روی کلزای شاهد و تلقیح شده با باکتری جدایه S، در جدول ۳ نشان داده شده است. طول دوره شفیرگی و پیش از بلوغ زنبور روی تیمار

افراد در مرحله شفیرگی بودند. منحنی‌های بقای ویژه سنی-مرحله‌ای ( $S_{xj}$ ) نیز در شکل ۲ ارائه شده است. تداخلی که بین مراحل وجود دارد نشان دهنده نرخ رشد متفاوت در میان افراد است. در تیمارهای شاهد و باکتری، مومیایی‌ها در روز هفتم پس از پارازیت‌زدایی کردن شته ظاهر شده و بقای شفیره پس از آن شروع به افزایش می‌کند. اوج ظهور شفیره‌ها در هر دو تیمار روز دهم بوده است. اولین حشرات نر و ماده، در هر دو تیمار به طور همزمان از روز یازدهم، ظاهر شده‌اند و عمر زنبورهای نر کوتاه‌تر از ماده‌ها بوده است. منحنی بقای نرها و ماده‌ها در تیمارهای شاهد و باکتری نوساناتی داشته که به دلیل حساسیت بالا و مرگ و میر در روزهای متوالی می‌باشد. پنج الی شش روز بعد از ظهور حشرات نر و ماده، همچنان تعدادی از افراد در مرحله شفیرگی بوده‌اند. نتایج Pineda et al. (2012 b)، نشان داد بین بقای مرحله تخم+لارو و شفیره در آرابیدوپسیس تلقیح شده با باکتری و شاهد تفاوت معناداری وجود نداشته است ولی بقای شفیره‌ها در تیمار تلقیح شده با باکتری، از شاهد بیش‌تر بوده است که تا حدودی مشابه نتایج تحقیق حاضر است.

al. (2013). دوره جنینی و لاروی زنبور *D. rapae* روی شته سبز هلو در تیمارهای شاهد و باکتری *P. fluorescens* strain WCS417r به ترتیب ۷ و ۷/۲ روز به طول انجامید که کوتاه‌تر از مقادیر به دست آمده در تحقیق حاضر است و نشان می‌دهد که گونه شته میزبان و نوع باکتری پروبیوتیک می‌تواند پارامترهای زیستی زنبور *D. rapae* را تغییر دهد. ضمن اینکه این تفاوت می‌تواند به دلیل تنوع بین جمعیت‌های مختلف زنبور *D. rapae* باشد.

بر اساس منحنی‌های بقای ویژه سنی ( $l_x$ ) اولین حشرات نر و ماده، در هر دو تیمار به طور همزمان از روز یازدهم، ظاهر شدند و عمر زنبورهای نر کوتاه‌تر از ماده‌ها بود. نتایج مربوط به بقای ویژه سنی در تیمار تلقیح شده با باکتری و شاهد تقریباً روند مشابهی داشت و این نوع منحنی بقا از نوع یک تشخیص داده شد. تا روز یازدهم در تیمار شاهد حدوداً ۷۹ و در تیمار تلقیح شده با باکتری، ۸۶ درصد مومیایی‌ها به زنبورهای بالغ تبدیل شدند. بنابراین، میزان مرگ و میر پیش از بلوغ زنبور، روی میزبان شاهد بیش‌تر از میزبان تلقیح شده با باکتری بود (شکل ۲). پنج الی شش روز بعد از ظهور حشرات نر و ماده، همچنان تعدادی از

**جدول ۴.** آماره‌های جدول زندگی زنبور *Diaeretiella rapae* روی کلزای تلقیح شده با جدایه S باکتری *Bacillus subtilis* و تیمار بدون باکتری (شاهد).

**Table 4.** Life table parameters of *Diaeretiella rapae* on the canola inoculated with S strain of *Bacillus subtilis* and no-bacteria treatment (control).

Population parameters	Control	S strain
Intrinsic rate of increase ( $r$ ) ( $\text{day}^{-1}$ )	0.160 ± 0.012 <sup>a</sup>	0.186 ± 0.011 <sup>a</sup>
Finite rate of increase ( $\lambda$ ) ( $\text{day}^{-1}$ )	1.172 ± 0.014 <sup>a</sup>	1.204 ± 0.013 <sup>a</sup>
Net reproduction rate ( $R_0$ ) (offspring/individual)	9.90 ± 1.53 <sup>a</sup>	11.29 ± 1.49 <sup>a</sup>
Gross reproduction rate ( $GRR$ ) (offspring/individual)	34.08 ± 5.71 <sup>a</sup>	25.44 ± 4.32 <sup>a</sup>
Mean generation time ( $T$ ) (days)	14.32 ± 0.41 <sup>a</sup>	12.96 ± 0.16 <sup>b</sup>

\*The different letters in each row, indicate significant difference between the treatments (Paired bootstrap test)

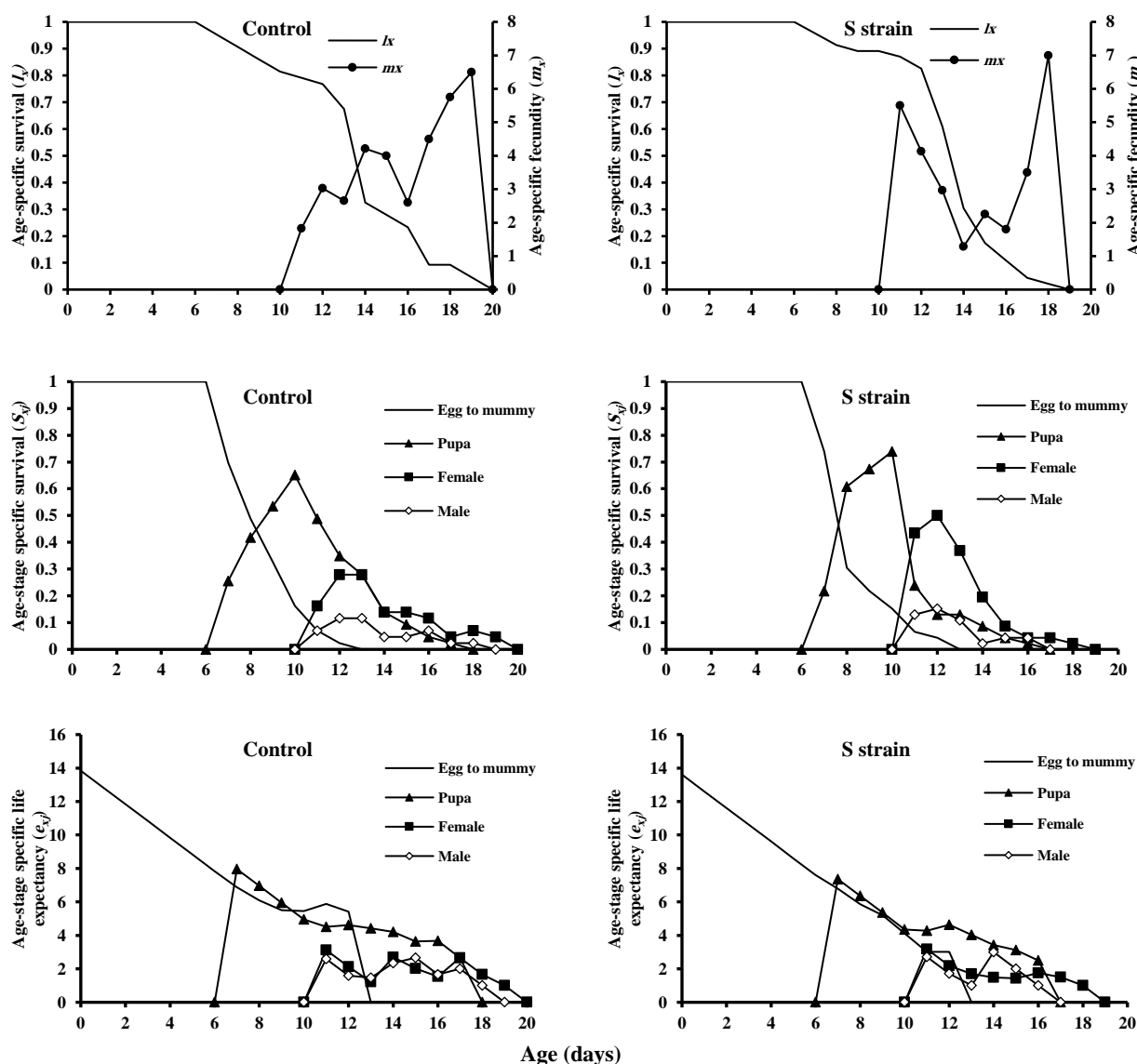
*rapae* داشته است. از طرف دیگر، در پژوهش‌هایی نشان داده شده که باکتری‌های پروبیوتیک، تاثیر مشخصی روی سطح سوم تغذیه‌ای نداشته‌اند. یکی از لیپوپپتیدهای مستخرج از باکتری *B. subtilis*، سورفکتین است که می‌تواند باعث القای مرگ و میر در گروه‌های مختلف حشرات از جمله لارو پروانه‌ها (Abd El-salam et al. 2011)، دوبالان (Geetha, et al. 2012) و شته‌ها (Alekseev et al. 2021) گردد. طی تحقیق (Denoirjean et al. 2022)، اثر سورفکتین به عنوان یکی از لیپوپپتیدهای مستخرج از باکتری *B. subtilis* روی شته سیاه باقلا، *Aphis* (Scopoli) *fabae* و زنبور پارازیتوئید آن، *Aphidius* (Haliday) *matricariae*، بررسی شد. نتایج نشان داد که میزان تلفات شته سیاه باقلا با غلظت‌های سورفکتین رابطه مستقیم و معنی‌دار

نتایج مربوط به باروری ویژه سنی ( $m_x$ ) نشان داد که در هر دو تیمار طول دوره تخم‌ریزی بسیار به هم نزدیک بوده و در شاهد، ۱۰ روز و در تیمار ۹ روز مشاهده گردید. می‌توان گفت که زنبور پارازیتوئید تعداد شته‌های بیش‌تری را روی کلزای تلقیح شده با باکتری نسبت به شاهد پارازیت‌زدایی نموده است (شکل ۲). اما بر اساس نتایج حاصل از تحقیق (Pineda et al. 2013)، زنبور *D. rapae* روی گیاهان تلقیح شده با باکتری *P. fluorescens*، تعداد مومیایی کمتری تولید کرده و کمتر تخم می‌گذارد که با نتایج این تحقیق کاملاً تفاوت دارد. تفاوت مشاهده شده نشان می‌دهد باکتری‌های پروبیوتیک مختلف، تاثیرات متفاوتی روی سطح سوم تغذیه‌ای دارند و جدایه S باکتری *B. subtilis* اثر مثبتی روی نرخ پارازیت‌سیسم زنبور *D.*



اثر متفاوت باکتری‌های پروبیوتیک مختلف، روی حشرات آفت و دشمنان طبیعی آنها است و نمی‌توان اظهار نظر مشخص و قاطعی در مورد گونه‌های مختلف انجام داد، بنابراین بررسی روابط بین گونه‌های مختلف باکتری‌ها، حشرات گیاه‌خوار و دشمنان طبیعی آنها به صورت مجزا، ضروری به نظر می‌رسند.

دارد. ضمن اینکه میزان تحرک شته و شدت تغذیه آن در غلظت‌های زیر کشنده سورفکتین، کاهش معنی‌داری نشان داد. در مقابل رفتار جستجوگری و پذیرش میزبان توسط زنبور *A. matricariae* روی شته‌هایی که در معرض سورفکتین قرار گرفته بودند، تغییری نکرد. این نتایج متنوع، نشان‌دهنده نقش و



شکل ۲. منحنی‌های بقای ویژه سنی ( $l_x$ )، باروری ویژه سنی ( $m_x$ )، بقای ویژه سنی-مرحله‌ای ( $S_{xj}$ ) و امید به زندگی سنی-مرحله‌ای ( $e_{xj}$ ) زنبور *Diaeretiella rapae* روی کلزای تلقیح شده با سویه S باکتری *Bacillus subtilis* و تیمار بدون باکتری (شاهد).

**Figure 2.** Curves of age-specific survival ( $l_x$ ), age-specific fecundity ( $m_x$ ), age-stage specific survival ( $S_{xj}$ ) and age-stage specific life expectancy ( $e_{xj}$ ) of *Diaeretiella rapae* on the canola inoculated with S strain of *Bacillus subtilis* and no-bacteria treatment (control).

ظهور شباهت زیادی داشته است (شکل ۲).

آماره‌های جدول زندگی زنبور پارازیتوئید *D. rapae* روی شته تحت شرایط کلزای تلقیح شده با جدایه S باکتری *B. subtilis* و تیمار شاهد در جدول ۴ آورده شده است. نرخ ناخالص

امید به زندگی زنبور در روز اول در تیمار شاهد ۱۳/۸۳ و در تیمار تلقیح شده با باکتری، ۱۳/۶۰ روز بوده و پس از آن تا روز سیزدهم با روند یکنواختی کاهش یافته است. امید به زندگی زنبورهای نر و ماده روی تیمارهای شاهد و باکتری در اولین روز

همانطور که قبلاً بیان شد مقدار  $r$  شته روی تیمارهای شاهد و باکتری به ترتیب،  $0/302$  و  $0/237$  (به روز) به‌دست آمد که روی هر دو تیمار بیش‌تر از مقادیر  $r$  زنبور *D. rapae* بوده است و بر این اساس می‌توان بیان نمود که زنبور *D. rapae* کارایی چندانی در کنترل این شته ندارد. اما نکته قابل توجه این است که اختلاف مقدار  $r$  شته و زنبور پارازیتوید در تیمار تلقیح شده با باکتری، خیلی کمتر از تیمار شاهد است، بنابراین می‌توان بیان نمود که جدایه S باکتری اثر قابل توجهی در افزایش کارایی زنبور *D. rapae* داشته است، زیرا از یک طرف سبب کاهش مقدار  $r$  شته شده و از طرفی مقدار  $r$  زنبور را افزایش داده است. در بین آماره-های رشد جمعیت زنبور *D. rapae*، تنها مقادیر میانگین زمان یک نسل ( $T$ ) بین دو تیمار به لحاظ آماری متفاوت بود.

تولید مثل ( $GRR$ ) روی تیمارهای شاهد و باکتری به ترتیب  $34/08$  و  $25/44$  تعیین شد که به لحاظ آماری این دو مقدار متفاوت نبودند. نرخ خالص تولید مثل ( $R_0$ ) روی تیمار تلقیح شده با باکتری، بیش از شاهد بود. مقدار نرخ ذاتی افزایش جمعیت ( $r$ ) در تیمار تلقیح شده با باکتری، بیش‌تر از تیمار شاهد به‌دست آمد که به دلیل بالاتر بودن میزان نرخ بقای زنبور در تیمار تلقیح شده با باکتری بوده است. بالاتر بودن مقدار  $r$  نشان دهنده پتانسیل بالاتر زنبور برای افزایش جمعیت در هر روز است. در کنترل زیستی بالاتر بودن مقدار  $r$  نسبت به آفت هدف از ویژگی‌های مطلوب دشمنان طبیعی محسوب شده و به عنوان شاخصی برای ارزیابی کارایی دشمنان طبیعی در نظر گرفته می‌شود.

**جدول ۵.** میانگین مقادیر صفات وابسته به تبادلات گازی گیاه کلزا تحت شرایط آلودگی به شته و یا بدون آلودگی در حضور جدایه‌های مختلف باکتری *Bacillus subtilis* و تیمار شاهد.

**Table 5.** Mean values of traits related to gas exchange in canola with and without aphid infestation under the influence of different strains of *Bacillus subtilis* and control.

Treatment	Stomatal conductance Mol/m <sup>2</sup> .s		Transpiration rate (mmol(H <sub>2</sub> O)/m <sup>2</sup> .s)		Substomatal cavity carbon dioxide concentrations (mmol)		Leaf temperature (°C)		Photosynthetic rate μmol (CO <sub>2</sub> )/m <sup>2</sup> . s	
	Plant + aphid	Plant	Plant + aphid	Plant	Plant + aphid	Plant	Plant + aphid	Plant	Plant + aphid	Plant
Control	0.14 <sup>by*</sup>	0.23 <sup>bx**</sup>	5.03 <sup>ay</sup>	7.54 <sup>bx</sup>	396.40 <sup>ax</sup>	396.83 <sup>bx</sup>	33.28 <sup>ax</sup>	33.36 <sup>abx</sup>	5.90 <sup>by</sup>	12.89 <sup>bx</sup>
INR7	0.18 <sup>bx</sup>	0.17 <sup>bx</sup>	6.24 <sup>abx</sup>	5.37 <sup>cx</sup>	388.50 <sup>ax</sup>	363.60 <sup>bx</sup>	33.32 <sup>ax</sup>	32.32 <sup>bcx</sup>	8.31 <sup>abx</sup>	13.14 <sup>bx</sup>
AS	0.53 <sup>ax</sup>	0.30 <sup>bx</sup>	9.69 <sup>ax</sup>	8.40 <sup>bx</sup>	427.75 <sup>ax</sup>	452.25 <sup>ax</sup>	31.25 <sup>bx</sup>	32.85 <sup>bx</sup>	10.31 <sup>ax</sup>	5.91 <sup>cx</sup>
BS	0.26 <sup>abx</sup>	0.22 <sup>bx</sup>	6.11 <sup>bx</sup>	7.50 <sup>bx</sup>	376.16 <sup>ax</sup>	387.60 <sup>bx</sup>	33.80 <sup>ax</sup>	33.86 <sup>ax</sup>	6.43 <sup>by</sup>	14.22 <sup>bx</sup>
S	0.21 <sup>aby</sup>	0.70 <sup>ax</sup>	6.94 <sup>aby</sup>	12.41 <sup>ax</sup>	401.50 <sup>ay</sup>	446.00 <sup>ax</sup>	33.27 <sup>ax</sup>	31.48 <sup>cy</sup>	10.06 <sup>ay</sup>	21.66 <sup>ax</sup>
GBO3	0.30 <sup>abx</sup>	0.27 <sup>bx</sup>	8.11 <sup>abx</sup>	8.28 <sup>bx</sup>	420.20 <sup>ax</sup>	413.60 <sup>abx</sup>	32.22 <sup>ax</sup>	33.14 <sup>abx</sup>	11.49 <sup>ax</sup>	11.93 <sup>bx</sup>

\*Different letters (a, b & c) in the same column indicate significantly different among various treatments (P<0.05, LSD after one-way ANOVA) and different letters (x and y) in the same row indicate a significant difference between plant and plant + aphid on the same treatment (P < 0.05, t-test).

جدایه AS در شرایط بدون آلودگی موجب کاهش نرخ فتوسنتز گیاه نسبت به تیمار شاهد شده است ولی در حضور شته، نرخ فتوسنتز را به شدت افزایش داده است و به این ترتیب توانایی جبران خسارت شته را برای گیاه فراهم نموده است. در مجموع تمام جدایه‌های مورد مطالعه به استثنای جدایه BS، در شرایط آلودگی به شته، نرخ فتوسنتز را نسبت به تیمار شاهد افزایش داده‌اند. بر اساس نتایج (Neves et al., 2006)، افزایش خسارت به برگ گیاه توسط آفت، سبب کاهش فتوسنتز می‌شود. بنابراین تفاوت در شدت فتوسنتز گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های مختلف باکتری در حضور شته می‌تواند به علت کاهش خسارت شته‌ها و کاهش عملکرد آنها در اثر کاربرد باکتری در مقایسه با شاهد باشد و نرخ‌های مختلف فتوسنتز نشان‌دهنده قابلیت متفاوت جدایه‌های مختلف باکتری‌های پروبیوتیک است. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری‌های

تبادلات گازی در کلزای تلقیح شده با باکتری *Bacillus subtilis* و شاهد

میزان تبادلات گازی کلزای شاهد و یا تیمار شده با جدایه‌های مختلف باکتری *B. subtilis* در جدول ۵ نشان داده شده است. صفات وابسته به تبادلات گازی، شامل هدایت روزنه‌ای، سرعت تعرق، غلظت دی اکسید کربن اتاقت روزنه، دمای برگ و نرخ فتوسنتز اندازه‌گیری شد و مقادیر کلیه صفات، بین تیمارهای مختلف و در هر دو حالت بدون آلودگی و آلودگی به شته تفاوت معنی‌دار داشتند (One way ANOVA;  $\alpha=0.05$ ). بیشترین میزان افزایش در نرخ فتوسنتز در گیاهان بدون آلودگی در حضور جدایه S باکتری مشاهده شد. در شرایط آلودگی گیاه با شته، نرخ فتوسنتز در تیمارهای شاهد، BS و S کاهش معنی‌داری نسبت به شرایط بدون آلودگی نشان داد و بیانگر تاثیر منفی خسارت شته روی فتوسنتز گیاه است. نکته قابل توجه اینکه

پروبیوتیک، روی آفات مکنده و برگ‌خوار کلزا و دشمنان طبیعی آنها در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای بررسی گردد.

### سیاسگزاری

نویسندگان از حمایت مالی و معنوی دانشگاه رازی کرمانشاه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

پروبیوتیک می‌تواند با تقویت مکانیسم‌های دفاعی گیاه، شرایط را برای شته مومی کلم نامساعد سازند و شدت خسارت این آفت را کاهش دهند. به طور مشخص جدایه S باکتری *B. subtilis* موجب کاهش ظرفیت افزایش جمعیت شته شد و می‌تواند در برنامه‌های مدیریت تلفیقی این آفت مدنظر قرار گیرد. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی، تاثیر سایر گونه‌های باکتری‌های

### References

- Abd El-Salam AME, Nemat AM, Magdy A, 2011. Potency of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus subtilis* against the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Bosid.) larvae. *Archives of Phytopathology & Plant Protection* 44(3): 204–215.
- Ahmadi K, Ebadzadeh H, Hatami F, Mohammadnia Afroozi SH, Esfandiari pour E, et al., 2021. Crop Product Statistics for the Crop Year 2019–2020. Ministry of Jihad Agriculture, Deputy of Planning and Economy, Information Technology Center. 97 Pp.
- Alekseev VY, Veselova SV, Rumyantsev SD, Burkhanova GF, Cherepanova EA, et al., 2021. Bacteria of the genus *Bacillus* and their lipopeptides enhance endurance of wheat plants to the greenbug aphid *Schizaphis graminum* rond. *4th International Conference of Modern Synthetic Methodologies for Creating Drugs and Functional Materials*, November 19th, Yekaterinburg, Russia. P. 30001.
- Bernal JS, Gonzalez D, David-DiMarino E, 2001. Overwintering potential in California of two Russian wheat aphid parasitoids (Hymenoptera: Aphelinidae et Aphidiidae) imported from central Asia. *Pan-Pacific Entomologist* 77: 28–36.
- Carey JR, 2001. Insect biogeography. *Annual Review Entomology* 46: 79–110.
- Choudhary DK, Johri BN, 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants—with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research* 164(5): 493–513.
- Chi H, 1988. Life-table analysis incorporating both sexes and variable development rate among individuals. *Environmental Entomology* 17(1): 26–34.
- Chi H, 1990. Timing of control based on the stage structure of pest population: A simulation approach. *Journal of Economic Entomology* 83(4): 1143–1150.
- Chi H, 1994. Periodic mass rearing and harvesting based on the theories of both the age-specific life table and the age-stage, two-sex life table. *Environmental Entomology* 23(3): 535–542.
- Chi H, Liu H, 1985. Two new methods for the study of insect population ecology. *Bulletin of the Institute of Zoology, Academia Sinica* 24(2): 225–240.
- Chi H, Su HY, 2006. Age-stage, two-sex life tables of *Aphidius gifuensis* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) and its host *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) with mathematical proof of the relationship between female fecundity and the net reproductive rate. *Environmental Entomology* 35(1): 10–21.
- Chi H, 2019. TWOSEX-MSChart: A Computer program for the age-stage, two sex life table analysis; National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan.
- Denoirjean T, Ameline A, Couty A, Dubois F, Coutte F, Doury G, 2022. Effects of surfactins, *Bacillus lipopeptides*, on the behavior of an aphid and host selection by its parasitoid. *Pest Management Science* 78(3): 929–937.
- Dicke M, Baldwin LT, 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help'. *Trends in Plant Science* 15: 167–185.
- Ellis PR, Pink DAC, Phelps K, Jukes PL, Breeds SE, Pinnegar AE, 1998. Evaluation of a core collection of brassica accessions for resistance to *Brevicoryne brassicae*. *Euphitica* 103: 149–160.
- Fahimi A, Ashouri A, Ahmadzadeh M, Hoseini Naveh, V, Asgharzade A, et al., 2013. Effect of PGPR on population growth parameters of cotton aphid, *Phytopathology & Plant Protection* 74: 1274–1285.

- Gadhve KR, Finch P, Gibson TM, Gange AC, 2016. Plant growth-promoting *Bacillus* suppress *Brevicoryne brassicae* field infestation and trigger density-dependent and density-independent natural enemy responses. *Journal of Pest Science* 89: 985–992.
- Gadhve KR, Gange AC, 2022. Soil-dwelling *Bacillus* spp. affects aphid infestation of calabrese and natural enemy responses in a context-specific manner. *Agricultural & Forest Entomology*, 24(4): 618–625.
- Geetha I, Paily KP, Manonmani AM, 2012. Mosquito adulticidal activity of a biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis*. *Pest Management Science* 68(11): 1447–1450.
- Hempel S, Stein C, Unsicker SB, Renker C, Auge H, 2009. Specific bottom-up effects of arbuscular mycorrhizal fungi across a plant-herbivore-parasitoid system. *Oecologia* 160: 267–277.
- Jayakumar A, Krishna A, Mohan M, Nair IC, Radhakrishnan EK, 2019. Plant growth enhancement, disease resistance, and elemental modulatory effects of plant probiotic endophytic *Bacillus* sp. Fc11. *Probiotics & Antimicrobial Proteins* 11: 526–534.
- Kahia M, Nguyen TTA, McCune F, Naasz R, Antoun H, Fournier V, 2021. Insecticidal effect of *Bacillus pumilus* PTB180 and *Bacillus subtilis* PTB185 used alone and in combination against the foxglove aphid and the melon aphid (Hemiptera: Aphididae). *The Canadian Entomologist* 153: 726–740.
- Kazemi M, Talebi AA, Tazerouni Z, Fathipour Y, Rezaei M, Mehrabadi M, 2020. Thermal requirements of parasitoid wasp, *Diaretiella rapae* (Hym.: Braconidae) reared on *Schizaphis graminum* (Hem.: Aphididae) under laboratory conditions. *Plant Pest Research* 10(2): 1–13.
- Kloepper JW, Ryu CM, Zhang S, 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94(11): 1259–1266.
- Montazersaheb H, Zamani AA, Sharifi R, Darbemamieh M, 2023. How the plant probiotic bacteria and herbivore-induced plant volatiles (HIPVs) alter functional response of *Phytoseiulus persimilis* (Phytoseiidae) on the two-spotted spider mite. *Acarologia* 63(3): 834–843.
- Neves AD, Oliveria RF, Parra JRP, 2006. A new concept for insect damage evaluation based on plant physiological variables. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 78(4): 821–835.
- Pangesti N, Weldegergis BT, Langendorf B, van Loon JJ, Dicke M, Pineda A, 2015. Rhizobacterial colonization of roots modulates plant volatile emission and enhances the attraction of a parasitoid wasp to host-infested plants. *Oecologia* 178(4): 1169–1180.
- Pineda A, Zheng SJ, van Loon JJA, Dicke M, 2012. Rhizobacteria modify plant-aphid interactions: a case of induced systemic susceptibility. *Plant Biology* 14: 83–90.
- Pineda A, Soler R, Weldegergis BT, Shimwela M, Van loon JAA, et al., 2013. Non-pathogenic rhizobacteria interfere with the attraction of parasitoids to aphid-induced plant volatiles via jasmonic acid signaling. *Plant, Cell & Environment* 36(2): 393–404.
- Raymer PL, 2002. Canola: an emerging oilseed crop. In: Janick J, Whipkey A, (eds). *Trends in New Crops And New Uses*. ASHS Press, Alexandria, VA. Pp. 122–126.
- Solhjoui-Fard S, Talaei-Hassanloui R, Maali-Amiri R, Sword GA, 2023. Effect of endophytic *Beauveria bassiana* on growth traits of five rapeseed varieties (*Brassica napus*). *Journal of Applied Research in Plant Protection* 12 (1): 87–94.
- Xun-Chao C, Hui L, Ya-Rong X, Chang-Hong L, 2013. Study of endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* CC09 and its antifungal cyclic lipopeptides. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 1: 001–005.
- Yi HS, Yang JW, Ryu CM, 2013. ISR meets SAR outside: additive action of the endophyte *Bacillus pumilus* INR7 and the chemical inducer, benzothiadiazole, on induced resistance against bacterial spot in field-grown pepper. *Frontiers in Plant Science* 4: 122.



