آفات و بیماریهای گیاهی
جلد ۶۶، شماره‌های ۲ و ۱، ۷۷-۱۳۷۶

مطالعه مرفولوژیک و آنزیماتیک گونه‌های جنس *Trichogramma* در ایران

Morphological and Enzymatic study of the genus *Trichogramma* in Iran.
(Hym. Trichogrammatidae)

ابراهیم ابراهیمی، برنارد پنتورو و محمود شجاعی
موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، آزمایشگاه بیولوژی انستیتوی ملی علوم کاربردی، لیون، فرانسه و واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

چکیده

در این مقاله ۸ گونه از زنبورهای جنس *Trichogramma* Westwood, 1833 از نقاط مختلف ایران جمع‌آوری و شناسائی شده و ضمن معرفی میزبان‌ها و پراکندگی هر گونه، مشخصات مرفولوژیک و آنزیماتیک هر یک ذکر شده و کلیدی جهت تشخیص گونه‌های معرفی‌شده ارائه گردیده است. مطالعه آنزیم استراز با استفاده از الکتروفورز عمودی روی ژل‌پلی‌آکریل‌آمید انجام شده و برای مطالعه مرفولوژیک عمدتاً از مشخصات دستگاه زادآوری و شاخک نر استفاده گردیده است. گونه‌های معرفی شده عبارتند از:

Trichogramma brassicae Bezdenko, *T. evanescens* Westwood, *T. embryophagum* (Hartig), *T. dendrolimi* Matsumura, *T. semblidis* (Aurivillius) ,*T. principium* Sugonjaev & Sorokina, *T. tshumakovae* Sorokina, *T. pintoi* Voegelé.

۳ گونه از این مجموعه برای فون ایران جدید می‌باشند. مطالعه آنزیمی جهت تعیین فواصل ژنتیکی بین جمعیت‌ها و انجام لقاح‌های بیولوژیک بین آنها ادامه دارد.

مقدمه

خانوادهٔ Trichogrammatidae دارای ۸۰ جنس است که بزرگترین جنس آن *Trichogramma* با بیش از ۱۴۵ گونهٔ شناخته شده‌است. این جنس دارای انتشار وسیع در سطح جهان است و در اکوسیستم‌های مختلف یافت می‌شود، چنانکه Pinto & Stouthamer (1944) معتقدند که هیچ

سرزمین غیر یخبندانی که عاری از تریکوگراما باشد شناخته نشده است. اگرچه این زنبورها تخم حشرات راسته‌های گوناگون نظیر Coleoptera، Diptera، Hemiptera، Homoptera، Hymenoptera (Symphyta) و Neuroptera را مورد حمله قرار می‌دهند، اما میزبانهای آنها عمدتاً از راستهٔ Lepidoptera بوده و یکی از رایج‌ترین عوامل زنده مورد استفاده در کنترل بیولوژیک پروانه‌ها در سراسر جهان می‌باشند، بطوریکه در شوروی سابق در سال ۱۹۹۰ در سطحی معادل ۲۷/۶ میلیون هکتار از این زنبور استفاده گردیده که بزرگترین سطح استفاده از یک عامل بیولوژیک در جهان است. چین با ۲/۱ میلیون هکتار و مکزیک با ۲ میلیون هکتار دومین و سومین میزان کنترل با این زنبور را داشته‌اند. به گزارش Hassan (1988, 1990) و دیگران (نقل از Li, 1994) سالانه بیش از ۳۲ میلیون هکتار از اراضی زراعی و جنگلی در بیش از ۳۰ کشور جهان با زنبور تریکوگراما کنترل می‌شوند. این کنترل عمدتاً در محصولاتی نظیر ذرت، نیشکر، پنبه، گوجه‌فرنگی، کلم، سیب، چغندرقند، برنج، سویا، انگور، توتون، مرکبات و فراورده‌های انباری بوده است. در ایران از زنبور تریکوگراما عمدتاً در شالیزارهای شمال کشور علیه پروانه کرم ساقه‌خوار برنج استفاده شده و همچنین علیه پروانه‌های زیان‌آور ذرت، انار و سیب در شمال، مرکز و شمال‌غرب ایران فعالیت‌هائی صورت گرفته‌است که در صورت پیگیری و اجرای علمی و صحیح، نقش زیادی در کنترل آفات و کاهش مصرف سموم شیمیائی خواهد داشت.

کنترل بیولوژیک توسط زنبور تریکوگراما را می‌توان با استفاده از گونه‌هائی که سازگاری مناسب در محیط فعالیت آفت دارند به کیفیت مطلوب رساند. شناسائی این زنبورها به علت اندازه کوچک (کمتر از ۱ میلیمتر) و فقدان خصوصیات مرفولوژیک متفاوت بین گونه‌ها مشکل است، در عین حال شناسائی صحیح گونه‌ها بسیار اساسی است زیرا رهاسازی گونهٔ نامناسب سبب کنترل بیولوژیک با تأثیر کم‌شده و قیمت تمام‌شده محصول را در یک تولید اقتصادی بالا برده و خسارت به محصول افزایش می‌یابد و در نهایت استفاده بیشتر از سموم شیمیائی را موجب می‌شود. خصوصیات مرفولوژیک متفاوت نظیر اندازه، رنگ، شکل بال، شکل شاخک‌ها و پاها، موهای بال و شاخک و غیره برای تمایز گونه‌های جنس *Trichogramma* بکار برده شده‌اند. اولین کسی که دستگاه زادآوری تریکوگراما را توصیف کرد Hintzelmann در سال ۱۹۲۵ بود اما تا قبل از مقالهٔ Nagarakatti & Nagaraja (1971) اهمیت دستگاه زادآوری نر در شناسائی گونه‌های تریکوگراما مورد توجه قرار نگرفته بود. اندازهٔ تخم‌ریز، شکل فراگما و خصوصیات بیولوژیک بوسیله Telenga (1958)، موهای شاخک ماده بوسیله Voegelé, *et al.* (1975)، آنزیم‌ها بوسیله Voegelé & Bergé (1976)، موهای Mesoscutellar بوسیله Pinto *et al.* (1978) و آنالیز چند متغیره مرفومتریک بوسیله Russo & Pintureau (1981) بکار گرفته شده‌اند.

Voegele & Pintureau (1982) کلیدی بر اساس آلت زادآوری نر و شاخک تهیه کرده و گونه‌های تریکوگراما را به ۱۴ گروه تقسیم‌بندی کردند. Pintureau (1994) کلیدی بر اساس مشخصات دستگاه زادآوری و شاخک‌های نر و آنزیم استراز ارائه کرده‌است. خیلی از این خصوصیات مرفولوژیک در سیستماتیک جنس *Trichogramma* مفید هستند اما اغلب آنها در جمعیت‌ها متغیر بوده و معیار خوبی برای تفکیک گونه‌ها نمی‌باشند، هر چند در مجموع به شناسائی گونه‌ها کمک می‌کنند. استفاده از نسبت بین اعضای مختلف بدن مانند نسبت طول تخم‌ریز به طول ساق پای عقبی که بطور معکوس با اندازه بدن ارتباط دارد، برای تشخیص معتبر نیستند، همچنین تعداد موهای شاخک، نسبت موهای حاشیه بال جلوئی به عرض بال و تعداد موهای حسی Basiconic در شاخک‌ها به اندازه بدن بستگی دارند و با توجه به نوع میزبان و محیط تغییر می‌کنند. خصوصیات بیوشیمیائی بسیار کمتر از خصوصیات مرفولوژیک دچار تغییر می‌شوند و در سالهای اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند. عمدتاً آنزیم‌های استراز، مالات دهیدروژناز و سوپراکسایددیسموتاز در مطالعه آنزیمی تریکوگراما بکار رفته‌اند اما فقط آنزیم استراز ارزش تفکیک گونه‌ها را دارد و آنزیم‌های دیگر بیشتر برای مطالعه جمعیت‌ها استفاده می‌شوند. همچنین آنزیم‌های کاتالاز، فسفوگلوکوموتاز، اسید فسفاتاز و آلفا گلیسروفسفات‌دهیدروژناز نیز بکار برده شده‌اند.

در مطالعهٔ حاضر، از مشخصات دستگاه زادآوری و شاخک‌های نر و آنزیم استراز برای شناسائی گونه‌ها و مطالعه جمعیت‌ها استفاده شده‌است.

روش بررسی

زنبورهای تریکوگراما عمدتاً از طریق جمع‌آوری تخم‌های میزبان از روی محصولات مختلف در طبیعت بدست آمدند. تخم‌های جمع‌آوری شده داخل تیوب‌هائی با درپوش پنبه‌ای قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل می‌شدند. پس از خروج زنبورها از تخم میزبان، تخم پروانهٔ *Ephestia* و در صورت نبودن آن تخم پروانه *Sitotroga* در اختیار آنها قرار می‌گرفت و با درجه حرارت $۲۴^{\circ}C(\pm ۰/۵)$ و رطوبت نسبی حدود ۷۰ درصد با ۱۶ ساعت روشنائی و ۸ ساعت تاریکی در انکوباتور پرورش داده می‌شدند. علاوه‌براین از نمونه‌های ارسال شده توسط همکاران از نقاط مختلف کشور استفاده گردید.

ابتدا اسلاید میکروسکوپی از دستگاه زادآوری و شاخک نر و حشره کامل تهیه می‌گردید. جهت تهیه اسلاید، نمونه‌های زنده مستقیماً داخل الکل ۷۵ درصد ریخته شده و پس از آن به یک قطره مایع Faure یا Hoyer در روی لام منتقل شده و جداسازی دستگاه زادآوری و شاخک روی لام در زیر بینوکولر انجام گرفته و لامل روی آن قرار می‌گرفت. نمونه‌های خشک به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت در اسید استیک غلیظ قرار گرفته و پس از آن دستگاه زادآوری و شاخک‌ها جدا می‌شدند. از هر جمعیت

۱۰ اسلاید میکروسکوپی از حشره کامل نر و ماده و ۱۰ اسلاید میکروسکوپی از دستگاه زادآوری نر، شاخک نر و بال تهیه گردید. نمونه‌ها به کمک منابع و مقایسه با نمونه‌های تشخیص داده‌شده تا حد گونه یا گروه گونه تشخیص داده شدند. تشخیص‌ها بعداً با نتایج الکتروفورز تأیید و تکمیل گردید.

برای مطالعه آنزیمی از آنزیم استراز استفاده گردید. از دو روش به این منظور استفاده می‌شود، روش اوّل جدا کردن تخم‌ها بصورت انفرادی و استفاده از ۲۰ فرد حاصل از یک مادهٔ جفتگیری نکرده به منظور مطالعه فراوانی آلل‌ها و به دست‌آوردن فواصل ژنتیکی است که شرح کامل روش پس از تکمیل نتایج مطالعه فواصل ژنتیکی در مقاله‌ای جداگانه ارائه خواهد شد. روش دوم استفاده از ۲۰ فرد از میان جمعیت بطور تصادفی است که به منظور تشخیص گونه‌ها استفاده می‌شود و مطالعه جمعیت با این روش مقدور نیست. به این منظور از هر جمعیت پرورش داده‌شده تحت شرایط مذکور در بالا، ۲۰ فرد بطور تصادفی انتخاب شده و از این ۲۰ فرد یک هموژنیت تهیه می‌گردید. هموژنیزه‌کردن افراد داخل مایع Trudgill انجام می‌شد. برای ساختن مایع Trudgill مقدار ۰/۶۵۷ گرم تریس، ۰/۰۰۹ گرم اسید اسکوربیک و ۰/۰۰۷ گرم سیستئین مخلوط شده و حجم آن با آب مقطر به ۵۰ میلی لیتر می‌رسید. در هنگام استفاده ۸/۵ گرم ساکاروز به این محلول اضافه می‌شد. از این محلول مقداری با سرنگ درون لوله‌های میکروهماتوکریت که آنها را از وسط نصف کرده و یک طرف آن را روی شعله بسته‌شده بودند وارد می‌کنیم (بطوریکه طول محلول داخل لوله حدود یک سانتیمتر باشد) سپس درپوش پنبه‌ای لولهٔ حاوی زنبورها را روی یک سطح پلاستیکی سفید باز کرده و ۲۰ نمونه یا حشره زنده را به داخل لولهٔ میکروهماتوکریت هدایت نموده و با میلهٔ نازک نمونه‌ها را داخل مایع Trudgill هموژنیزه می‌کنیم،طوریکه رنگ محلول تیره شود (به جای لوله‌های میکروهماتوکریت می‌توان از لوله‌های اپندرف نیز استفاده کرد). تمام این عملیات باید روی حمام یخ انجام گیرد. این لوله‌های هموژنیزه‌شده را به مدت یک دقیقه در ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفوژ کرده و تا هنگام استفاده در دمای $-20^{\circ}C$ قرار می‌دهیم.

الکتروفورز روی ژل‌پلی‌آکریل‌آمید و به روش عمودی انجام گرفت و اندازه قاب‌ها ۱۶۰×۲۰۰ میلیمتر و ضخامت ژل یک میلیمتر بود. نمونه‌هاپس از خارج کردن از دمای $-20^{\circ}C$ به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفوژ شده و مقدار ۲۵ میکرولیتر از مایع روئی (Supernatant) در هر چاهک ژل قرار می‌گرفت. برای هر جمعیت ۲۰ نمونه آزمایش شد (جمعاً ۴۰۰ نمونه از هر جمعیت). الکتروفورز با ۱۵۰ ولت شروع شده و پس از نیم ساعت ولتاژ به ۴۵۰ رسانده می‌شد و به مدت ۷۵ دقیقه ادامه می‌یافت.

پس از پایان الکتروفورز ژل‌ها در محلول رنگ‌آمیزی ویژه استراز قرار داده می‌شد. برای تهیه محلول رنگ‌آمیزی از دو محلول زیر استفاده می‌کنیم: A – ۲۷/۸ گرم فسفات مونوسدیک در یک

لیتر آب مقطر، B – ۵۳/۶۵گرم فسفات دی‌سدیک H2O 7 یا ۷۱/۷گرم فسفات دی‌سدیک H2O 12 در یک لیتر آب. در هنگام استفاده این دو محلول را به نسبت زیر مخلوط می‌کنیم: محلول A: ۲۸ میلی‌لیتر، محلول B: ۷۲ میلی‌لیتر در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر. به این محلول ۱۲۰ میلی‌گرم Fast Blue BB، ۸۰ میلی‌گرم α-naphthylacetate، ۸۰ میلی‌گرم β-naphthylacetate و ۵۰ میلی‌گرم EDTA (Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid) اضافه میشود. ژل به مدت یکساعت در دمای ۳۷°C در تاریکی همراه با تکان ملایم رنگ‌آمیزی می‌شود. پس از رنگ‌آمیزی ژل‌ها با آب مقطر شسته شده و در اسید استیک ۷٪ نگهداری می‌شوند.

از مقایسه باندهای ایجادشده با نمونه‌های استاندارد، میزان حرکت استراز هر نمونه روی ژل بر حسب rf که فاصلهٔ پیموده‌شده روی ژل است مشخص می‌شود. rf برای نمونه‌های مختلف یک گونه ثابت است و همچنین تعداد باندهای ایجادشده ملاک تشخیص گونه‌هاست که با مقایسه آن با استانداردها و همچنین منابع موجود می‌توان گونهٔ زنبور را تشخیص داد.

نتیجه و بحث

در مجموع ۸گونه از جنس تریکوگراما تشخیص داده‌شد که کلید شناسائی آنها به صورت زیر است:

۱– DEG در دستگاه زادآوری نر دارای فرورفتگی در کناره‌ها (شکل ۱A) ۲

ـــ DEG در دستگاه زادآوری نر بدون فرورفتگی در کناره‌ها (شکل ۵C و ۶C) ۷

۲– برجستگی‌های کناره DEG (lateral lappets) برجسته و بزرگ (شکل ۴C)..... *T.dendrolimi*

ـــ برجستگی‌های کناره DEG متوسط (شکل ۳A، ۳C و ۶A)..... ۳

۳– بلندترین موی شاخک بیش از ۳ برابر عرض شاخک در ابتدای فلاژلوم (شکل ۳B، ۳D و ۶B) ۴

ـــ بلندترین موی شاخک کمتر از ۳ برابر عرض شاخک در ابتدای فلاژلوم (شکل ۴B و ۵B).... ۶

۴– انتهای DEG گرد و پهن، دستگاه زادآوری مطابق (شکل ۶A) ..... *T.tshumakovae*

ـــ انتهای DEG کشیده‌تر، دستگاه زادآوری مطابق (شکل ۳A و ۳C)..... ۵

۵–آنزیم استراز دارای لوکوس Est 5 (یک باند در rf مساوی ۰/۴۸)،(شکل ۷B)،.... *T.evanescens*

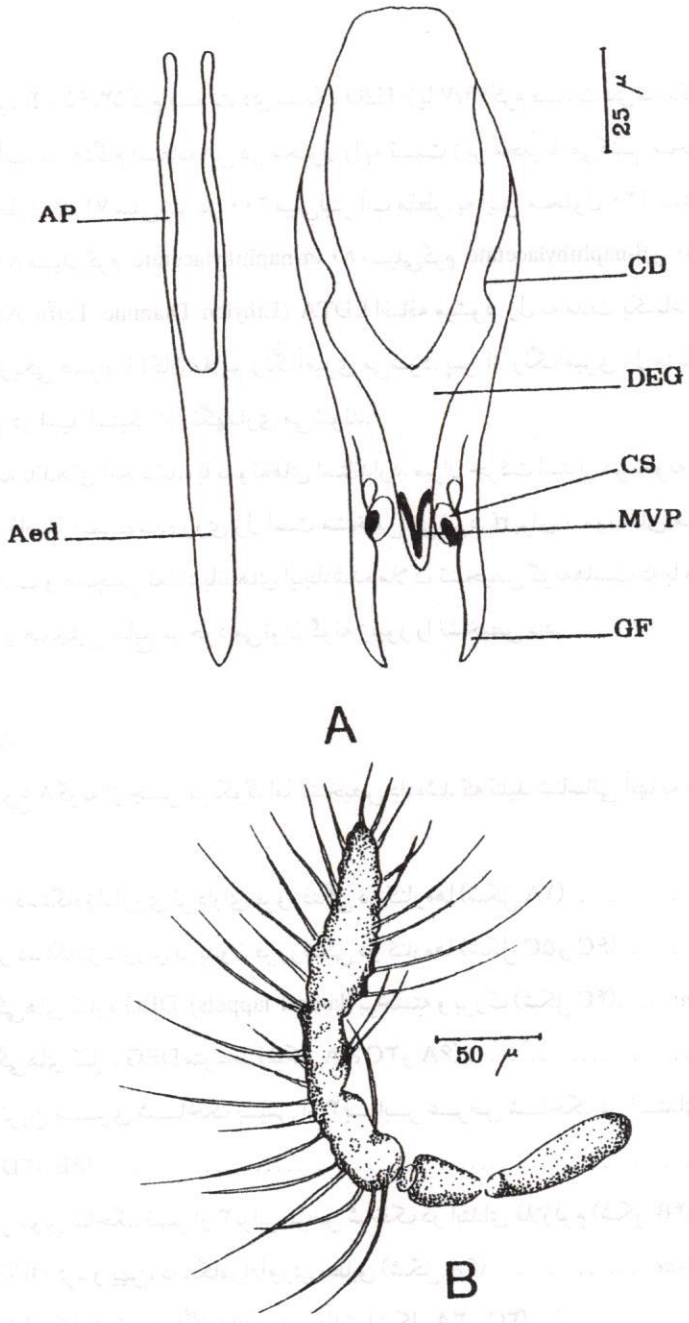
ـــ آنزیم استراز دارای لوکوس Est 5´ (دو باند در rf مساوی ۰/۵۰ و ۰/۵۳)،

شکل ۷A،..... *T.brassicae*

۶– رنگ بدن زرد، دستگاه زادآوری مطابق (شکل ۴A) ..... *T.embryophgum*

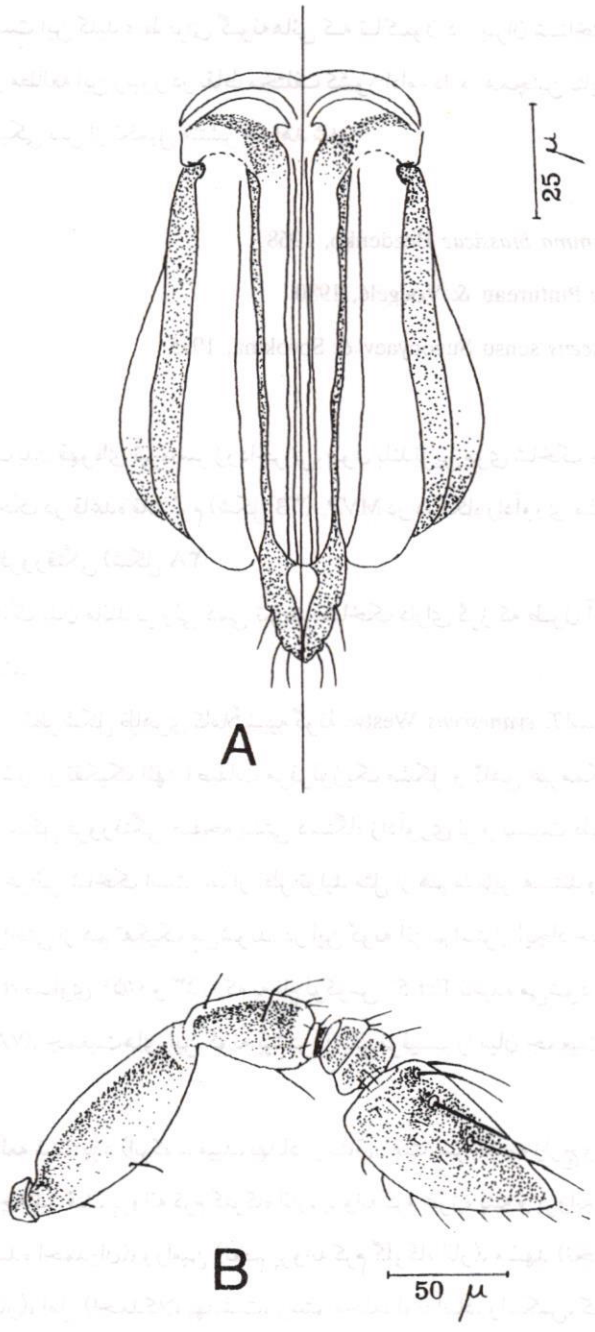
ـــ رنگ بدن قهوه‌ای مایل به سیاه، آلت زادآوری مطابق (شکل ۵A) ..... *T.semblidis*

۷– انتهای دستگاه زادآوری دارای برجستگی (شکل ۶C)..... *T.pintoi*



شکل ۱- دستگاه زادآوری نر (A) و شاخک نر (B) در جنس *Trichogramma* Westwood.

Fig. 1. A, Male genitalia and B- male antenna of *Trichogramma* Westwood. Aed: Aedeagus; Ap: Apodeme; CD: Constriction of DEG; CS: Chelate structure (Volsela); DEG: Dorsal Expansion of Gonobase; GF: Paramere; MVP: Median Ventral Projection



شکل ۲- تخمریز (A) و شاخک ماده (B) در جنس *Trichogramma* Westwood.

Fig. 2. Ovipositor (A) and female antenna (B) of *Trichogramma* Westwood

ـــ انتهای دستگاه زادآوری بدون برجستگی (شکل 5C)..... *T.principium*

بدیهی است این کلید فقط برای گونه‌هائی که تاکنون در ایران شناخته شده کاربرد دارد. جمع‌آوری و مطالعه این زنبور در نقاط مختلف کشور ادامه دارد. همچنین نتایج مقایسه جمعیت‌ها و فواصل ژنتیکی پس از تکمیل منتشر خواهد شد.

۱- *Trichogramma brassicae* Bezdenko, 1968

= *T. maidis* Pintureau & Voegelé, 1980

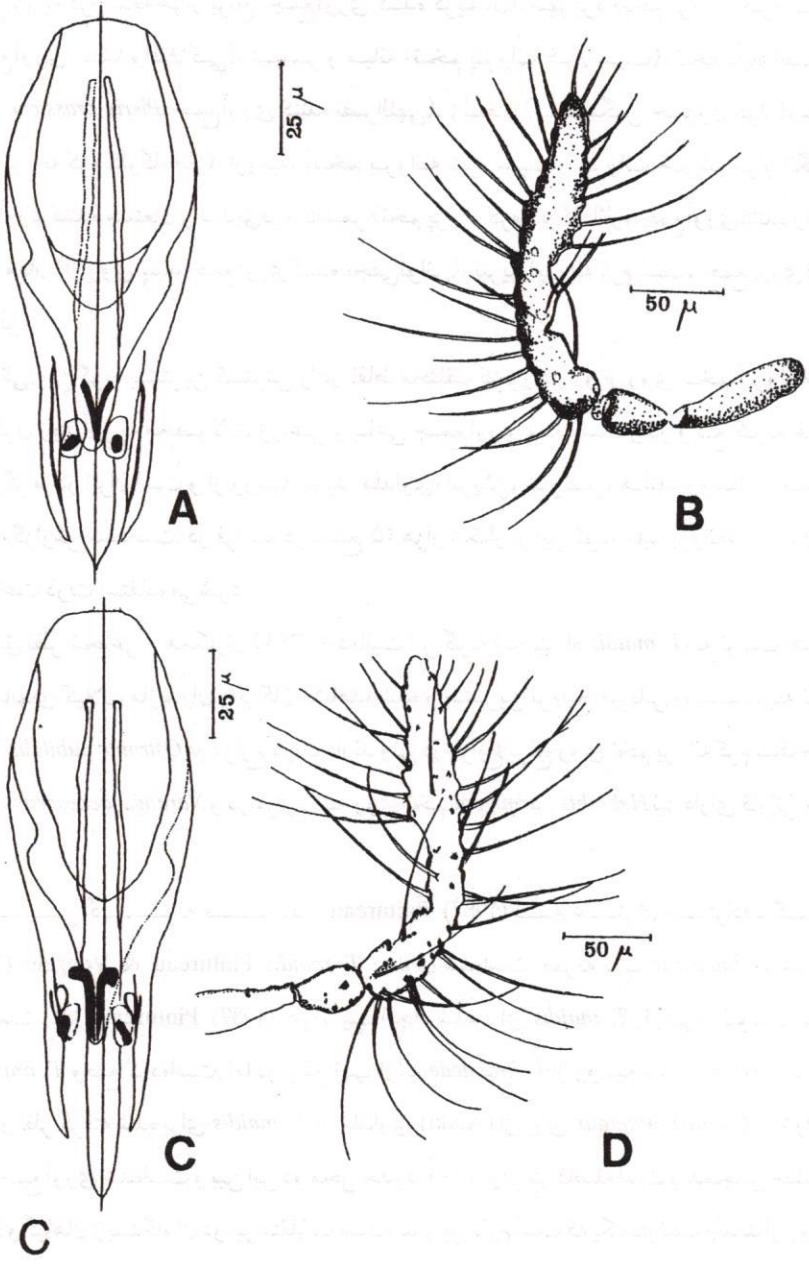
= *T. evanescens* sensu Sugonyaev & Sorokina, 1975

حشره نر: رنگ بدن قهوه‌ای تیره، سر زرداخرائی، طول بلندترین موی شاخک حدود ۳/۳ برابر بیشتر از عرض شاخک در قاعده فلاژلوم (شکل 3B)، MVP در دستگاه زادآوری مشخص، صفحه پشتی DEG دارای فرورفتگی (شکل 3A).

حشره ماده: رنگ بدن مانند نر ولی کمی تیره‌تر، شاخک دارای گرز که طول آن حدود ۲/۶ برابر عرض آن است.

این گونه از نظر شکل ظاهری کاملاً شبیه گونهٔ *T. evanescens* Westw. است و گونهٔ Sibling آن محسوب می‌شود و تفکیک آنها با صفات مرفولوژیک مشکل و گاهی غیرممکن است. تفاوت آنها عمدتاً از نظر شکل فرورفتگی صفحه پشتی دستگاه زادآوری نر و نسبت طول بلندترین موی شاخک نر به عرض شاخک است، اما از نظر تولید مثل از هم متمایز هستند و همچنین با مطالعه آنزیماتیک براحتی از هم تفکیک می‌شوند. در این گونه آنزیم استراز ایجاد حداقل ۴ باند روی ژل می‌کند که در rf مساوی ۰/۵۱ و ۰/۵۳ که به نام لوکوس ´Est 5 نامیده می‌شود همواره ۲ باند وجود دارد (شکل 7A). جمعیت‌های این گونه بیشترین پلی‌مرفیسم را میان جمعیت‌های مورد مطالعه نشان دادند.

نمونه‌های مطالعه شده: یزد (ابرکوه، میبد، بهاباد، رستاق، تفت، سرچشمه زارچ و اشکذر از روی تخم پروانه لیتای چغندر قند، پروانه کرم گلوگاه انار، پروانه کرم غوزه پنبه و پروانه برگخوار مرکبات، جمع‌آوری‌کننده احمدیان)، ورامین (تخم پروانه کرم گلوگاه انار)، مشهد (تخم پروانه کرم سیب و کرم گلوگاه انار)، آمل (احمدکلا، بهدشت، رستم محله، لوله‌آباد، واسکس، کبودکلا، اجوارکلا، عالی‌زمین، از روی تخم پروانه کرم ساقه‌خوار برنج و *Ostrinia*، جمع‌آوری‌کننده نجفی نوائی)، ساری، دشت‌ناز (از روی تخم *Ostrinia*، ذرت)، بابل، آهنگرکلا (از روی تخم کرم ساقه‌خوار برنج، چالوس، تنکابن و رامسر (تخم پروانه کرم ساقه‌خوار برنج)، گرگان (تخم پروانه کرم غوزه پنبه)، آبیک (تخم پروانه کرم سیب)، قائم‌شهر (تخم پروانه کرم ساقه‌خوار برنج)، رشت و صومعه‌سرا



شکل ۳- دستگاه زادآوری و شاخک نر. A و B: *T. brassicae* Bezd.؛ C و D: *T. evanescens* Westw.

Fig. 3. Male genitalia and male antenna. A and B: *T. brassicae* Bezd., C and D: *T. evanescens* Westw.

(تخم پروانه کرم ساقه‌خوار برنج، جمع‌آوری کننده کریمیان)، شهرکرد (تخم پروانه کرم سیب، جمع‌آوری کننده افلاکی)، شبستر و میانه (تخم پروانه کرم سیب)، نجف‌آباد اصفهان (تخم *Pieris brassicae*، جمع‌آوری کننده نصراللهی)، زنجان (تخم مگس حلزون‌خوار)، ساوه (تخم پروانه کرم گلوگاه انار)، ارومیه، (تخم پروانه کرم سیب و پروانه خوشه‌خوار انگور، جمع‌آوری‌کننده مستعان و صدیق‌فر)، کاشمر (تخم پروانه کرم گلوگاه انار، جمع‌آوری‌کننده زارع)، دشت مغان (از روی پنبه، جمع‌آوری‌کننده نجفی‌نوائی)، تبریز (پروانه کرم سیب، جمع‌آوری‌کننده جعفرلو).

پراکندگی: این گونه بیشترین گسترش را در نقاط مختلف کشور دارد و از روی تخم پروانه‌های گوناگون زیان‌آور به محصولات زراعی و باغی جمع‌آوری شده‌است و در واقع گونه غالب تریکوگراما در ایران است و از روسیه سفید، ملداوی، اتریش، سوئیس، هلند، رومانی، ایتالیا و فرانسه گزارش شده‌است. در فرانسه در سطح ۲۵ هزار هکتار از این گونه علیه پروانه‌های زیان‌آور در زراعت ذرت استفاده می‌شود.

طبق نظر شجاعی و همکاران (۱۳۶۹)، فعالیت این گونه (تحت نام *T. maidis*) به ترتیب اهمیت در استانهای گیلان، مازندران و گرگان مشاهده شده و بیشترین ترجیح میزبانی را نسبت به تخم پروانه *Ostrinia nubilalis* در مزارع ذرت دارند ولی در مزارع برنج روی تخم پروانه کرم ساقه‌خوار برنج و *Naranga aenescens* و در مزارع پنبه روی تخم *Heliothis armigera* نیز دارای کارائی مؤثر هستند.

این گونه توسط Pintureau (1987) به عنوان مترادف گونه *T. maidis* Pintureau & Voegelé (1980) عنوان شده‌است. نمونه تیپ *T. brassicae* شناخته نشده‌است، لذا Pintureau (1987) هولوتیپ ایجاد شده برای *T. maidis* را بعنوان نئوتیپ گونهٔ *T. brassicae* وضع کرده‌است. اما در واقع تیپ اولیه *T. brassicae* از روسیه سفید (Terehovka) و تیپ در نظر گرفته شده برای *T. maidis* از ملداوی (Ataki) از روی *Ostrinia nubilalis* در زراعت ذرت جمع‌آوری شده‌است و بین این دو محل حدود ۱۰۰۰ کیلومتر فاصله است و همچنین حشرات میزبان و گیاهان زیستگاه آن دو نیز متفاوت است، بنابراین لازم است که یک نئوتیپ جدید از روسیه سفید برای این گونه وضع شود.

باید توجه داشت که این گونه با *T. brassicae* Voegelé 1982 که اینک نام معتبر آن *T. buesi* Voegelé 1985 است تفاوت دارد.

۲- *Trichogramma evanescens* Westwood, 1833

= *T. rhenana* Voegelé & Russo, 1981

= *T. barathrae* Skriptshinskig, 1928

= *T. carpocapsae* Schreiner, 1907

= *T. latipennis* Haliday, 1833

= *T. latipennis* Curtis, 1829

= *T. vitripennis* Walker, 1851

حشره نر: رنگ بدن قهوه‌ای تیره، سر زرداخرائی، طول بلندترین موی شاخک حدود ۳/۱برابر بیشتر از عرض شاخک در قاعدهٔ فلاژلوم (شکل ۳D)، MVP در دستگاه زادآوری مشخص، صفحه پشتی (DEG) دارای فرورفتگی (شکل ۳C)،

حشره ماده: رنگ بدن مانند نر ولی کمی تیره‌تر، شاخک دارای گرز که طول آن حدود ۲/۴ برابر عرض آن است.

این گونه همانطور که ذکر شد از نظر ظاهری کاملاً شبیه گونه *T. brassicae* است و گونهٔ Sibling آن محسوب می‌شود ولی با مطالعه آنزیماتیک به راحتی از آن متمایز می‌شود، بطوریکه در این گونه آنزیم استراز در rf مساوی ۰/۴۸ که به نام لوکوس Est 5 نامیده می‌شود همواره یک باند تشکیل می‌دهد (شکل VB).

نمونه‌های مطالعه شده: تنکابن (ولکستان، دو هزار)، چالوس (مرزن‌آباد، دوآب، از روی تخم پروانه کرم ساقه‌خوار برنج، جمع‌آوری‌کننده اَلحسینی)، اصفهان (تخم پروانه کرم ساقه‌خوار برنج)، انزلی (تخم پروانه *Ostrinia* روی مستک، *Xanthium* sp.)، آبیک (تخم پروانه کرم سیب)، ساوه (تخم پروانه کرم گلوگاه انار)، آمل (کلوده، قاری‌کلا، رومین، جمع‌آوری‌کننده نجفی‌نوائی)، گرگان (تخم *Ostrinia, Heliothis*)، بابلسر، دریاکنار (تخم پروانه کرم ساقه‌خوار برنج)، زنوز (تخم پروانه کرم سیب)، ساری (تخم *Ostrinia nubilalis*)، مشهد (تخم پروانه کرم سیب و تخم پروانه کرم گلوگاه انار).

طبق نظر شجاعی و همکاران (۱۳۶۹) این گونه (تحت نام *T. rhenana*) در مناطق گرگان معمولاً در مزارع پنبه، سویا و گوجه‌فرنگی روی *Heliothis armigera* و *Plusia gamma* بیشترین تراکم را داشته‌است.

پراکندگی: این گونه از نقاط مختلف منطقه پالهآرکتیک گزارش شده و جهت کنترل بیولوژیک به ایالات متحده آمریکا وارد شده‌است.

در دنیا این گونه بعنوان پارازیتوئید تخم پروانه‌های *Agrotis segetum* (اروپا)، *Chilo* sp. (اروپا)، *Cydia pomonella* (اروپا)، *Heliothis assulta* (ژاپن)، *Hyphantria cunea* (اروپا)،

Mamestra brassicae (لهستان و ژاپن)، *Pieris brassicae* (اروپا)، *Plutella xylostella* (اروپا) و *Sesamia betae* (مصر) گزارش شده‌است. همچنین گزارشی از پارازیته کردن تخم مگس‌های *Pegomya betae* (اروپا) و *Syrphus* sp. (اروپا) وجود دارد (Nagarakatti & Nagaraja, 1971).

این گونه در سال ۱۸۳۳ توسط Westwood بعنوان گونهٔ تیپ جنس تریکوگراما معرفی گردیده و پس از آن توصیف‌های بسیار از آن انجام شده‌است. به علت اینکه نمونه هولوتیپ که از چلسی در نزدیک لندن جمع‌آوری شده و در دانشگاه آکسفورد نگهداری می‌شود در وضعیت نامطلوبی است و بویژه هولوتیپ مورد بحث ماده می‌باشد که ارزش کمی در تفکیک گونه‌های این جنس دارد، اختلاف نظرهای بسیار در توصیف‌های بعدی پیش آمده‌است. Pintureau & Voegelé (1980) تیپ اصلی راگم شده فرض کرده و یک نئوتیپ برای این گونه وضع کردند، اما با توجه به اینکه تیپ اصلی وجود دارد این نئوتیپ غیر معتبر است.

۳- *Trichogramma embryophagum* (Hartig, 1838)

= *T. bezdenkovii* Bezdenko, 1968

حشره نر: رنگ بدن زرد مایل به قهوه‌ای، طول بلندترین موی شاخک حدود ۲ برابر عرض شاخک در قاعدهٔ فلاژلوم (شکل ۴B)، صفحه پشتی در دستگاه زادآوری (DEG) دارای فرورفتگی متوسط، انتهای DEG به نوک CS نمی‌رسد (شکل ۴A)،

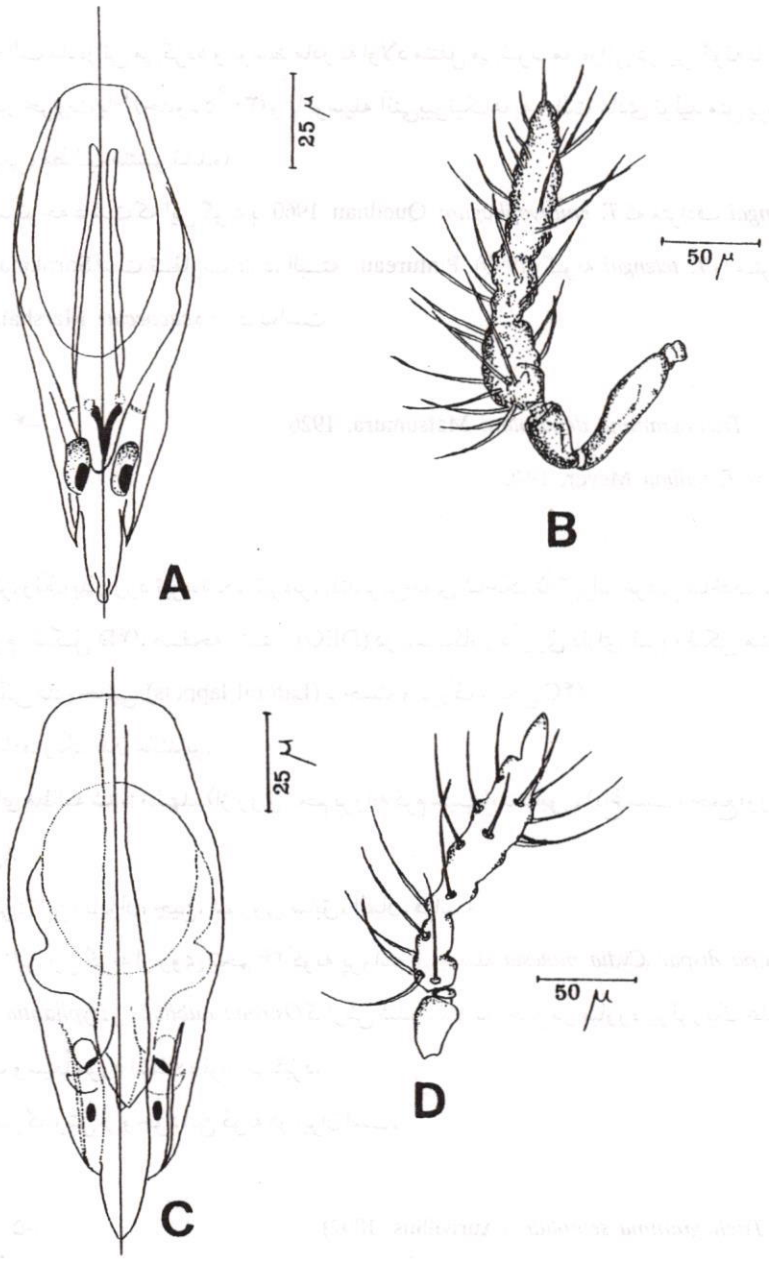
حشره ماده: رنگ بدن زرد، حلقه‌های آخر شکم و شاخک‌ها کمی تیره‌تر.

در این گونه آنزیم استراز ۴ یا ۵ باند روی ژل ایجاد می‌کند (شکل VC). این اولین تجزیه آنزیمی این گونه است و rf باندهای ایجاد در آزمایشگاه بیولوژی کاربردی انستیتوی ملی علوم کاربردی فرانسه ثبت شده و برای دیگر مطالعات به عنوان rf استاندارد مورد استفاده قرار می‌گیرد. در بسیاری موارد با توجه به حالت ماده‌زائی در این گونه و نادر بودن نرها، استفاده از الکتروفورز تنها راه تشخیص مطمئن گونه است.

نمونه‌های مطالعه شده: ارومیه و نقده، (تخم پروانه کرم سیب، جمع‌آوری‌کننده مستعان و حسینی)، تبریز و زنوز (تخم پروانه کرم سیب)، آمل (تخم پروانه کرم ساقه‌خوار برنج).

پراکندگی: نقاط مختلف اروپا و آسیا.

جمعیت‌های مطالعه شده از این گونه (۳ جمعیت از ارومیه) دارای ماده‌زائی (thelytoky) هستند و ماده جفتگیری نکرده قادر به تولید اولاد ماده می‌باشد. با آزمایش PCR و استفاده از پرایمرهای مربوطه مشخص شد که در جمعیتی از ارومیه این ماده‌زائی در اثر فعالیت گونه‌ای ریکتزیا به نام *Wolbachia trichogrammae* Louis & Pintureau می‌باشد که با فعالیت در تخمدان ماده سبب



شکـــل ۴- دســـتگاه زادآوری و شـاخک نـر. A و B: (Hart.) *T. embryoaphagum*؛ C و D: *T. dendrolimi* Mats.

Fig. 4. Male genitalia and male antenna. A and B: *T. embryophagum* Hart., C and D: *T. dendrolimi* Mats.

بروز حالت ماده‌زائی می‌گردد و توسط مادر به اولاد منتقل می‌شود. ماده‌زائی در این گونه با پرورش زنبور در حرارت بالا (حدود c ° ۳۰) و یا بوسیله آنتی‌بیوتیک‌ها به حالت عادی تولید مثل برمی‌گردد (ابراهیمی، مطالب منتشر نشده).

باید توجه داشت که این گونه با *T. embryophagum* Quednau 1960 که مترادف *T. telengai* Sorokina 1987 است تفاوت دارد، البته Pintureau (1990) گونه *T. telengai* را مترادف *T. cacoeciae* Marshal, 1927 ذکر کرده‌است.

۴- *Trichogramma dendrolimi* Matsumura, 1926

= *T. pallida* Meyer, 1940

حشره نر: رنگ بدن زرد تیره، شکم تیره‌تر، بلندترین موی شاخک ۲/۵ برابر عرض شاخک در قاعدهٔ فلاژلوم (شکل ۴D)، صفحه پشتی (DEG) در دستگاه زادآوری دارای فرورفتگی مشخص، برجستگی‌های جانبی (Lateral lappets) برجسته و بزرگ (شکل ۴C).

حشره ماده: رنگ بدن مانند نر.

نمونه‌های مطالعه شده: مشهد، (از روی تخم پروانه کرم سیب)، نیشابور، (باغ سیب، جمع‌آوری‌کننده کاهانی).

پراکندگی: ژاپن، تایوان، چین، شوروی سابق، آلمان، فرانسه.

در ژاپن این گونه از روی تخم ۲۶ گونه پروانه از جمله *Cydia molesta*، *Lymantria dispar*، *Hyphantia cunea* و *Ostrinia nubilalis* گزارش شده‌است. در چین در مبارزه بیولوژیک علیه آفات مختلف وسیعاً مورد استفاده قرار می‌گیرد.

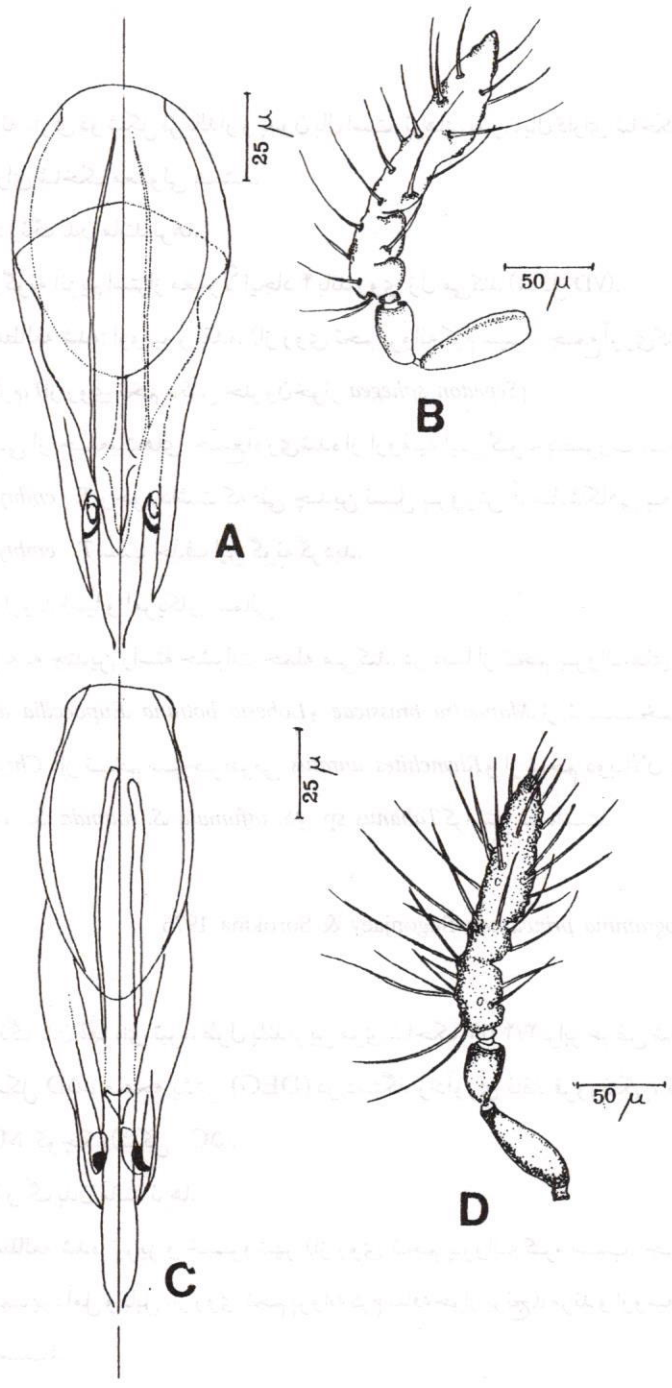
این اولین گزارش از وجود این گونه در ایران است.

۵- *Trichogramma semblidis* (Aurivillius, 1897)

= *T. schuberti* Voegelé & Russo, 1981

= *Oophthora semblidis* Aurivillius, 1897

حشره نر: رنگ بدن قهوه‌ای تیره، طول بلندترین موی شاخک حدود ۲ برابر عرض شاخک در قاعدهٔ فلاژلوم (شکل ۵B)، صفحه پشتی (DEG) در دستگاه زادآوری مشخص و دارای فرورفتگی‌های متوسط، MVP مشخص و پائین‌تر از سطح CS قرار دارد، Aedeagus کمی بلندتر از طول آپودم‌ها، انتهای DEG جلوتر از سطح CS (شکل ۵A).



شکل ۵- دستگاه زادآوری و شاخک نر. A و B: *T. semblidis* (Auriv.)؛ C و D: *T. principium* Sug. & Sorok.

Fig. 5. Male genitalia and male antenna. A and B: *T. semblidis* Auriv., C and D: *T. principium* Sug. & Sorok.

این گونه دارای دو شکل نر بالدار و بدون بال است. نرهای بدون بال دارای شاخک Gynecoid و بالدارها دارای شاخک معمولی هستند.

حشره ماده: رنگ بدن مانند نرها.

در این گونه آنزیم استراز معمولاً ایجاد ۴ باند روی ژل می‌کند (شکل VD).

نمونه‌های مطالعه شده: ارومیه و نقده، (از روی تخم پروانه کرم سیب، جمع‌آوری‌کننده مستعان)؛ رشت و طارم، (از روی تخم مگس حلزون‌خوار *Sepedon sphegea*).

در یکی از جمعیت‌های جمع‌آوری‌شده از ارومیه این گونه بصورت مخلوط با گونه *T. embryophagum* وجود داشت که طی چندین نسل پرورش آزمایشگاهی به تدریج گونه *T. embryophagum* سبب حذف این گونه گردید.

پراکندگی: اروپا، آسیا و آمریکای شمالی.

این گونه به چندین راستهٔ حشرات حمله می‌کند. در دنیا از تخم پروانه‌های *Pieris rapae*، *Eupoecilia ambiguella*، *Lobesia botrana* و *Mamestra brassicae* از تخم بالتوری *Chrysopa* sp.، از تخم سرخرطومی *Rhynchites auratus* و از تخم دوبالان *Sialis lutaria*، *S. californica*، *S. rotunda*، *S. infumata* و *Tabanus* sp. گزارش شده‌است.

۶- *Trichogramma principium* Sugonjaev & Sorokina 1976

حشره نر: رنگ بدن قهوه‌ای تیره، طول بلندترین موی شاخک ۳ تا ۳/۴ برابر عرض شاخک درقاعدهٔ فلاژلوم (شکل 5D)، صفحه پشتی (DEG) در دستگاه زادآوری فاقد فرورفتگی، کشیده و مثلثی شکل، MVP کوچک (شکل 5C).

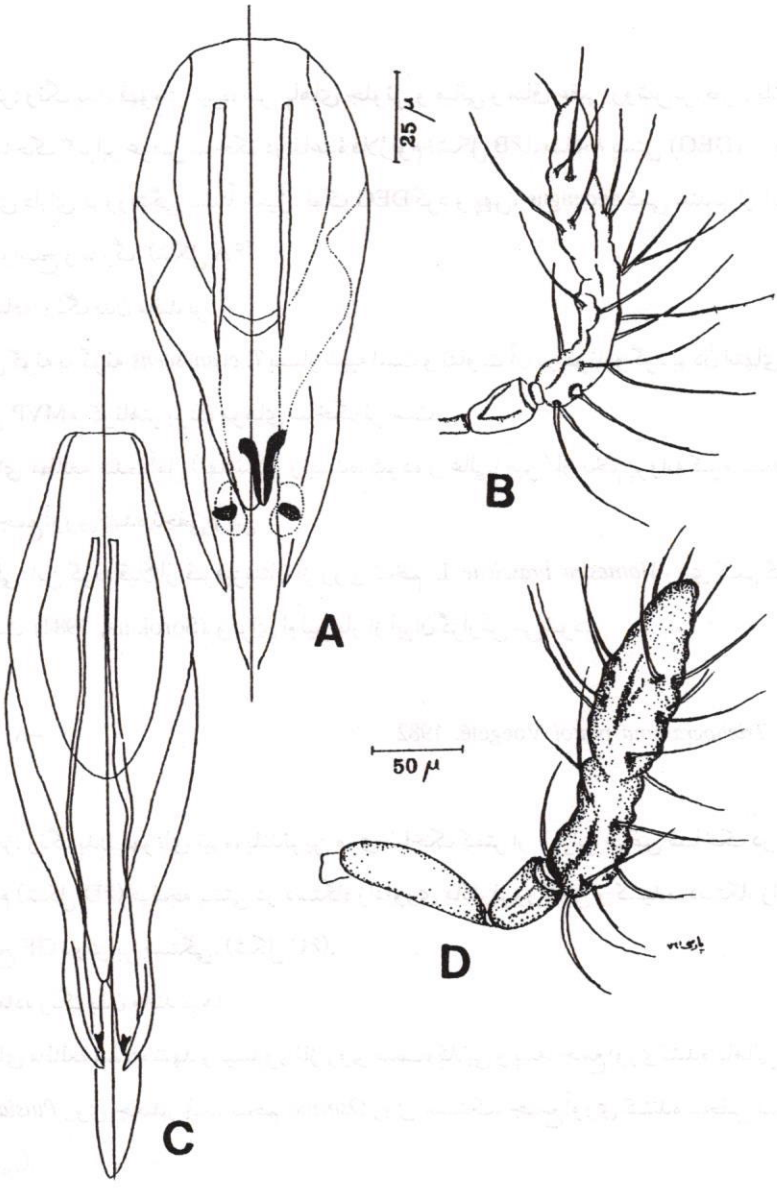
حشره ماده: رنگ بدن مانند نرها.

نمونه‌های مطالعه شده: تبریز و خسروشهر (از روی تخم پروانه کرم سیب، جمع‌آوری‌کننده جعفرلو)، بهشهر، آمل و بابل (از روی تخم پروانه‌کرم ساقه‌خوار برنج)، مرند و ارومیه (از روی تخم پروانه کرم سیب).

پراکندگی: اروپا و آسیا، ترکستان و سوریه.

در دنیا از روی تخم پروانه کارادرینا *(Spodoptera exigua)* گزارش شده‌است.

این گونه برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.



شکـــل ۶- دســـتگاه زادآوری و شـــاخک نـــر. A و B: *T. tshumakovae* Sorok.؛ C و D: *T. pintoi* Voegelé.

Fig. 6. A- Male genitalia and male antenna. A and B: *T. tshumakovae* Sorok., C and D: *T. pintoi* Voegelé

Trichogramma tshumakovae Sorokina 1984 -۷

حشره نر: رنگ بدن قهوه‌ای تیره، سر، پاهای جلوئی و میانی و ساق عقبی روشن‌تر، طول بلندترین موی شاخک ۳ برابر عرض شاخک در قاعدهٔ فلاژلوم (شکل ۶B)، صفحه پشتی (DEG) در دستگاه زادآوری دارای فرورفتگی نسبتاً عمیق، نوک DEG گرد و پهن، aedeagus کمی بلندتر از آپودم‌ها، MVP واضح و بزرگ، (شکل ۶A).

حشره ماده: رنگ بدن مانند نر.

این گونه به گونه *T. evanescens* بسیار شبیه است و تفاوت آن در کوتاه و گرد بودن انتهای DEG و شکل MVP و کوتاهتر بودن موهای شاخک نر است.

نمونه‌های مطالعه شده: آمل (بهدشت، ولیسده، کلوده و عالی‌زمین) از تخم پروانه کرم ساقه‌خوار برنج، جمع‌آوری‌کننده نجفی‌نوائی.

پراکندگی: این گونه قبلاً از قرقیزستان از روی تخم *Mamestra brassicae* L. روی کلم گزارش شده‌است (Sorokina, 1984). و برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.

Trichogramma pintoi Voegelé, 1982 -۸

حشره نر: رنگ بدن قهوه‌ای تیره، بلندترین موی شاخک کمتر از ۲ برابر عرض شاخک در قاعده فلاژلوم (شکل ۶D) صفحه پشتی در دستگاه زادآوری فاقد فرورفتگی و کشیده، دستگاه زادآوری در سطح GF دارای برجستگی، (شکل ۶C).

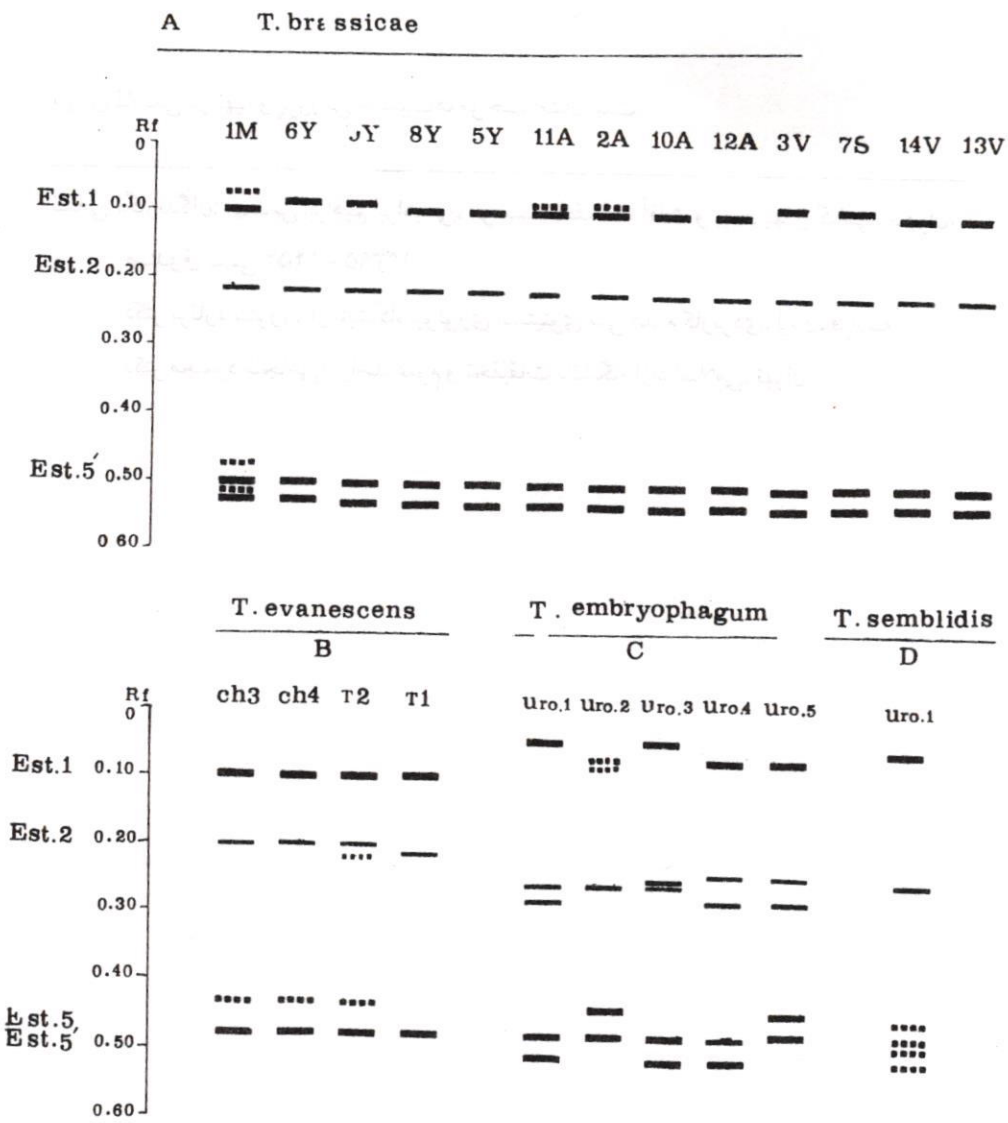
حشره ماده رنگ بدن مانند نرها.

نمونه‌های مطالعه شده: مشهد و نیشابور (از روی سیب، گلابی و پنبه، جمع‌آوری‌کننده کاهانی)، مغان (تخم *Plusia* روی چغندر قند، تخم *Ostrinia* روی مستک، جمع‌آوری کننده نجفی نوائی و ابراهیمی).

پراکندگی: اروپا، آسیا، شوروی سابق، هند، شمال آفریقا. شجاعی و همکاران (۱۳۶۹) این گونه را از گرگان و گنبد گزارش کرده‌اند.

سپاسگزاری

از راهنمائی‌های آقایان دکتر محمود شجاعی، دکتر کریم کمالی و دکتر هوشنگ بیات‌اسدی قدردانی می‌گردد. از سرکار خانم فرزانه پارسی که ترسیم اشکال را انجام داده‌اند و سرکار خانم نیره نظری و آقای وازریک نظری که در تهیه پرپاراسیون‌ها همکاری داشته‌اند تشکر می‌شود. همکاری آقای



شکل ۷- باندهای آنزیم استراز در جمعیت‌های مختلف جنس *Trichogramma*. باندهائی که با خطوط غیرپیوسته نشان داده شده در همهٔ افراد یک جمعیت وجود نداشته‌اند (موارد پلی‌مرفیسم).

Fig. 7. Esterase bands for different strains of *Trichogramma*. The bands represented by a discontinuous line are not present in all individuals of a strain (polymorphism cases). 1M: Mashhad; 6Y: Yazd-Bahabad; 9Y: Yazd; 8Y: Abarkuh (on *Lita*); 5Y: Abarkuh (on *Spectrobates*); 11A, 2A, 10A and 12A: Amol; 3V: Varamin; 7S: Saveh; 14V: and 13V: Orumieh; Ch3 and Ch4: Chalus, T2 and T1:Tonekabon; Uro1, Uro2, Uro3, Uro4 and Uro5: Orumieh. In T. embryophagum, probably a duplication has occurred at locus Est2.

مهدی قاسمی در تهیه و پرورش جمعیت‌ها موجب امتنان است.

نشانی نگارندگان: مهندس ابراهیم ابراهیمی، موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، تهران، صندوق پستی ۱۴۵۴ - ۱۹۳۹۵

دکتر برنارد پنتورو، آزمایشگاه بیولوژی انستیتوی ملی علوم کاربردی، لیون، فرانسه

دکتر محمود شجاعی- واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران