تحقیقات آفات گیاهی
۱۴۰۳ -۱۴(۱): ۶۱ -۷۲

Open access
doi: 10.22124/iprj.2024.27090.1568
pISSN:2322-2409
eISSN: 2538-6123

علمی پژوهشی

تاثیر ذخیره‌سازی در سرما بر ویژگی‌های زیستی و مرفولوژیکی زنبور پارازیتوئید *Aenasius bambawalei* (Hym.: Encyrtidae)

نوشین زندی سوهانی[1]* و ابراهیم تامولی طرفی [2]

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران، ۲-گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

1. 0000-0001-6826-9100; 2. 0009-0003-6117-8195

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۸)

چکیده

نگهداری در سرما یک روش مفید برای افزایش دوره زنده‌مانی زنبورهای پارازیتوئید محسوب می‌شود، هرچند ممکن است بر توانایی زنده‌مانی و تخمریزی موفق آنها تاثیر منفی داشته باشد. در این مطالعه تاثیر نگهداری مراحل زیستی لارو و شفیره زنبور پارازیتوئید *Aenasius bambawalei* در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت دو و چهار هفته بر طول دوره رشدی، نرخ ظهور و طول عمر افراد بالغ، نسبت جنسی و مشخصات مرفومتریک آنها مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین میزان ظهور حشرات بالغ (۷۲٪) در شفیره‌هایی که به مدت دو هفته در سرما نگهداری شدند مشاهده شد. در ماده‌ها کوتاهترین (۸/۴ روز) و طولانی‌ترین (۱۱/۴ روز) طول دوره رشدی پس از نگهداری در سرما، به‌ترتیب در شفیره و لاروهای سن‌آخرکه به‌مدت دو هفته درسرما نگهداری شده بودند، مشاهده شد. این روند در نرها نیز مشابه بود و شفیره‌ها و لاروهایی که به مدت دو هفته معرض سرما نگهداری شده بودند، به‌ترتیب کوتاهترین (۱۰ روز) و طولانی‌ترین (۱۱/۸ روز) طول دوره رشدی را نشان دادند. نسبت جنسی و طول عمر افراد بالغ با افزایش طول دوره سرمانگهداری مراحل نابالغ به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین طول ساق پای عقب و طول شاخک در مقایسه با تیمار شاهد کاهش نشان داد. براساس این نتایج، سرمانگهداری شفیره‌ها به مدت دو هفته برای افزایش زنده‌مانی حشرات بالغ توصیه می‌شود؛ زیرا نگهداری طولانی‌مدت شفیره‌ها و همچنین نگهداری مرحله لاروی زنبور پارازیتوئید *A. bambawalei* در سرما بر شایستگی‌های حشرات بالغ تاثیر منفی دارد.

واژه‌های کلیدی: زنده‌مانی، شپشک آردآلود پنبه، کنترل بیولوژیک، مرفومتریک، نسبت جنسی

*نویسنده مسئول: nzandisohani@yahoo.com, zandi@asnrukh.ac.ir

CC BY

مقدمه

تولید انبوه حشرات مفید همواره به عنوان یک راهکار ضروری برای برنامه‌های کنترل بیولوژیک مد نظر بوده است (van Lenteren & Tommasini, 1999). یکی از موانع کاربرد موفقیت‌آمیز تولید و رهاسازی انبوه حشرات مفید، مشکلات پرورش و هزینه‌های بالای تولید تعداد زیاد آنها در زمان مناسب است. برخلاف آفت‌کش‌ها، حشرات مفید به‌طور معمول دوره نگهداری به‌نسبت کوتاهی دارند و بنابراین، باید در مدت زمان کوتاهی قبل از کاربرد تولید شوند (Colinet & Boivin, 2011). اگر تعداد دشمنان طبیعی تولید شده در آزمایشگاه با تعداد مورد نیاز از آنها در مزرعه هماهنگ و همزمان نباشد، یا باعث هدر رفتن دشمنان طبیعی می‌شود و یا تعداد کافی برای رهاسازی در مزرعه در زمان مناسب در دسترس نخواهد بود (Colinet & Boivin, 2011; Cagnotii *et al.*, 2018).

یکی از مشکلات در تولید انبوه پارازیتوئیدها مدت زمان کوتاه نگهداری آنهاست. روش‌های مناسب ذخیره‌سازی دشمنان طبیعی که باعث افزایش زنده‌مانی آنها شود، یک ابزار ارزشمند برای کاهش هزینه‌های تولید، افزایش کارایی مصرف، در دسترس بودن تعداد کافی از دشمنان طبیعی در طول سال و همچنین تسهیل جابجایی آنها در مسافت‌های طولانی خواهد بود (Colinet & Boivin 2011; Cagnotti *et al.*, 2018). ذخیره‌سازی در دماهای پایین به عنوان یک روش مفید برای افزایش مدت زمان زنده نگهداری دشمنان طبیعی به اثبات رسیده است. همچنین این روش امکان دسترسی به یک منبع ثابت و تعداد کافی از دشمنان طبیعی برای استفاده در برنامه‌های کنترل بیولوژیکی و در زمان‌های حساس طغیان آفات را فراهم می‌کند (McDonald & Kok, 1990; Venkatesan *et al.*, 2000). نگهداری حشرات در دماهای پایین نه تنها برای پرورش تجاری حشرات مفید استفاده می‌شود، بلکه برای نگهداری کلنی‌های حشرات مفید در شرایط آزمایشگاهی به منظور انجام پژوهش نیز کاربردی می‌باشد. علاوه بر موارد بیان‌شده، پیشرفت تکنولوژی سرمانگهداری می‌تواند برای پرورش حشرات به عنوان غذای حیوانات خانگی، طعمه برای ماهی‌ها و حفظ گونه‌های در معرض خطر انقراض مورد بهره برداری قرار گیرد (Leopold, 2007).

زنبورهای پارازیتوئید جنس *Aenasius* از خانواده Encyrtidae مهم‌ترین پارازیتوئیدهای فعال روی شپشک-های آردآلود در دنیا می‌باشند. زنبور پارازیتوئید *Aenasius bambawalei* Hayat یک پارازیتوئید داخلی انفرادی بوده که در گروه زنبورهای پارازیتوئید Koinbiont و Proovigeny قرار می‌گیرد (Hayat, 2009). بیشترین بررسی‌های صورت‌گرفته روی این پارازیتوئید به دلیل طغیان شپشک آردآلود پنبه *Phenacoccus solenopsis* روی محصول مهم پنبه در هند و پاکستان صورت گرفته است. شپشک آردآلود پنبه بومی آمریکا بوده و در ایران اولین بار از استان هرمزگان گزارش شده است (Moghadam & Bagheri, 2010). این شپشک تاکنون روی ۱۸۲ گونه میزبان گیاهی در کشور گزارش شده است (Mossadegh *et al.*, 2015). میزبان مرجح شپشک آردآلود پنبه، درختچه زینتی ختمی چینی است که خسارت غیرقابل جبرانی توسط این حشره در ایران و استان خوزستان به آن گیاه وارد می‌شود (Mossadegh *et al.*, 2015).

پژوهش‌های مربوط به ذخیره‌سازی پارازیتوئیدها در سرما به منظور استفاده در برنامه های کنترل بیولوژیک حدود ۹۰ سال پیش آغاز شده است (King, 1934; Schread & Garman 1934; Hanna, 1935). به منظور افزایش طول دوره نگهداری پارازیتوئیدها، دماهای بین صفر تا ۱۵ درجه سلسیوس مورد استفاده قرار گرفته است. حتی در این دماهای به‌نسبت پایین نیز بیشتر گونه‌ها سطحی از مرگ و میر را نشان می‌دهند (van Lenteren & Tommasini, 2003; Leopold *et al.*, 2007). در بیشتر پژوهش‌های انجام‌شده تاثیر منفی ذخیره‌سازی در سرما بر کیفیت و شایستگی پارازیتوئیدها به اثبات رسیده است. این اثرات منفی ممکن است شامل کاهش نرخ ظهور پارازیتوئیدهای بالغ، طول عمر، باروری، نسبت جنسی و توانایی پرواز و تغییر خصوصیات مرفولوژیکی آنها به میزان مختلف و بسته به گونه پارازیتوئید باشد. همچنین گاهی این تاثیرات منفی ممکن است به نسل بعد نیز منتقل شود (Colinet & Boivin, 2011; Zhang

et al., 2020). تحمل به دماهای پایین و مدت زمان ذخیره-سازی در بین گونه‌های مختلف یک جنس از پارازیتوئیدها و حتی در گونه‌های خیلی نزدیک به هم بسیار متفاوت است (Colinet & Boivin, 2011). بررسی‌های انجام‌شده نشان می‌دهد که ذخیره‌سازی طولانی‌مدت گونه‌های زنبور پارازیتوئید جنس *Trichogramma* به‌ویژه با استفاده از سرما معمول و متداول است (Wang & Smith, 1996; Garcia *et al.*, 2002; Ayvaz *et al.*, 2008). همچنین طول دوره ذخیره‌سازی در سرما تاثیر قابل توجهی بر کیفیت عوامل کنترل بیولوژیکی دارد (Denlinger & Lee, 2010). به عنوان مثال، نگهداری شفیره‌های زنبور پارازیتوئید *T. cacoeciae* Marchal, *T. evanescens* westwood و *T. brassicae* Bezdenco در مدت زمان‌های مختلف یک، دو، سه و چهار هفته در دمای ۴ درجه سلسیوس نشان داد که در دوره‌های طولانی‌تر نرخ ظهور حشرات بالغ کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد (Ozder, 2004). در آزمایش‌های انجام‌شده روی زنبور پارازیتوئید *Telenomus remus* (Nixon)، نرخ ظهور و قابلیت پارازیتیسم حشرات بالغ با افزایش طول دوره و کاهش دمای ذخیره‌سازی کاهش پیدا کرد (Chen *et al.*, 2023).

مراحل زیستی مختلف زنبورهای پارازیتوئید شامل تخم، لارو یا شفیره ممکن است برای ذخیره‌سازی در سرما مورد استفاده قرار گیرند که این موضوع به گونه زنبور پارازیتوئید بستگی دارد. بنابراین، ضروری است که برای هر گونه پارازیتوئید به صورت جداگانه مقاوم‌ترین مرحله زیستی به سرما نگهداری مشخص شود. مدارک تجربی وجود دارد که نشان می‌دهد که شفیره‌ها نسبت به مراحل تخم و لارو مقاومت بیشتری نسبت به سرما دارند. اگرچه در برخی موارد افراد بالغ به عنوان مقاوم‌ترین مرحله زیستی به سرما در مقایسه با مراحل نابالغ گزارش شده‌اند (Colinet & Boivin, 2011). در سال‌های گذشته، بررسی‌هایی در خصوص تاثیر ذخیره‌سازی شفیره‌های زنبور *A. bambawalei* در دماهای ۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سلسیوس بر مرگ‌ومیر حشرات بالغ و برخی از ویژگی-های زیستی این زنبور انجام شده است (Rathee & Ram, 2014; Rathee *et al*. 2015; Rathee & Ram, 2016). جمعیت‌های مختلف یک گونه با منشا جغرافیایی مختلف ممکن است تفاوت زیادی در تحمل به سرما داشته باشند (Colinet & Boivin, 2011). گونه‌ها و یا جمعیت‌های موجود در مناطق با آب و هوای سردسیری نسبت به آنها که در مناطق معتدل زندگی می‌کنند، سازگاری بیشتری با دماهای پایین دارند (Chen *et al.*, 1990; Gibert *et al.*, 2001). در این پژوهش تاثیر نگهداری لاروهای سن آخر و شفیرهای زنبور پارازیتوئید *A. bambawalei* در سرما در تیمارهای مختلف زمانی بر نرخ ظهور حشرات بالغ و برخی ویژگی‌های زیستی و مرفولوژیکی حشرات ظهوریافته مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه کلنی شپشک آردآلود پنبه

در این پژوهش، از شپشک آردآلود پنبه *P. solenopsis* به عنوان میزبان زنبور پارازیتوئید *A. bambawalei* استفاده شد. به منظور تشکیل کلنی شپشک آردآلود پنبه، تعدادی پوره و ماده‌های بالغ از روی درختچه‌های آلوده ختمی چینی محوطه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جمع‌آوری شد. این حشرات روی بوته‌های جوان ختمی چینی که در گلدان قرار داشتند، مستقر شدند. در ادامه این گلدان‌ها در آزمایشگاه و شرایط دمایی ۲۷±۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰±۵ درصد و دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (تاریکی: روشنایی) و در یک قفس که با توری ریز پوشانده شده بود، نگهداری شدند.

کلنی زنبور پارازیتوئید *Aenasius bambawalei*

به منظور تشکیل کلنی اولیه زنبور *A. bambawalei*، ابتدا شپشک‌های مومیایی‌شده از روی درختچه‌های ختمی چینی در سطح شهر ملاثانی جمع‌آوری و سپس به آزمایشگاه انتقال یافتند. شپشک‌های مومیایی به ظروف پلاستیکی درب-دار به ابعاد ۵×۸×۱۰ سانتی‌متر منتقل شدند. روی درب ظروف نگهداری زنبورها سوراخ‌هایی به منظور تهویه تعبیه شده بود که با توری مش ریز پوشانده شده بودند. زنبورهای کامل ظاهر شده، درون ظروف پلاستیکی بزرگ‌تر به ابعاد ۴۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر که حاوی پوره سن سوم و شپشک‌های

ماده بالغ آردآلود پنبه بود رهاسازی شدند. پرورش کلنی *A. bambawalei* در آزمایشگاه و شرایط دمای ۲±۲۷ درجه سیلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (تاریکی: روشنایی) صورت گرفت.

تاثیر سرما نگهداری بر ویژگی‌های زیستی زنبورها

دو مرحله رشدی زنبور شامل لاروهای سن آخر موجود در بدن شپشک‌های پارازیته‌شده و همچنین شفیره‌های موجود درون مومیایی‌های شپشک برای این آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. برای بررسی تاثیر سرما نگه‌داری بر ویژگی‌هایی نظیر نرخ ظهور، فاصله زمانی خروج از سرما تا ظهور حشرات بالغ، نسبت جنسی (نسبت ماده‌ها به تعداد کل حشرات) و طول عمر افراد بالغ، تعداد ۱۵۰ عدد شپشک پارازیته‌شده در هر یک از مراحل شفیرگی و لارو سن آخر زنبور برای انجام آزمایش‌ها در نظر گرفته شد. تشخیص لاروهای سن‌آخر و شفیره‌های زنبور پارازیتوئید از روی شکل ظاهری آنها انجام شد. لاروهای سن آخر در بدن شپشک‌های مومیایی شده به رنگ سفید و شفیرهها به رنگ تیره یا سیاه دیده می‌شوند. برای ایجاد گروه‌های همسن از لاروها و شفیره‌های پارازیتوئید برای استفاده در این آزمایش، تعداد ۲۰ عدد زنبور ماده بالغ جفت‌گیری‌کرده با سن کمتر از ۴۸ ساعت روی ۳۰۰ عدد پوره سن سوم شپشک روی برگ‌های ختمی چینی و درون ظرف پلاستیکی با اندازه ۳۰×۳۰×۴۰ سانتی‌متر معرفی شدند. بعد از مدت ۲۴ ساعت زنبورها به کمک اسپیراتور از درون ظرف جمع‌آوری شدند. برای انجام آزمایش‌ها در هر مرحله رشدی، ۱۵۰ عدد از حشرات پارازیته‌شده به سه گروه ۵۰ تایی تقسیم شدند تا در هر یک از دوره‌های سرمانگهداری (دو هفته، چهار هفته و شاهد) مورد استفاده قرار گیرند. پنج تکرار ۱۰ تایی برای هر یک از تیمارهای زمانی در نظر گرفته شد. برای جلوگیری از آسیب‌رسانی فیزیکی به مراحل رشدی نابالغ زنبور در حین جابجایی، حشرات روی برگ‌های گیاه میزبان باقی مانده و به همین صورت در آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. شپشک‌ها تا زمان رسیدن تخم زنبورها به مرحله رشدی مورد نظر روی برگ‌های گیاه ختم چینی درون ظروف پتری به قطر ۱۰ سانتی‌متر و در دمای ۲±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (تاریکی: روشنایی) نگهداری شدند. شش تیمار مورد استفاده در این آزمایش‌ها شامل لارو سن آخر و دو هفته نگه‌داری در سرما، لارو سن آخر و چهار هفته نگه‌داری در سرما، شفیره و دو هفته نگه‌داری در سرما، شفیره و چهار هفته نگه‌داری در سرما و تیمارهای شاهد شامل لارو سن چهارم و شفیره بدون نگهداری در سرما بود. دمای مورد استفاده در تیمارهای سرمایی چهار درجه سلسیوس در نظر گرفته شد. با توجه به اثر مثبت کاهش و افزایش پلکانی دما بر زنده‌مانی زنبورهای پارازیتوئید (Singh & Srivastava, 1988) هر دو مرحله انتقال لاروهای سن آخر و شفیره ها از اتاق رشد به سرما و از سرما به اتاق رشد، به صورت پلکانی (دو درجه‌ای با وقفه‌های دو ساعته) صورت پذیرفت (Mahi *et al.*, 2014). سپس تمام تیمارهای نگهداری‌شده در سرما پس از سپری شدن زمان مورد نظر به اتاق رشد با دمای ۲ ±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (تاریکی: روشنایی) منتقل شدند.

در همه تیمارها پارامترهایی چون نرخ ظهور حشرات بالغ، فاصله زمانی خروج از سرما تا ظهور حشرات بالغ، نسبت جنسی (نسبت ماده‌ها به تعداد کل حشرات) و طول عمر افراد بالغ تعیین شد. برای اندازه‌گیری طول عمر افراد بالغ، تعداد پنج زنبور بالغ نر و پنج زنبور بالغ ماده تازه ظاهر شده از هر تیمار جداسازی شد و درون لوله‌های آزمایش جداگانه قرار داده شدند. برای تغذیه زنبورها قطرات ریز عسل روی دیواره لوله آزمایش به صورت روزانه در اختیار زنبورها قرار گرفت و مرگ‌ومیر آنها به صورت جداگانه ثبت شد.

تاثیر سرما نگهداری بر ویژگی‌های مورفومتریک زنبورها

به‌منظور اندازه‌گیری پارامترهای مرفومتریک (طول ساق پای عقب، شاخک و بال) در آزمایش‌هایی جداگانه، تعداد ۱۵۰ عدد شپشک همسن پارازیته‌شده در هر دو مرحله رشدی لارو سن آخر و شفیره پس از تیمار سرمایی به مدت زمان‌های دو و چهار هفته مشابه روش بیان‌شده برای آزمایش‌های بررسی ویژگی‌های زیستی زنبورها برای گذراندن مراحل رشدی در اتاق رشد نگهداری شدند. پس از ظهور حشرات

بالغ تعداد ۲۵ عدد زنبور از هر دو جنس نر و ماده برای اندازه-گیری ویژگی‌های مرفومتریک انتخاب شدند. زنبورها بلافاصله بعد از ظهور با استفاده از بخار الکل کشته شدند. سپس از بال، ساق پای عقب و شاخک سمت راست هر دو جنس زنبور در محلول سدیم کلراید ۰/۷درصد با استفاده از بینوکولر مجهز به دوربین دیجیتال (Nikon Coolpix S10, Nikon Corporation, Tokyo, Japan) با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر عکسبرداری شد و اندازه این اندام‌ها روی کامپیوتر به‌وسیله نرم‌افزار ImageJ (با دقت ۰/۰۰۳ میلی متر) تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این آزمایش‌ها از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. به منظور مقایسه ویژگی‌های زیستی زنبورها شامل نرخ ظهور، فاصله زمانی خروج از سرما تا ظهور حشرات بالغ، نسبت جنسی (نسبت ماده‌ها به تعداد کل حشرات) و طول عمر افراد بالغ در تیمارهای مختلف سرمایی از روش Anova یک طرفه (در سطح احتمال ۰/۰۵) و آزمون تکمیلی حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) استفاده شد. محاسبه‌های آماری توسط نرم‌افزار SPSS (Version 20) انجام پذیرفت.

نتایج

تاثیر نگهداری در سرما بر طول دوره رشدی و نرخ ظهور زنبور *A. bambawalei*

بر اساس نتایج جدول ۱ نرخ ظهور حشرات کامل در تیمارهای مختلف زمانی نگهداری لاروها و شفیره‌های زنبور پارازیتوئید *A. bambawalei* در سرما اختلاف معنی‌داری نشان داد ($F=222.93$; $df=5,29$; $p<0.0001$). بیشترین نرخ ظهور حشرات بالغ از لارو سن آخر و شفیره‌ها به‌ترتیب ۹۶ و ۱۰۰٪ در تیمار شاهد مشاهده شد. در مدت زمان دو هفته نگهداری در سرما اختلاف معنی‌داری در نرخ ظهور حشرات کامل از لاروها و شفیره‌ها مشاهده شد. بیشترین میزان ظهور حشرات بالغ در تیمار شفیره و مدت زمان سرمانگهداری دو هفته مشاهده شد. در این مدت زمان، میانگین نرخ ظهور حشرات کامل در لاروهای تیمار شده ۴۸٪ و در شفیره‌های تیمار شده ۷۲٪ بود. به صورت کلی، نرخ ظهور حشرات کامل در لاروهای تیمار شده به مدت دو هفته کمتر از شفیره‌هایی بود که به همان مدت در سرما نگهداری شده بودند. در تیمار لارو سن آخر که به مدت ۴ هفته در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شده بودند، هیچ حشره بالغی مشاهده نشد (جدول ۱). وقتی شفیره‌های زنبور *A. bambawalei* به مدت ۴ هفته در معرض سرما نگهداری شدند میزان نرخ ظهور حشرات بالغ به ۱۲درصد کاهش یافت.

جدول ۱- نرخ ظهور و فاصله زمانی (میانگین ± انحراف معیار) بین خروج از سرما تا ظهور حشرات کامل زنبورهای نر و ماده *Aenasius bambawalei* پس از نگهداری در شرایط مختلف سرمایی

Table 1. Adult emergence rate and time interval (Mean± SE) between getting out of the cold condition to adult emergence in male and female adults of *Aenasius bambawalei* after different cold storage treatments

	Last instar larva			Pupa		
Parameters	Control	2 weeks	4 weeks	Control	2 weeks	4 weeks
Emergence rate (%)	96±5.48^{a}	48±8.36^{c}	-	100±0.0^{a}	72±8.36^{b}	12±8.36^{d}
Developmental time after cold treatment (female)	11.80±0.73^{ab}	11.40±0.75^{a}	-	8.20±0.8^{c}	8.40±0.51^{c}	9.20±0.49^{c}
Developmental time after treatment (male)	11.40±0.68^{ab}	11.80±0.37^{a}	-	9.60±0.40^{c}	10.0±0.45^{c}	11.60±0.5^{a}
Replication	5	5	5	5	5	5

Means in a row followed by different letters are significantly different (LSD test; $p<0.05$).

طول دوره نگهداری لاروهای سن آخر و شفیره‌های زنبور پارازیتوئید *A. bamabawalei* تاثیر معنی‌داری بر طول دوره رشدی پس از سرمانگهداری حشرات کامل نر ($F=4.148$; $df=4,24$; $p=0.013$) و ماده ($F=5.309$;

(df=4,24; p=0.004) داشت (جدول ۱). در حشرات ماده نگهداری‌شده در سرما کمترین و بیشترین زمان این دوره (۸/۴۰ و ۱۱/۴۰روز) به‌ترتیب مربوط به شفیره و لاروهای سن آخر بود که به مدت دو هفته در سرما نگهداری شده بودند. اگرچه طول این دوره در شفیره‌هایی که به مدت چهار هفته در سرما نگهداری شده بودند (۹/۲۰ روز) اختلاف معنی‌داری با شفیره‌هایی که به مدت دو هفته نگهداری شده بودند نداشت. در حشرات نر نیز روندی مشابه حشرات ماده مشاهده شد و شفیره‌هایی که به مدت دو هفته در سرما نگه داشته شده بودند، کمترین طول دوره (۱۰/۰ روز) و لاروهای نگهداری شده به مدت دو هفته، بیشترین طول دوره (۱۱/۸۰ روز) را در مقایسه با تیمار شاهد به خود اختصاص دادند. با توجه به عدم ظهور حشرات بالغ در تیمار لاروهای نگهداری شده در سرما به مدت چهار هفته، طول این دوره برای این تیمار قابل محاسبه نبود.

تاثیر نگهداری در سرما بر نسبت جنسی و طول عمر زنبور *A. bambawalei*

جدول ۲ تاثیر نگهداری در سرما را بر نسبت جنسی و طول عمر افراد بالغ نر و ماده زنبور پارازیتوئید *A. bambawalei* نشان می‌دهد. نسبت جنسی زنبورهای پارازیتوئید خارج‌شده از مراحل مختلف رشدی نگهداری‌شده در سرما در لاروهای سن آخر ۰/۶۰ و ۰/۴۲ به‌ترتیب در تیمار شاهد و دو هفته نگهداری در سرما و در شفیره‌ها ۰/۶۲، ۰/۴۶ و ۰/۲۲ در تیمار شاهد، دو هفته و چهار هفته به‌دست آمد. نتایج این بررسی نشان‌دهنده کاهش نسبت جنسی ماده با افزایش مدت سرمانگهداری لاروها و شفیره‌ها است (F=16.718; df=4,24; p<0.0001).

جدول ۲ - نسبت جنسی و طول عمر (میانگین ± انحراف معیار) حشرات کامل زنبور های نر و ماده *Aenasius bambawalei* پس از نگهداری در شرایط مختلف سرمایی

Table 2. Sex ratio and longevity (Mean±SE) of females and males of *Aenasius bambawalei* after different cold storage treatments

	Last instar larva			Pupa		
Parameters	Control	2 weeks	4 weeks	Control	2 weeks	4 weeks
Sex ratio	0.6±0.03[a]	0.42±0.03[b]	-	0.62±0.03[a]	0.46±0.05[b]	0.22±0.04[c]
Female Longevity	38.40±0.93[a]	32.20±0.66[b]	-	39.40±0.40[a]	33.40±0.75[b]	21.20±1.75[c]
Male longevity	24.60±1.75[a]	15.60±1.21[b]	-	25.20±1.43[a]	15.40±1.60[b]	10.40±0.93[c]
Replication	5	5	5	5	5	5

Means in a row followed by different letters are significantly different (LSD test; p<0.05).

با افزایش زمان نگهداری در سرما طول عمر زنبورهای بالغ ماده (F=51.91; df=4,24; p<0.001) و نر (F=72.20; df=4,24; p<0.0001) کاهش یافت. طول عمر ماده‌های بالغ در تیمار شاهد لارو سن آخر و شفیره‌ها به ترتیب ۳۸/۴۰ و ۳۹/۴۰ روز بود که در تیمارهایی که به مدت دو هفته در سرما نگهداری شده بودند، به ۳۲/۲۰ و ۳۳/۴۰ روز کاهش یافت. کمترین طول عمر حشرات ماده ۲۱/۲۰ روز در تیمار شفیره‌هایی بود که به مدت چهار هفته در سرما نگهداری شده بودند. در حشرات نر طول عمر لاروهای سن آخر و شفیره‌ها در تیمار شاهد به‌ترتیب ۲۴/۶۰ و ۲۵/۲۰ روز بود. طول عمر حشرات نر که لاروهای سن آخر و شفیره‌های آنها به مدت دو هفته در سرما نگه داشته شده بودند، به‌ترتیب ۱۵/۶۰ و ۱۵/۴۰ روز بود که به طور معنی‌داری از تیمارهای شاهد کمتر بود. کمترین طول عمر حشرات بالغ نر در تیمار شفیره‌های نگهداری‌شده در سرما و به مدت ۱۰/۴۰ روز بود. این نتایج نشان داد اگرچه سرما نگهداری باعث کاهش طول عمر حشرات نر و ماده شد، ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای لاروهای سن آخر و شفیره‌های نگهداری‌شده در سرما مشاهده نشد.

تاثیر نگهداری در سرما بر مشخصات مرفومتریک زنبور *A. bambawalei*

تاثیر نگهداری لاروهای سن آخر و شفیره زنبور پارازیتوئید *A. bambawalei* در سرما بر مشخصات مرفومتریک حشرات بالغ ظاهر شده نر و ماده شامل طول ساق پای عقب، طول بال و طول شاخک در جدول ۳ نشان داده شده است. در زنبورهای نر طول ساق پای عقب در لاروهای سن آخر و شفیره‌هایی که در سرما نگهداری شده بودند، در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت ($F=3.245$; $df=4,24$; $p=0.33$). در زنبورهای ماده طول ساق پای عقب در لاروها و شفیره‌هایی که به‌ترتیب به مدت دو و چهار هفته در سرما نگه داشته شده بودند، به طور معنی‌داری کاهش یافت ($F=18.62$; $df=4,24$; $p\leq0.0001$). در زنبورهای ماده ظاهر شده از لاروهای سرما نگه‌داری‌شده، طول ساق پای عقب از ۰/۴۶۸ در تیمار شاهد به ۰/۴۱۱ میلی‌متر و در شفیره-های نگهداری‌شده در سرما به مدت چهار هفته از ۰/۴۶۷ به ۰/۴۱۱ میلی‌متر کاهش یافت.

جدول ۳- میانگین (± خطای معیار) طول ساق پای عقب، بال جلو و شاخک زنبور پارازیتوئید نر و ماده *Aenasius bambawalei* پس از نگهداری مراحل نابالغ در تیمارهای مختلف سرمایی

Table 3. Mean (±SE) of the length of hind tibia, front wing, and antenna of *Aenasius bambawalei* females and males after different cold storage treatments

	Last instar larva			Pupa		
Male	control	2 weeks	4 weeks	control	2 weeks	4 weeks
Hind leg length (mm)	0.392±0.07^{a}	0.360±0.05^{b}	-	0.382±0.12^{a}	0.367±0.006^{b}	0.371±0.004^{b}
Front wing length(mm)	0.917±0.002^{a}	0.890±0.03^{a}	-	0.917±0.03^{a}	0.901±0.189^{a}	0.844±0.708^{b}
Antenna length (mm)	0.822±0.003^{a}	0.810±0.00^{b}	-	0.824±0.02^{a}	0.810±0.001^{b}	0.794±0.004^{c}
Female						
Hind leg length (mm)	0.468±0.020^{a}	0.411±0.08^{b}	-	0.467±0.08^{b}	0.465±0.031^{a}	0.411±0.063^{b}
Front wing length (mm)	0.768±0.170^{a}	0.834±0.00^{a}	-	0.805±0.17^{a}	0.833±0.005^{a}	0.808±0.003^{a}
Antenna length (mm)	0.837±0.001^{a}	0.818±0.01^{b}	-	0.837±0.01^{a}	0.821±0.014^{b}	0.807±0.002^{c}

Means in a row followed by different letters are significantly different (LSD test; $p<0.05$).

در مقایسه طول بال زنبورهای نر در تیمارهای مورد آزمایش، تنها زنبورهای پارازیتوئیدی که شفیره‌های آنها به مدت ۴ هفته در سرما نگهداری شده بودند، کاهش معنی-داری نشان دادند ($F=10.54$; $df=4,24$; $p\leq0.0001$). نتایج همچنین نشان داد که نگهداری در سرما تاثیری در اندازه طول بال حشرات ماده نداشت ($F=0.061$; $df=4,24$; $p=0.993$). طول شاخک حشرات بالغ در لاروها و شفیره-های نر که به مدت دو هفته در سرما نگهداری شده بودند، در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌داری داشت. همچنین حشرات بالغ خارج‌شده از شفیره‌های نرکه به مدت چهار هفته در سرما نگهداری شده بودند، طول شاخک کوتاه‌تری در مقایسه با لاروها و شفیره‌هایی که به مدت دو هفته در سرما نگهداری شده بودند داشتند ($F=19.70$; $df=4,24$; $p\leq0.0001$). از طرف دیگر، نگهداری در سرما باعث کاهش معنی‌دار طول شاخک در حشرات ماده شد ($F=59.08$; $df=4,24$; $p\leq0.0001$). بیشترین طول شاخک در حشرات کامل ظاهر شده از لاروها و شفیره‌های تیمار شاهد (۰/۸۳۷ میلی‌متر) و کمترین طول شاخک در شفیره‌هایی که به مدت چهار هفته در سرما نگهداری شده بودند مشاهده شد (جدول ۳).

بحث

ذخیره‌سازی دشمنان طبیعی در سرما یک رویکرد مهم در تولید انبوه آنها می‌باشدکه باعث افزایش طول عمر آنها می-شود (Venkatesan *et al.*, 2000). در این روش امکان تولید هم‌زمان تعداد خیلی زیاد از یک گونه پارازیتوئید و استفاده در زمان مطلوب برای رهاسازی انبوه فراهم می‌شود (Mahi *et al.*, 2014). به‌منظور رهاسازی انبوه زنبور پارازیتوئید *A. bambawalei* برای کنترل *P. solenopsis*، اطمینان از در دسترس بودن تعداد کافی پارازیتوئید در زمان مناسب برای رهاسازی بسیار مهم است (Rathee *et al.*, 2015). در مطالعه حاضر طولانی‌شدن مدت ذخیره‌سازی در سرما باعث کاهش نرخ ظهور زنبورهای پارازیتوئید شد. بررسی‌های پیشین نیز تاثیر منفی ذخیره‌سازی طولانی‌مدت

مراحل نابالغ زنبورها در دماهای پایین روی نرخ ظهور افراد بالغ را به اثبات رسانده‌اند. در بررسی‌های صورت‌گرفته روی زنبور پارازیتوئید *Trichogramma* spp. مدت زمان ذخیره‌سازی و دماهای پایین‌تر، نرخ ظهور حشرات بالغ را به طور مشخص کاهش می‌دهند (Tezze & Botto, 2004; Rundle *et al.*, 2004). نرخ ظهور زنبور پارازیتوئید *A. bamabawalei* که شفیره‌های آن به مدت ۱ تا ۸ هفته در سرما ذخیره‌سازی شده بود، با طولانی شدن زمان نگهداری در سرما کاهش نشان داد (Rathee & Ram, 2014). در مورد زنبور پارازیتوئید *Anaphes iole* Girault وقتی تخم‌ها در دمای ۱۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند، نرخ ظهور حشرات بالغ بیشتر از زمانی بود که در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شده بودند (Abdullah *et al.*, 2009).

در این بررسی طول دوره نگهداری در سرما در هر دو جنس نر و ماده باعث طولانی‌تر شدن طول دوره رشدی لارو-شفیره تا بلوغ شد. بررسی‌های مشابه که توسط ماهی و همکاران (Mahi *et al.*, 2014) روی تاثیر استفاده از سرما به‌منظور ذخیره جمعیت دو جنسی زنبور پارازیتوئید *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) انجام شد نیز نشان-دهنده افزایش طول دوره رشدی در لاروهای سن آخر و شفیره های سرما نگهداری‌شده بود.

ذخیره‌سازی حشرات در سرما به‌طور معمول در دماهای پایین‌تر از دمای مناسب رشد حشره انجام می‌شود و به همین دلیل می‌تواند تاثیرات منفی زیادی بر شایستگی زنبورهای پارازیتوئید داشته باشد (Colinet & Boivin, 2011). دمای پایین می‌تواند باعث ایجاد تغییر در بافت‌ها یا تعادل هورمونی حشرات شود که هر دو این عوامل موجب ایجاد ناهمواری-های مرفولوژیکی در حشرات می‌شود (Shenal, 1991). از نظر علم اکولوژی یکی از شاخص‌های شایستگی در حشرات اندازه بدن است و در پارازیتوئیدها اندازه ساق پای عقب شاخص مناسبی برای اندازه بدن حشره محسوب می‌شود (Godfray, 1994). در بررسی‌های انجام‌شده روی تاثیر سرما نگهداری بر طول ساق پای عقب حشرات نر و ماده زنبور *L. fabarum* که لاروها و شفیره های آنها به مدت سه هفته در سرما نگهداری شده بودند، کاهش معنی‌داری در طول ساق عقب حشرات نر و ماده مشاهده شد (Mahi *et al.*, 2014) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

به طور کلی، نگهداری حشرات نابالغ در سرما با ایجاد تنش بر حشره می‌تواند کیفیت میزبان را کاهش داده و نسبت جنسی زنبور پارازیتوئید را به سمت نر سوق دهد (Bayram *et al.*, 2005). در بررسی ماهی و همکاران (Mahi *et al.*, 2014) نسبت جنسی زنبورهای *L. fabarum* که لارو و شفیره‌های آنها به مدت سه هفته در دمای ثابت چهار درجه سلسیوس نگهداری شده بود، به میزان قابل توجهی کاهش نشان داد (Mahi *et al.*, 2014). در بررسی دیگری نیز نسبت ماده‌ها در نسل F1 زنبور *A. bambawalei* با افزایش سرمانگهداری شفیره‌ها کاهش یافت (Rathee & Ram, 2014). نتایج پژوهش‌های بیان‌شده با نتایج این بررسی مطابقت دارد.

در این بررسی طول عمر حشرات کامل نر و ماده تحت تاثیر مدت زمان نگهداری مراحل رشدی نابالغ در سرما قرار گرفت. در بررسی‌های راتی و همکاران (Rathee *et al.*, 2015) با افزایش طول دوره سرمانگهداری شفیره‌های زنبور *A. bambawalei* در دمای ۵ درجه سلسیوس از یک تا چهار هفته طول عمر حشرات نر از ۱۷/۶۰ به ۷/۸۰ و طول عمر حشرات ماده از ۳۰/۶۰ به ۱۷/۶۰ روز کاهش یافت. کاهش طول عمر زنبورها با افزایش طول دوره ذخیره‌سازی در سرما در سایر زنبورهای پارازیتوئید نیز مشاهده شده است. برناردو و همکاران (Bernardo *et al.*, 2008) گزارش کردند که دماهای ذخیره‌سازی پایین‌تر از ۱۵ و ۱۰ درجه سلسیوس تاثیر نامطلوبی بر طول عمر زنبور پارازیتوئید *Thripobius javae* (Hymenoptera: Eulophidae) داشت. در زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* Say نیز طول عمر زنبورهای بالغ با نگهداری در سرما کاهش یافت (Chen *et al.*, 2013). همچنین کاهش چشم‌گیری در طول عمر نرها و ماده های خارج‌شده از شفیره‌های *Cotesia marginiventris* (Cresson) که به مدت سه هفته در دماهای ۵ و ۱۰ درجه سلسیوس نگهداری شده بودند مشاهده شد (Jalali *et al.*, 1990).

در این پژوهش نگهداری در سرما باعث کاهش طول بال در زنبورهای نر شد. در زنبور *Trichogramma* sp. بدشکلی بال‌ها با افزایش طول دوره سرمانگهداری افزایش می‌یابد (Tezze & Botto, 2004). تغییرات در مرفولوژی بال‌ها می‌تواند برخی از شایستگی‌های زنبورهای پارازیتوئید از جمله پرواز و توانایی پراکنش آنها را تحت تاثیر قرار دهد (Hewa-Kapuge & Hoffmann, 2001).

مواردی از تاثیر نگهداری شفیره‌ها در سرما بر ایجاد تغییرات در شاخک‌های سه گونه از زنبور پارازیتوئید *Trichogramma* sp. و همچنین زنبورهای پارازیتوئید *Aphidius rhopalosiphi* DeStefani–Peres و *Aphidius picipes* (Nees) گزارش شده است (Pintureau & Daumal, 1995; Bourdais *et al*., 2006; Amice *et al*., 2008). تغییرات مرفولوژیکی در شاخک زنبورهای پارازیتوئید می‌تواند روی رفتار و بویایی-سنجی زنبورها تاثیر منفی داشته باشد. براساس نتایج این آزمایش نگهداری لاروها و شفیره‌های زنبور پارازیتوئید *A. bambawalei* در سرما تاثیر منفی بر ویژگی‌های مرفومتریک حشرت بالغ داشت. تنها مورد استثنا در این بررسی طول بال حشرات ماده بود که تحت تاثیر سرمانگهداری قرار نگرفت.

سپاسگزاری

این اثر تحت حمایت مادی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) برگرفته شده از طرح شماره ۴۰۰۰۸۳۸ انجام شده است.

References

Abdullah, K., Ellington, J. J., & Yasmin, S. (2009). Storage studies of *Anaphes iole* Girault (Hymenoptera: Mymaridae) at different developmental stages, temperatures and light-dark regimes. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, *74*(4), 319-326.

Amice, G., Vernon, P., Outreman, Y., van Alphen, J., & van Baaren, J. (2008). Variability in responses to thermal stress in parasitoids. *Ecological Entomology*, *33*(6), 701-708. **DOI: 10.1111/j.1365-2311.2008.01019.x**

Ayvaz, A., Karasu, E., Karabörklü, S., & Tunçbilek, A. Ş. (2008). Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Stored Products Research*, *44*(3), 232-240. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.02.001**

Bayram, A., Ozcan, H., & Kornosor, S. 2005. Effect of cold storage on the performance of *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae): an egg parasitoid of *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Control*, *35*, 68–77. **DOI: 10.1016/j.biocontrol.2005.06.007**

Bernardo, U., Iodice, L., Sasso, R., & Pedata, P. A. (2008). Effects of cold storage on *Thripobius javae* (= *T. semiluteus*) (Hymenoptera: Eulophidae). *Biocontrol Science and Technology*, *18*(9), 921-933. **DOI: https://doi.org/10.1080/09583150802412311**

Bourdais, D., Vernon, P., Krespi, L., Le Lannic, J., & van Baaren, J. (2006). Antennal structure of male and female *Aphidius rhopalosiphi* DeStefani-Peres (Hymenoptera: Braconidae): Description and morphological alterations after cold storage or heat exposure. *Microscopy Research and Technique*, *69*(12), 1005-1013. **DOI: 10.1002/jemt.20378**

Cagnotti, C. L., Lois, M., López, S. N., Botto, E. N., & Viscarret, M. M. (2018). Cold storage of *Trichogramma nerudai* using an acclimation period. *BioControl*, *63*(4), 565-573. **DOI: https://doi.org/10.1007/s10526-018-9885-5**

Chen, C. P., Lee, R. E., & Denlinger, D. L. (1990). A comparison of the responses of tropical and temperate flies (Diptera: Sarcophagidae) to cold and heat-stress. *Journal of Comparative Physiology B*, *160*, 543–547. **DOI: https://doi.org/10.1007/BF00258982**

Chen, H., Zhang, H., Zhu, K. Y., & Throne, J. (2013). Performance of diapausing parasitoid wasps, *Habrobracon hebetor*, after cold storage. *Biological Control*, *64*(3), 186-194. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.11.007**

Chen, W., Li, Y., Zhang, C., Jia, F., Zhang, M., Wang, M., & Zhang, L. (2023). Cold storage effects on biological parameters of *Telenomus remus*, a promising egg parasitoid of *Spodoptera frugiperda*,

reared on Spodoptera litura eggs. *Journal of Pest Science*, *96*(4), 1365-1378. **DOI: https://doi.org/10.1007/s10340-022-01515-2**

Colinet, H., & Boivin, G. (2011). Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. *Biological Control*, *58*(2), 83-95. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.014**

Denlinger, D. L., & Lee Jr, R. E. (2010). Low temperature biology of insects. Cambridge University Press. **DOI: http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511675997**

Garcia, P. V., Wajnberg, E., Pizzol, J., & Oliveira, M. L. M. (2002). Diapause in the egg parasitoid *Trichogramma cordubensis*: Role of temperature. *Journal of Insect Physiology*, *48* (3), 349-355. **DOI: https://doi.org/10.1016/S0022-1910(02)00052-5**

Gibert, P., Moreteau, B., Petavy, G., Karan, G., & David, J.R. (2001). Chill coma tolerance: a major climatic adaptation among *Drosophila* species. *Evolution, 55*, 1063-1068. **DOI: https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb00623.x**

Glenister, C. S., & Hoffmann, M. P. (1998). Mass-reared natural enemies: Scientific, technological, and informational needs and considerations. In Ridgway, R. L., Hoffmann, M. P., Inscoe, M. N, and Glenister, C. S. (Eds.). Mass-reared natural enemies: application, regulation, and needs, Proceeding of Thomas Say Publication in Entomology. p. 242. **DOI: https://doi.org/10.4182/KSIB6750. 1998.242**

Godfray, H. C. J. (1994). Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Hewa-Kapuge, S., & Hoffmann, A. A. (2001). Composite asymmetry as an indicator of quality in the beneficial wasp *Trichogramma nr. brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Economic Entomology*, *94*(4), 826-830. **DOI: https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.4.826**

Hanna, A. D. (1935). Fertility and tolerance of low temperature in *Euchalcidia carybori* Hanna (Hymenoptera: Chalcidinae). *Bulletin of Entomological Research, 26*, 315–322. **DOI: https://doi.org/10.1017/S0007485300036622**

Hayat, M. (2009). Description of a new species of *Aenasius* Walker (Hymenoptera: Encyrtidae), India. *Biosystematica*, *3*,(1), 21-26.

Jalali, S. K., Singh, S. P., Ballal, C. R., & Kumar, P. (1990). Response of *Cotesia marginiventris* (Cresson)(Hymenoptera: Braconidae) to low temperature in relation to its biotic potential. *Entomon, 15*(3-4), 217-220.

King, C. B. R. (1934). Cold storage effect on *Trichogramma* and on eggs of *Ephestia kuehniella*. *Tea Quarterly*,*1*, 19–27.

Leopold, R. A. (2007). Colony maintenance and mass-rearing: using cold storage technology for extending the shelf-life of insects. In Vreysen, M. J. B., Robinson, A. S., & Hendrichs, J. (Eds.), Area-wide control of insect pestS. Springer, Netherlands, pp. 149–162.

Mahi, H., Rasekh, A., & Shishebor, P. (2014). Chill storage of bisexual population of *Lysiphlebus fabarum* (Braconidae: Aphidiinae). *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 37*(2): 65-78. (In Farsi)

McDonald, R. C., & Kok, L. T. (1990). Post refrigeration viability of *Pteromalus puparum* (Hymenoptera: Pteromalidae) prepupae within host chrysalids. *Journal of Entomological Science, 25*, 409–413.

Moghadam, M., & Bagheri, N. A. (2010). A new record of mealybug pest in the South Iran, *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Coccidea: Pseudococcidae). *Journal of Entomological Society of Iran*, *30*(1), 67-69.

Mossadegh, M. S. Vafaei, S., Farsi, A., Zarghami, S., Esfandiari, M., Dehkordi, F. S., Fazelinejad, A., & Seyfollahi, F. (2015). *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Sternorr -hyncha: Pseudococcidae), its natural enemies and host plants in Iran. 1st Iranian International Congress of Entomology. 29-31 August. Tehran. Iran. pp. 159-167.

Ozder, N. (2004). Effect of different cold storage periods on parasitization performance of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) on eggs of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae). *Biocontrol Science and Technology, 14*(5), 441-447. **DOI: https://doi.org/10.1080/09583150410001683529**

Pintureau, B., & Daumal, J. (1995). Effects of diapause and host species on some morphometric characters in *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae). *Experientia, 51*, 67-72. **DOI: https://doi.org/10.1007/BF01964922**

Rundle, B. J., Thomson, L. J., & Hoffmann, A. A. (2004). Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three Trichogramma spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold. *Journal of economic entomology*, *97*(2), 213-221. **DOI: https://doi.org/10.1093/jee/97.2.213**

Rathe, M., & Ram. P. (2014). Effect of cold storage of *Aenasius bambawalei* Hayat (Hymenoptera: Encyrtidae) during pupal stage on its key biological characteristics. *Journal of Biological Control, 29*(1), 119-121.

Rathee, M., Ram, P., & Mehra, S. (2015). Response of *Aenasius bambawalei* Hayat (Hymenoptera: Encyrtidae) adults to low temperature storage in relation to key biological parameters. *Journal of Biological Control*, *29*(1), 119-121.

Rathee, M., & Ram, P. (2016). Mortality of *Aenasius bambawalei* Hayat following cold storage in mummies of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley. *Research in Environment and Life Sciences*, *9*(10), 1215-1217.

Schread, J. C., & Garman, P. (1934). Some effects of refrigeration on the biology of *Trichogramma* in artificial breeding. *The Journal of the New York Entomological Society*, *42*, 268–283.

Sehnal, F. (1991). Effects of cold on morphogenesis. In: Lee, R.E., Denlinger, D.L. (Eds.), Insects at Low Temperatures. Chapman and Hall, New York and London, pp. 149–171. **DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4757-0190-6_7**

Singh, R., & Srivastava. M. (1988). Effect of cold storage of mummies of *Aphis craccivora* Koch subjected to different pre-storage temperature on percent emergence of *Trioxys indicus* Subba Rao and Sharma. *Insect Science Applicata, 9*, 655–657. **DOI: https://doi.org/10.1017/S1742758400005178**

Tezze, A. A., & Botto, E. N. (2004). Effect of cold storage on the quality of *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biological control*, *30*(1), 11-16. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2003.09.008**

van Lenteren, J.C., Tommasini, M.G. (1999). Mass Production, storage, shipment and quality control of natural enemies. In Albajes, R., Lodovica Gullino, M., van Lenteren, J. C., and Elad, Y. (Eds.). Integrated pest and disease management in greenhouse crops. Developments in Plant Pathology, vol 14. Springer, Dordrecht. **DOI: https://doi.org/10.1007/0-306-47585-5_20**

van Lenteren, J. V., & Tommasini, M. G. (2003). Mass production, storage, shipment and release of natural enemies. In van Lenteren, J. C. (Ed.). Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures. Wallingford UK: CABI publishing. pp. 181-189. **DOI: https://doi.org/10.1079/9780851996882.0181**

Venkatesan, T., Singh, S. P., & Jalali, S. K. (2000). Effect of cold storage on cocoons of *Goniozus nephantidis* Muesebeck (Hymenoptera: Bethylidae) stored for varying periods at different temperature regimes. *Journal of Entomological Research, 24*, 43–47.

Wang, Z. & Smith, S. M. (1996). Phenotypic differences between thelytokous and arrhenotokous *Trichogramma minutum* from *Zeiraphera canadensis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *78*(3), 315-323. **DOI: https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1996.tb00796.x**

Zhang, L. H., Lu, Z. T., Guo, C. F., Shen, Z. L., Wang, Z. Q., Sang, W., & Qiu, B. L. (2020). Effects of cold storage on the fitness of *Tamarixia radiata*, a dominant parasitoid of Asian citrus psyllid *Diaphorina citri*. *Crop Protection, 128*, 104988. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104988**

Plant Pest Research
2024- 14 (1): 61-72

Open access
doi: 10.22124/iprj.2024.27090.1568
pISSN: 2322-2409
eISSN: 2538-6123

Research paper

Effect of cold storage on biological and morphological characteristics of the parasitoid wasp, *Aenasius bambawalei* (Hym.: Encyrtidae)

N. Zandi-Sohani[1]* and E. Tamoli Torfi[2]
1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzastan, Mollasani, Iran, 2. Department of Plant Protection, College of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
1. 0000-0001-6826-9100; 2. 0009-0003-6117-8195

(Received: March 9, 2024 - Accepted: May 28, 2024)

Abstract

Cold storage is a valuable technique for extending the survival time of parasitoid wasps, but it may have a detrimental impact on their survival and successful oviposition. In this study, we investigated the effect of cold storage of the larval and pupal stages of *Aenasius bambawalei* at 4°C for two and four weeks on their post-storage developmental time, adult emergence and longevity, female sex ratio, and morphometric characteristics. The highest emergence rate (72%) was observed in pupae after two weeks of cold treatment. In females, the shortest (8.40 days) and the longest (11.40 days) developmental time were seen in pupae and larvae exposed to two weeks of cold treatment, respectively. This trend was also similar in males, and the pupae and larvae subjected to two weeks of cold treatment showed the shortest (10 days) and the longest (11.8 days) developmental period, respectively. The sex ratio and adult longevity decreased significantly with the increase of immature stages' cold storage period. Additionally, the length of the hind tibia and antennae decreased compared to the control. Based on these findings, we recommend two weeks of *A. bambawalei* pupae cold storage to increase the survival time of the parasitoid, as cold storage of larvae as well as long period cold storage of pupae, may have negative effects on the adult's fitness.

Key words: Biological control, cotton mealybug, morphometric, sex ratio, survival

* Corresponding author: nzandisohani@yahoo.com, zandi@asnrukh.ac.ir