

پاسخ بویایی زنبور پارازیتوئید (*Encarsia formosa* (Hym.: Aphelinidae) به رایحه-
 های حاصل از سفیدبالک گلخانه، *Trialeurodes vaporariorum* (Hem.:
Aleyrodidae) تیمار شده با قارچ *Lecanicillium longisporum* روی برگ گیاه
 خیار

محمود فاضلی دینان^{۱*}، رضا طلایی حسنلویی^۲، حسین اللهیاری^۳، عزیز خرازی پاکدل^۴ و هلن محمدی^۵

۱ - مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ۳، ۴ و ۵ - پردیس کشاورزی و منابع طبیعی
 دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۲ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۳)

چکیده

پاسخ بویایی و جهت‌گیری زنبورهای ماده (*Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) به سمت مواد فرار سفیدبالک گلخانه‌ی سالم و تیمار شده با قارچ *Lecanicillium longisporum* (Asc.: Clavicipitaceae) با استفاده از لوله‌ی بویایی سنج (الفکومتر) Y شکل اندازه‌گیری شد. در پاسخ بویایی زنبور پارازیتوئید به رایحه‌های تیمار گیاه خیار آلوده به پوره‌های سفیدبالک در مقایسه با گیاه خیار سالم (بدون سفیدبالک و قارچ) و تیمار گیاه خیار آلوده به سفیدبالک در مقایسه با گیاه خیار آلوده به سفیدبالک تیمار شده با قارچ بیمارگر مشخص شد بین پارازیتوئیدهایی که هر یک از دو بازو را انتخاب می‌کردند، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. پاسخ بویایی زنبور پارازیتوئید به رایحه‌های القایی تیمار گیاه سالم (بدون سفیدبالک و قارچ) در برابر هوای پاک و تیمار گیاه آلوده به سفیدبالک گلخانه در برابر هوای پاک، زنبور پارازیتوئید به صورت معنی‌داری به سمت بازویی جلب شد که به ترتیب حاوی گیاه سالم و آلوده به سفیدبالک بود. با توجه به نتایج آزمایش‌ها در مجموع تیمارها می‌توان اظهار داشت علی‌رغم اینکه پارازیتوئیدها در جلب به برخی از تیمارهای مورد مقایسه گرایش خاصی نشان می‌دهند اما پاسخ مشخصی را به ترکیب گیاه- سفیدبالک در مقایسه با گیاه سالم نداده است. در واقع حضور سفیدبالک دلیلی برای گرایش زنبور پارازیتوئید به سمت میزبانش نیست.

واژه‌های کلیدی: *Lecanicillium longisporum*، *Encarsia formosa*، رجحان، پاسخ بویایی

مقدمه

longisporum دارای دامنه‌ی میزبانی مناسبی می‌باشد. این قارچ در گذشته با نام کلی *Verticillium lecanii* جدا شد اما در شناسایی مجدد که بر پایه‌ی روش‌های مبتنی بر ساختار DNA انجام گرفت از سایر گونه‌ها تفکیک گردید (Kim et al., 2007).

با توجه به مطالعاتی که درباره‌ی نقش زنبور پارازیتوئید *E. formosa* در کنترل سفیدبالک گلخانه انجام شده است، این بررسی‌ها تنها به اطلاعاتی در مورد زیست‌شناسی گونه از لحاظ تغذیه و تولیدمثل و پاسخ بویایی این پارازیتوئید در مقابل گیاه، گیاه‌خوار، برخی از طیف‌های رنگی و وجود عسلک در بوسنج و گلخانه (van Lenteren et al., 1976؛ Noldus and van Lenteren, 1990؛ Bouwman et al., 1992؛ Romeis and Zebitz, 1997) محدود شده است. در حقیقت واکنش این پارازیتوئید در مقابل برهم‌کنش‌های بین گیاه، گیاه‌خوار و بیمارگرها کمتر مورد توجه قرار گرفته است و اطلاعات چندانی در مورد جزئیات سامانه‌های پارازیتوئید-میزبان-بیمارگر موجود نیست، در صورتی که امروزه توجه به این گونه عوامل و اثرات آن‌ها هم از لحاظ نظری و هم از لحاظ کاربردی رو به افزایش گذاشته است که از این عوامل موثر در رابطه‌ی میزبان و پارازیتوئید می‌توان به حضور قارچ‌های بیمارگر در محیط و بررسی پاسخ رفتاری پارازیتوئید در زمان حضور یا عدم حضور میزبان-قارچ بیمارگر اشاره کرد. بنابراین با توجه به اهمیت کاربرد توأم عوامل کنترل‌کننده‌ی بیولوژیک در کنترل آفات و برهم‌کنش‌های احتمالی موجود میان این عوامل کنترل‌کننده‌ی بیولوژیک در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات، هدف از مطالعه‌ی حاضر تعیین اثرات مثبت یا منفی ناشی از برهم‌کنش میان زنبور پارازیتوئید *E. formosa* و قارچ بیمارگر *L. longisporum* در برنامه‌ی کنترل تلفیقی سفیدبالک گلخانه می‌باشد.

سفیدبالک گلخانه با نام علمی *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hem.: Aleyrodidae) آفتی با دامنه‌ی میزبانی بسیار وسیع می‌باشد که در کلیه‌ی کشورهای اروپایی و آسیایی مشاهده می‌شود و در ایران نیز در اکثر مناطق پراکندگی دارد (Behdad, 1987). این آفت ناقل برخی از بیماری‌های ویروسی در سبزیجات و گیاهان زینتی به حساب می‌آید (Nombela et al., 2000). در میان دشمنان طبیعی سفیدبالک، پارازیتوئیدها جایگاه قابل توجهی را به عنوان عوامل بیولوژیک به خود اختصاص داده‌اند که در این میان زنبور *E. formosa* با توانایی زیاد در کنترل آفت مزبور روی محصولات گلخانه‌ای و گیاهان زینتی کاربرد فراوانی دارد به طوری که امروزه فرآورده‌های تجاری آن به صورت روزافزون رو به گسترش می‌باشد (van Lenteren et al., 1996؛ Hoddle et al., 1988؛ Martin, 1999). اما به این نکته نیز باید توجه داشت که زنبور *E. formosa* روی تمام گیاهان کارایی یکسان نداشته و به همین دلیل درجات متفاوتی از موفقیت در برنامه‌های کنترل آفات توسط این زنبور را شاهد می‌باشیم. برای مثال کارایی پارازیتوئید در کشت‌های گوجه-فرنگی به مراتب بهتر از گیاه خیار بوده است. در پاسخ می‌توان به این نکته اشاره کرد که معماری و ساختار گیاه، سطح برگ و کرک‌های^۱ روی آن در گیاهان مختلف اثرات متفاوتی روی توانایی پارازیتوئید در کنترل آفت به دنبال دارد (van Lenteren, 1977؛ Augustin, 2002). بنابراین به منظور بهینه کردن کنترل آفت توسط پارازیتوئید روی محصولاتی از قبیل خیار که کارایی دشمن طبیعی تا حدودی محدود می‌شود، می‌توان راه کارهای کنترلی مناسبی را در کنار رهاسازی پارازیتوئید پیشنهاد کرد که در این میان عوامل میکروبی به ویژه قارچ‌های بیمارگر حشرات جایگاه قابل قبولی را به خود اختصاص داده‌اند (Tafuya et al., 2003). در میان قارچ‌های بیمارگر حشرات گونه‌ی *Lecanicillium Zare & Gams*

مواد و روش‌ها

پرورش سفیدبالک گلخانه و زنبور پارازیتوئید

سفیدبالک گلخانه، *T. vaporariorum* و زنبور پارازیتوئید *E. formosa* از منطقه‌ی هشتگرد، استان البرز جمع‌آوری و برای تشکیل کلنی به آزمایشگاه منتقل شد. سفیدبالک گلخانه روی گیاه خیار به عنوان میزبان آفت مستقر شد و پس از استقرار کلنی آفت، پوره‌های سن سوم سفیدبالک در اختیار زنبور قرار گرفت. پوره‌های پارازیته شده جمع‌آوری و حشرات ماده برای بررسی‌های بعدی نگهداری و با آب و عسل تغذیه شدند. شرایط نگهداری کلنی دمای 25 ± 1 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و نسبت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود.

کشت قارچ و تهیه زادمایه قارچ

قارچ *L. longisporum* LRC216 جدا شده از کرم سیب که در آزمون‌های اولیه (داده‌های منتشر نشده) زهر آگینی زیادی علیه سفیدبالک گلخانه نشان داد، روی محیط PDA کشت داده شد. پس از ۱۴ روز و کامل شدن اسپورزایی، سوسپانسیون با غلظت $9/5 \times 10^5$ کنیدی در میلی‌لیتر تهیه شد. این مقدار، برآورد LC₅₀ قارچ روی پوره‌های سن سوم سفیدبالک گلخانه در آزمون مقدماتی بود (داده‌های منتشر نشده).

دستگاه بویایی سنج (الفکتومتر)

دستگاه مزبور شامل یک لوله‌ی شیشه‌ای پیرکس (بازوی قاعده‌ای) به قطر ۴ سانتی‌متر بود که طول بازوی اصلی و دو بازوی فرعی آن ۱۳ سانتی‌متر بود (شکل ۱). هر یک از بازوهای فرعی به منبع رایحه‌ی^۲ مورد نظر متصل شدند. جریان مداوم هوا به وسیله‌ی پمپ هوا ایجاد می‌شد. میزان سرعت و جریان هوا توسط یک باد سنج یا دبی سنج^۳ که در بازوی اصلی قرار داده شده بود، به میزان ۳۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه تنظیم شد (Romeis and Zebitz, 1997؛ Vet et al., 1983) تا

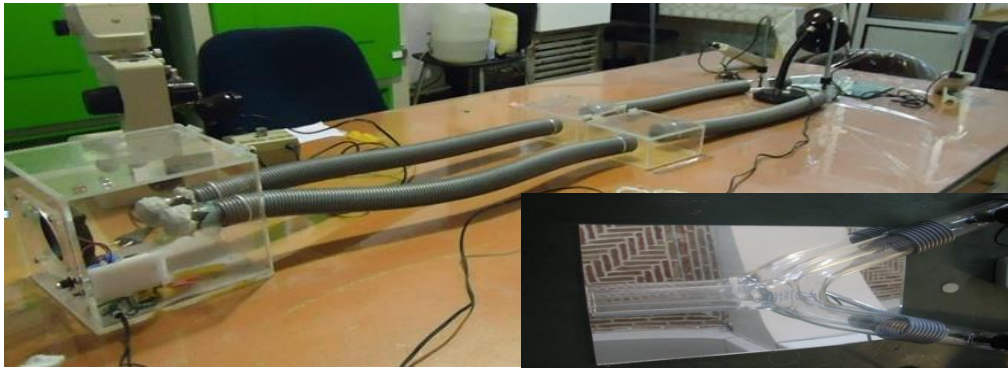
سرعت باد در هر دو بازو یکسان شود. آزمایش بویایی سنجی با آزاد کردن یک عدد زنبور ماده با سن کمتر از ۲۴ ساعت در بازوی اصلی آغاز می‌شد و تا انتخاب یکی از بازوهای بویایی-سنج ردیابی پارازیتوئید ادامه یافت. پاسخ زنبور به هر یک از بازوهای فرعی در صورتی مورد قبول واقع می‌شد که حشره در مدتی کمتر از ۱۰ دقیقه دست کم ۳ سانتی‌متر از بازوی فرعی را می‌پیمود (Romeis and Zebitz, 1997). زنبورهایی که در این فاصله زمانی هیچ کدام از بازوها را انتخاب نمی‌کردند به-عنوان بی‌پاسخ^۴ محسوب شده و در محاسبات منظور نمی‌شد. پس از ارزیابی پاسخ بویایی هر ۱۰ زنبور پارازیتوئید، لوله‌ی Y شکل بوسنج با الکل ۷۰ درصد شسته و محفظه‌های نگهداری رایحه‌ها بین بازوهای چپ و راست تعویض می‌شدند تا از احتمال هر گونه خطای ناشی از عدم تقارن احتمالی کاسته شود. هر آزمایش با ۱۵ زنبور پارازیتوئید ماده در سه تکرار انجام شد.

طراحی روش‌های اجرایی آزمایش الفاکتومتری

برای انجام آزمایش گلدان‌هایی با پنج برگ انتخاب شد که به طور متوسط روی هر یک از برگ‌ها حدود ۵۰ عدد پوره‌ی سن سوم سفیدبالک مستقر شده بود. پس از تهیه‌ی گلدان‌ها غلظت مورد نظر از جدایه‌ی LRC216 ($9/5 \times 10^6$) کنیدی بر میلی‌لیتر) با استفاده از آب‌پاش دستی رو و پشت هر برگ به میزانی که برگ کاملاً خیس شود، پاشیده شد. در این آزمایش، چهار بازه‌ی زمانی آلودگی به قارچ در گلدان‌های آلوده به سفیدبالک گلخانه در نظر گرفته شد (صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پیش از شروع آزمایش گلدان‌ها مورد پاشش قرار گرفتند). هر یک از گیاهان تقریباً به ۲۵۰ پوره‌ی سن سوم سفیدبالک گلخانه آلوده شده بودند. در پایان توانایی زنبور پارازیتوئید *E. formosa* در تشخیص مناسب‌ترین مکان برای تخم‌گذاری و جهت‌گیری آن‌ها به سمت مواد فرار متصاعد از گیاهان آلوده به قارچ و گیاهان سالم در پنج حالت آزمایشی متفاوت، با استفاده از لوله‌ی بوسنج Y شکل با لحاظ منابعی

2. volatile compounds; odor
3. Air Flow meter

4. No choice



شکل ۱-لوله‌ی بوسنج

Figure 1. Odor measurement tube

که هر یک از دو بازو را انتخاب کردند، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲).

آزمایش دوم. پاسخ بویایی زنبور پارازیتوئید به رایحه‌های القایی گیاه خیار حاوی سفیدبالک در مقایسه با گیاه خیار حاوی سفیدبالک آلوده به قارچ در چهار بازه زمانی

در این آزمایش زنبور پارازیتوئید *E. formosa* از طرفی مواد فرار حاصل از گیاه خیار حاوی سفیدبالک تیمار شده با Tween® 80 و از سوی دیگر مواد فرار حاصل از گیاه خیار حاوی سفیدبالک تیمار شده با قارچ بیمارگر *L. longisporum* را در چهار بازه زمانی دریافت کرد.

در حالتی که گیاه حاوی سفیدبالک سالم در یک سو و گیاه حاوی سفیدبالک تیمار شده با قارچ در بازه‌های زمانی صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ وجود داشت، به ترتیب ۳۳، ۳۸، ۴۲ و ۴۲ درصد از پارازیتوئیدها، رجحانی را به سمت بازویی که منتهی به گیاه خیار حاوی سفیدبالک‌های شاهد بود نشان دادند در حالی که ۳۳، ۲۷، ۱۸ و ۲۰ درصد از پارازیتوئیدها، به ترتیب گرایشی را به سمت بازویی که منتهی به گیاه خیار حاوی سفیدبالک تیمار شده با قارچ بیمارگر در بازه‌های زمانی صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بود نشان دادند (جدول ۱).

که جریان هوا را به سمت بازوهای لوله هدایت می‌کردند مورد آزمون قرار گرفت.

تجزیه آماری

برای تعیین عدم تجانس در بین تکرارهای هر یک از آزمایش‌ها از روش تکرار نکویی برازش^۵ استفاده شد (Sokal and Rohlf, 1995). با توجه به متجانس بودن تمام تکرارها داده‌های حاصل با هم جمع و با آزمون مربع کای (Chi-square) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

آزمایش اول. پاسخ بویایی زنبور پارازیتوئید به رایحه‌های القایی گیاه خیار آلوده به پوره‌های سفیدبالک در مقایسه با گیاه سالم

در این آزمایش زنبور پارازیتوئید *E. formosa* از طرفی مواد فرار حاصل از گیاه خیار حاوی سفیدبالک و از سوی دیگر مواد فرار حاصل از گیاه خیار سالم را دریافت کرد. پس از بررسی نتایج مشاهده شد که ۱۲ (۲۷ درصد) زنبور به سمت بازویی که به گیاه خیار سالم منتهی می‌شد جلب شده و ۱۳ (۲۹ درصد) زنبور پارازیتوئید نیز به سمت بازویی تمایل داشتند که به گیاه خیار حاوی سفیدبالک منتهی می‌شد (جدول ۱). با توجه به این که مقدار P برابر با ۰/۳ بود بین پارازیتوئیدهایی

5. Replicated goodness of fit

جدول ۱. نتایج آزمون بوسنج حاصل از واکنش زنبور پارازیتوئید *Encarsia formosa* به مواد فرار بویایی در تیمارهای مختلف

Table 1. Response of female *Encarsia formosa* in the exposure to different odours in olfactometer

Experiment 1	replication	non-response	cucumber+whitefly	cucumber	total
	1	7	6	2	15
	2	8	3	4	15
	3	5	4	6	15
Experiment 2	replication	non-response	cucumber+whitefly+fungus (0 h)	Cucumber+whitefly	total
	1	6	5	4	15
	2	6	5	4	15
	3	3	5	7	15
	replication	non-response	cucumber+whitefly+fungus (24 h)	Cucumber+whitefly	total
	1	6	2	7	15
	2	6	4	5	15
	3	4	6	5	15
	replication	non-response	cucumber+whitefly+fungus (48 h)	Cucumber+whitefly	total
	1	9	2	4	15
	2	3	3	9	15
	3	6	3	6	15
	replication	non-response	cucumber+whitefly+fungus (72 h)	Cucumber+whitefly	total
	1	4	5	6	15
	2	4	3	8	15
	3	9	1	5	15
Experiment 3	replication	non-response	cucumber	Clean air	total
	1	3	9	3	15
	2	8	5	2	15
	3	4	6	5	15
Experiment 4	replication	non-response	Cucumber+whitefly	Clean air	total
	1	5	6	4	15
	2	7	6	2	15
	3	2	7	6	15
Experiment 5	replication	non-response	cucumber+whitefly+fungus (0 h)	cucumber	total
	1	5	6	4	15
	2	3	6	6	15
	3	3	9	3	15
	replication	non-response	cucumber+whitefly+fungus (24 h)	cucumber	total
	1	4	5	6	15
	2	7	7	1	15
	3	5	7	3	15
	replication	non-response	cucumber+whitefly+fungus (48 h)	cucumber	total
	1	7	4	4	15
	2	3	3	9	15
	3	7	6	2	15
	replication	non-response	cucumber+whitefly+fungus (72 h)	cucumber	total
	1	3	2	10	15
	2	4	6	5	15
	3	6	5	4	15

با توجه به این که مقدار P در بازه‌های زمانی صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ به ترتیب برابر با ۰/۱۴، ۰/۹۱، ۰/۱۷ و ۰/۳۳ شد در نتیجه انتخاب کردند، تفاوت معنی داری دیده نشد (جدول ۲).

جدول ۲. نتایج آزمون نکویی برآزش حاصل از واکنش زنبور پارازیتوئید *Encarsia formosa* به مواد فرار بویایی در تیمارهای مختلف

Table 2. Response of female *Encarsia formosa* in the exposure to different odors by analysis of Goodness of fit

Experiment 1		cucumber+whitefly --- cucumber		
G-test	df	G-volume	P value	
G _h	2	3.8	0.15	
G _p	1	1.1	0.3	
G _t	3	4.9	0.18	
Experiment 2		cucumber+whitefly+fungus (0 h) --- Cucumber+whitefly		
G-test	df	G-volume	P value	
G _h	2	0.4	0.82	
G _p	1	2.2	0.14	
G _t	3	2.6	0.46	
		cucumber+whitefly+fungus (24 h) --- Cucumber+whitefly		
G _h	2	3.5	0.17	
G _p	1	0.012	0.91	
G _t	3	3.5	0.32	
		cucumber+whitefly+fungus (48 h) --- Cucumber+whitefly		
G _h	2	1.5	0.47	
G _p	1	1.9	0.17	
G _t	3	3.4	0.33	
		cucumber+whitefly+fungus (72 h) --- Cucumber+whitefly		
G _h	2	4.2	0.12	
G _p	1	0.96	0.33	
G _t	3	5.16	0.16	
Experiment 3		Cucumber --- Clean air		
G-test	df	G-volume	P value	
G _h	2	1.9	0.39	
G _p	1	7.2	0.007	
G _t	3	9.1	0.02	
Experiment 4		Cucumber+whitefly --- Clean air		
G-test	df	G-volume	P value	
G _h	2	1.4	0.5	
G _p	1	4.1	0.04	
G _t	3	5.5	0.14	
Experiment 5		cucumber+whitefly+fungus (0 h) --- cucumber		
G-test	df	G-volume	P value	
G _h	2	2.23	0.32	
G _p	1	4.95	0.02	
G _t	3	7.25	0.06	
		cucumber+whitefly+fungus (24 h) --- cucumber		
G _h	2	4.5	0.1	
G _p	1	6.1	0.01	
G _t	3	10.6	0.01	
		cucumber+whitefly+fungus (48 h) --- cucumber		
G _h	2	5.6	0.06	
G _p	1	0.12	0.73	
G _t	3	5.72	0.13	
		cucumber+whitefly+fungus (72 h) --- cucumber		
G _h	2	5.5	0.06	
G _p	1	0.08	0.8	
G _t	3	5.58	0.13	

آزمایش سوم. پاسخ بویایی زنبور پارازیتوئید به رایحه‌های القایی گیاه خیار سالم (بدون سفیدبالک) در مقایسه با هوای پاک

هنگامی که زنبور پارازیتوئید *E. formosa* از یک سمت با مواد فرار حاصل از گیاه سالم و از سوی دیگر با هوای پاک (بازوی فاقد مواد فرار) مواجه شد، ۴۴ درصد از پارازیتوئیدها، رجحانی را به سمت یکی از بازوها (گیاه سالم) نشان دادند و ۱۵ زنبور (۳۳ درصد) از ۴۵ پارازیتوئید به محل تقاطع بوسنج نرسیدند (جدول ۱). در این آزمایش، زنبور پارازیتوئید *E. formosa* به صورت معنی‌داری به سمت بازویی جلب شد که به گیاه سالم منتهی می‌شد (جدول ۲). این مشاهدات را می‌توان به عنوان رفتار ترجیحی به سمت مواد فرار حاصل از گیاه سالم به منظور یافتن میزبان احتمالی برای تخمگذاری دانست.

آزمایش چهارم. پاسخ بویایی زنبور پارازیتوئید *E. formosa* به رایحه القایی گیاه حاوی پوره‌های سفیدبالک گلخانه در مقابل هوای پاک

هنگامی که زنبور پارازیتوئید *E. formosa* از طرفی با مواد فرار حاصل از گیاه آلوده به پوره سفیدبالک و از سوی دیگر با هوای پاک (بازوی فاقد مواد فرار) مواجه شد، ۴۲ درصد از زنبورها، رجحانی را به سمت یکی از بازوها (گیاه آلوده به سفیدبالک) نشان دادند که کلنی میزبان را به عنوان منبع مواد فرار بویایی در اختیار داشت و ۱۴ زنبور پارازیتوئید (۳۱ درصد) از ۴۵ زنبور به محل تقاطع بوسنج نرسیدند (جدول ۱). در این آزمایش، زنبور پارازیتوئید *E. formosa* به صورت معنی‌داری به سمت بازویی جلب شد که به کلنی سفیدبالک منتهی می‌شد (جدول ۲). این مشاهدات را می‌توان به عنوان رفتار ترجیحی به سمت مواد فرار حاصل از کلنی میزبان به-منظور تغذیه یا تخمگذاری دانست.

آزمایش پنجم. پاسخ بویایی زنبور پارازیتوئید *E. formosa* به رایحه القایی گیاه حاوی سفیدبالک گلخانه آلوده به قارچ در چهار بازه زمانی در مقابل گیاه سالم

هنگامی که زنبور پارازیتوئید *E. formosa* از طرفی با مواد فرار حاصل از گیاه حاوی پوره‌های سفیدبالک گلخانه تیمار شده با قارچ *L. longisporum* در چهار بازه زمانی و از سوی دیگر با گیاه سالم مواجه شد، به ترتیب ۴۷، ۴۲، ۲۷ و ۲۷ درصد از پارازیتوئیدها، در بازه‌های زمانی صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت، به سمت بازوی حاوی کلنی پوره‌های سفیدبالک گلخانه تیمار شده با قارچ *L. longisporum* جلب شدند و در این میان ۱۱، ۱۶، ۱۷ و ۱۳ پارازیتوئید از ۴۵ زنبور برای هر بازه زمانی به محل تقاطع بوسنج نرسیدند (جدول ۱). در این آزمایش، زنبور پارازیتوئید به صورت معنی‌داری در بازه زمانی صفر ساعت ($P=0/02$) و در بازه زمانی ۲۴ ساعت ($P=0/01$) به سمت بازویی جلب شد که شامل کلنی پوره‌های سفیدبالک گلخانه تیمار شده با قارچ بود (جدول ۲) ولی در بازه زمانی ۴۸ ساعت ($P=0/03$) و ۷۲ ساعت ($P=0/08$) پس از پاشش قارچ بین پارازیتوئیدهایی که هر یک از دو بازو را انتخاب کردند، تفاوت معناداری دیده نشد (جدول ۲). این مشاهدات را می‌توان به عنوان رفتار ترجیحی به سمت مواد فرار حاصل از کلنی حاوی میزبان دانست چون کلنی پوره‌های سفیدبالک گلخانه تیمار شده با قارچ در بازه‌های زمانی صفر و ۲۴ ساعت، هنوز آلودگی قارچ در آن به حدی نرسیده بود که تولید مواد فراری را در پوره سفیدبالک القا کند که برای پارازیتوئید بازدارنده است.

در این پژوهش، واکنش‌های زنبور پارازیتوئید *E. formosa* در برخورد با گیاه آلوده به سفیدبالک و قارچ بیمارگر *L. longisporum* بررسی شد و تجزیه و تحلیل برهم‌کنش‌ها براساس متغیر اصلی معادلات که همان مواد فرار بویایی است مورد آزمون قرار گرفتند. در بررسی‌های ما مشخص شد که زنبور پارازیتوئید در انتخاب گیاه سالم و گیاه آلوده به سفیدبالک گلخانه، گیاه آلوده به سفیدبالک گلخانه و گیاه آلوده به سفیدبالک گلخانه تیمار شده با قارچ رجحانی را از خود نشان نمی‌دهد. رامیس و زیپس (Romeis and Zebitz, 1997) در بررسی پاسخ زنبور پارازیتوئید *E.*

میزبانش نمی‌باشد. این مشاهدات با نتایج نولدوس و وان لنترن (Noldus and van Lenteren, 1990) مطابقت داشت که در تونل باد روی گرایش زنبور پارازیتوئید *E. formosa* به سمت میزبانش انجام شد. همچنین وت و دیک (Vet and Dicke, 1992) نیز مشاهده کردند که زنبور پارازیتوئید *E. formosa* قادر به شناسایی مواد شیمیایی القاء شده و انتشار یافته توسط گیاه آلوده به گیاه‌خوار نمی‌باشد. اگرچه در گونه‌هایی از پارازیتوئیدها مانند *Diaeretiella rapae* (Hym.: Aphidiidae) McIntosh و *Epidinocarsis lopezi* De Santis (Hym.: Encyrtidae) (Nadel & van Alphen., 1987) رایحه‌های ساطع شده از سمت گیاه آلوده به گیاه‌خوار، در جهت‌گیری پارازیتوئیدها نقش دارد اما در مورد *E. formosa* صدق نمی‌کند (Noldus and van Lenteren, 1990).

در آزمایش دیگر ما مشاهده شد که پارازیتوئید در مقابل هوای پاک-گیاه سالم و هوای پاک-گیاه حاوی سفیدبالک، به ترتیب به سمت گیاه سالم و گیاه حاوی سفیدبالک تمایل دارد. در جهت پاسخ به گرایش زنبور پارازیتوئید به سمت گیاه (سالم و حاوی سفیدبالک گلخانه) در مقابل هوای پاک (عدم حضور گیاه) می‌توان اینگونه بیان داشت: از آنجایی که رفتار میزبان‌یابی زنبور *E. formosa* به صورت تصادفی می‌باشد (به دلیل عدم تشخیص مواد فرار ناشی از سفیدبالک) این احتمال وجود دارد که زنبور پارازیتوئید رایحه‌های متضاد شده از گیاه را تا حدی تشخیص می‌دهد و در نتیجه از نظر تکاملی زمانی که این رایحه‌ها را دریافت کرد احتمال حضور سفیدبالک را روی گیاه متصور می‌شود. بنابراین این رفتار می‌تواند نقش قابل توجهی را در یافتن سریع‌تر میزبان ایفا نماید، در صورتی که در سمت هوای پاک چون گیاهی وجود ندارد رایحه‌ای نیز برای جلب پارازیتوئید وجود ندارد. به همین منظور زنبور *E. formosa* با بهره گرفتن از شاخصه‌هایی مانند بو یا رنگ گیاه، برای یافتن سریع‌تر زیستگاه میزبانش استفاده می‌کند (Hollingsworth et al., 1970; Vater, 1970).

formosa به مواد فرار بویایی حاصل از برگ گیاه توتون سالم و آلوده به سفیدبالک گلخانه و عسلک پنبه اختلاف معنی‌داری بین برگ‌های سالم و آلوده مشاهده نکردند. همچنین نتایج آن‌ها حاکی از آن بود که عسلک ترشح شده از پوره‌ها نیز موجب جلب زنبور پارازیتوئید از فواصل دور یا نزدیک نمی‌شود. اگرچه رنگ‌های با طیف زرد و سبز، مانند رنگ سبز برگ گیاه میزبان پارازیتوئید را در گرایش زنبور *E. formosa* موثر گزارش کردند اما به طور کلی بیان کردند که جهت‌گیری زنبور پارازیتوئید برای جستجو و یافتن میزبان به صورت تصادفی می‌باشد و انتخابی میان گیاه سالم و آلوده به سفیدبالک انجام نمی‌گیرد. همچنین در بررسی‌های محدودی دیگری که روی تاثیر برگ گیاهان آلوده به سفیدبالک‌ها روی جلب زنبور پارازیتوئید انجام شده است، مشخص شد که برگ‌های آلوده به سفیدبالک تاثیر چندانی روی گرایش زنبور پارازیتوئید *E. formosa* به سمت این گیاهان را ندارد (Noldus and van Lenteren, 1990; Bouwman et al., 1992). حتی رفتار جستجوگری زنبور پارازیتوئید *E. formosa* روی برگ گیاه در پاسخ به حضور میزبانش برای انگلی کردن، به صورت تصادفی (van Lenteren et al., 1976; van Ruermund and van Roermund et al., 1994; and van Lenteren, 1995) و آنچه که موجب توقف و ایست پارازیتوئید روی قسمت‌هایی از برگ گیاه می‌شود، در واقع پاسخی است که در تماس با میزبان و یا عسلک ترشح شده از میزبان رخ می‌دهد (van Vianen and van de viere, 1988; van Roermund et al., 1994; Roermund and van Lenteren, 1995). اگرچه که سازوکار آن به درستی مشخص نیست (Romeis and Zebitz, 1997).

نتایج برآمده از این آزمایش همچنین نشان داد که زنبور پارازیتوئید *E. formosa* پاسخی را به ترکیب گیاه-سفیدبالک در مقایسه با گیاه سالم نداده و در واقع حضور سفیدبالک دلیلی برای گرایش زنبور پارازیتوئید به سمت

پایداری قارچ را در محیط افزایش می‌دهد (Chouvinc *et al.*, 2008). اگرچه ذکر دقیق دلایل و سازوکارهای آن نیاز به انجام آزمایش‌های جداگانه‌ای دارد که به پژوهش‌های آینده واگذار می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از مرکز تحقیقات Grant Duke Lethbridge کانادا برای ارسال جدایی‌ی قارچ، مسئولین آزمایشگاه کنترل بیولوژیک گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران و سرکار خانم دکتر زاهدی بخاطر در اختیار گذاشتن امکانات آزمایشگاه رفتارشناسی واقع در موزه‌ی جانورشناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران برای انجام این تحقیق قدردانی می‌کنند.

(Goff and Nault, 1984) که با توجه به نتایج برآمده از این آزمایش در تحلیل گرایش زنبور پارازیتوئید *E. formosa* به سمت گیاه خیار سالم و آلوده به سفیدبالک، در مقایسه با هوای پاک، عملکرد زنبور پارازیتوئید در جلب به بوی گیاه، نیز این‌گونه تفسیر می‌شود.

در آزمون پایانی دستگاه بوسنج، گرایش زنبور *E. formosa* میان گیاه حاوی سفیدبالک تیمار شده با قارچ در مقابل گیاه سالم، مشخص شد در بازه‌های زمانی صفر و ۲۴ ساعت زنبور پارازیتوئید به سمت گیاه تیمار شده با قارچ تمایل دارد. اما در بازه‌های زمانی بالا (۴۸ و ۷۲ ساعت) تفاوتی میان گیاه سالم و گیاه حاوی سفیدبالک آلوده به قارچ برای جلب پارازیتوئید مشاهده نشد. دلیل عدم تمایل زنبور پارازیتوئید به بازه‌های زمانی بالاتر را می‌توان در زمان کافی برای رشد قارچ بیمارگر و تشخیص احتمالی پارازیتوئید برای جلوگیری از رقابت بین قارچ بیمارگر و زنبور پارازیتوئید دانست. اگرچه شواهدی مبنی بر جلب حشرات به قارچ‌ها وجود دارد، اما این گرایش‌ها بیشتر مربوط به قارچ‌های غیر بیمارگر حشرات می‌باشد (Sullivan and Berisford, 2004; Baverstock *et al.*, 2009). از طرفی بیشتر مطالعات نیز تا امروز نشان می‌دهند که برخی حشرات قادر به تشخیص قارچ‌های بیمارگر حشرات نیستند و برخی هم می‌توانند قارچ را تشخیص دهند (Baverstock *et al.*, 2009). حشره اگر توانایی تشخیص خطر حمله و هجوم از جانب قارچ‌های بیمارگر حشرات را داشته باشد و از طریق رفتار پرهیز، یا با کمک واکنش‌های پس از تماس^۶ نظیر تیمار کردن و تمیز کردن^۷ پاسخ نشان دهد، ممکن است یک مزیت و برتری حاصل از انتخاب را کسب کند. در مقابل، بیمارگرهای قارچی نیز می‌توانند برای حشرات میزبان جلب‌کننده باشند یا از دید آن‌ها پنهان باقی بمانند که این در واقع کسب یک مزیت برای بیمارگر است و این مزیت،

6. Post contact

7. Grooming

References

- Augustin, A. M.** 2002. Foraging behavior and resource utilization of *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae), a parasitoid of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) in greenhouses: the effect of host plant species and host plant structure. PhD thesis, University of Bayreuth, Germany 84 pp.
- Baverstock, J., Clark, S. J., Alderson, P. G., and Pell, J. K.** 2009. Intraguild interactions between the entomopathogenic fungus *Pandora neophidus* and an aphid predator and parasitoid at the population scale. **Journal of Invertebrate Pathology** 102: 167–172.
- Behdad, A.** 1987. Pests and disease of trees, forest shrubs and ornamental plants. Sepehr Press, Tehran, pp 824. (In Farsi).
- Bouwmen, G., Sutterlin, S. and van Lenteren, J. C.** 1992. Distribution in space time of *Encarsia formosa* Gahan on ornamental plant gerbera: First experiments. Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands 3: 25-30.
- Chouvenc, T., Su, N. Y. and Elliott, M. L.** 2008. Interaction between the subterranean termite *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae) and the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in foraging arenas. **Journal of Economic Entomology** 101: 885-893.
- Goff, A. M. and Nault, L. R.** 1984. Response of the pea aphid parasite *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae) to transmitted light. **Environmental Entomology** 13: 595-598.
- Hoddle, M. S., van Driesche, R. G. and Sanderson, J. P.** 1998. Biology and use of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa*. **Annual Review of Entomology** 43: 645-69.
- Hollingsworth, J. P., Hartstack Jr, A. W. and Lingren, P. D.** 1970. The spectral response of *Campoletis perdistinctus*. **Journal of Economic Entomology** 63: 1758–1761.
- Kim, J. J., Goettel, M. S. and Gillespie, D. R.** 2007. Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and the cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*. **Biological control** 40: 327-332.
- Martin, J. H.** 1999. The whitefly fauna of Australia (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). A taxonomic account and identification guide. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. Technical Paper 197 pp.
- Nadel, H. and van Alphen, J. J. M.** 1987. The role of host plant odours in the attraction of a parasitoid, *Epidinocarsis lopezi*, to the habitat of its host, the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 45: 181-186.
- Noldus, L. P. J. and van Lenteren, J. C.** 1990. Host aggregation and parasitoid behaviour: biological control in a closed system. In: M. Mackauer, L. E. Ehler & J. Roland (eds.), Critical Issues in Biological Control Intercept, Andover pp. 229–262.
- Nombela, G., Beitia, F. and Muñiz, M.** 2000. Variation in tomato host response to *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in relation to acyl sugar content and presence of the nematode and potatoaphid resistance gene Mi. **Bulletin of Entomological Research** 90: 161-167.
- Read, D. P., Feeny, P. and Root, R. B.** 1970. Habitat selection in the aphid parasite *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae) and hyperparasite *Charips brassicae* (Hymenoptera: Cynipidae). **Canadian Entomologist** 102: 1567–1578.
- Romeis, J. and Zebitz, C. P. W.** 1997. Searching behaviour of *Encarsia formosa* as mediated by colour and honeydew. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 82: 299-309.
- Sokal, R. R. and Rohlf, F. J.** 1995. Biometry, 3rd ed. W. H. Freeman, San Francisco, CA. SOLOMON, J.E. (1949) The natural control of animal populations. **Journal of Animal Ecology** 18: 1-35.
- Sullivan, B. T. and Berisford, C. W.** 2004. Semiochemicals from fungal associates of bark beetles may mediate host location behavior of parasitoids. **Journal of Chemical Ecology** 30:703-717.
- Tafoya, F., Zuniga-Delgado, M., Allatore, R., Juan, C. T. and Stanley, D.** 2003. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* against the cactus weevile, *Metamasius spinola* (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory conditions. **Florida Entomology** 87: 533-536.

- van Lenteren, J. C.** 1997. From Homo economicus to Homo ecologicus: towards environmentally safe pest control. In: Rosen, D., Tel-Or, E., Hadar, Y. & Chen, Y. (eds.), *Modern Agriculture and the Environment*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht pp. 17-31.
- van Lenteren, J. C., Nell, H. W. and Sevenster-van der Lelie, L. A.** 1976. The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae), I: host finding by the parasite. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 20:123–130.
- van Lenteren, J. C., Van Roermund, H. J. W. and Sutterlin, S.** 1996. Biological control of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) with the parasitoid *Encarsia formosa*: How does it work? **Biological Control** 6: 1-10.
- van Roermund, H. J. W. and van Lenteren, J. C.** 1995. Foraging behaviour of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa* on tomato leaflets. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 76: 313-324.
- van Roermund, H. J. W., Hemerik, L. and Van Lenteren, J. C.** 1994. Influence of intrapatch experiences and temperature on the time allocation of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). **Journal of Insect Behavior** 7: 483-501.
- van Vianen, A. and van de Veire, M.** 1988. Honeydew of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), as a contact kairomone for its parasite *Encarsia formosa* Gahan. **Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent** 53(3a): 949-954.
- Vater, G.,** 1971. Nber Ausbreitung und Orientierung von *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera, Aphidiidae) unter Berücksichtigung der Hyperparasiten von *Brevicoryne brassicae* (Homoptera, Aphidiidae). **Zeitschrift für angewandte Entomologie** 68: 113–225.
- Vet, L. E. M. and Dicke, M.** 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. **Annual Review of Entomology** 37: 141-172.

Olfactometric responses of *Encarsia formosa* (Hym.:Aphelinidae) to odors of infested greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Hem.: Aleyrodidae), by *Lecanicillium longisporum* treated on cucumber leaves

M. Fazeli-Dinan*¹, R. Talaei-Hassanloui², H. Allahyari³, A. Kharazi-Pakdel⁴ and H. Mohammadi⁵

1. Department of Medical Entomology and vector control, Health Sciences Research Center, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. 2, 3, 4, 5. Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: January 22, 2014- Accepted: December 24, 2014)

Abstract

Olfactory response of *Encarsia formosa* to odors produced by untreated and treated whitefly that were infested by fungi *Lecanicillium longisporum* was determined in an airflow Y-tube olfactometer. The results indicated that the parasitoid response to odors from cucumber plants infested by whitefly compared to whitefly and fungi free cucumber plants showed no significant differences. Also in other test, cucumber plants infested by whitefly compared with the cucumber plants infested by whitefly that were treated by fungi no significant differences was observed in the selection rate of parasitoids as seen in the olfactometer tubes. Parasitoid response to odors of non-infested plant (no whitefly and fungi) against clean air and the whitefly infested plant against clean air, the parasitoid was significantly attracted toward the arms having non-infested and whitefly infested plant. Based on the present result in spite of parasitoid attraction to some of the treatments there was no absolute response to plant-whitefly combination compared to non-infested plant. In fact the presence of whitefly is no indication for attraction of parasitoid toward its host.

Key words: *Encarsia formosa*, *Lecanicillium longisporum*, Olfactory response.