تحقیقات آفات‌گیاهی
۱۵- ۱ :(۴)۱۳- ۱۴۰۲
Open access
doi: 10.22124/iprj.2024.25871.1540
pISSN:2322-2409
eISSN: 2538-6123

علمی پژوهشی

کارایی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* در تلفیق با ماترین و باکتری *Bacillus thuringiensis* در کنترل *Anagasta kuehniella*

مریم عظیمی[۱]، شهرام آرمیده[۲*]، شهرام میرفخرایی[۳]، عباس حسین زاده[۴] و جی پی میچاود[۵]

۱، ۲ و ۳- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران، ۴- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد، ایران، ۵- گروه حشره شناسی، مرکز تحقیقات کشاورزی هیس، دانشگاه کانزاس، امریکا

1. 0000-0001-5227-5725, 2. 0000-0003-4220-6165, 3. 0000-0003-1951-0214, 4. 0000-0003-4277-3119, 5. 0000-0003-4277-3119

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۸/۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۵)

چکیده

در این تحقیق، کارایی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* (Say) در تلفیق با ماترین و باکتری *Bacillus thuringiensis* (Berliner) subsp. *Kurstaki* (*Btk*) در کنترل *Anagasta kuehniella* (Zeller)، بررسی شد. غلظت‌های کشنده و زیرکشنده (LC_{30}) ماترین و *Btk* با روش زیست‌سنجی روی لارو میزبان تعیین شد. برای ارزیابی ترجیح سن میزبانی توسط پارازیتوئید، با در اختیار قرار دادن لاروهای سنین مختلف میزبان، میزان پارازیتیسم زنبور تعیین شد. لاروهای سن چهارم و پنجم میزبان با غلظت زیرکشنده ماترین و *Btk* تیمار شدند و در حالت‌های انتخابی و غیرانتخابی، در اختیار زنبور پارازیتوئید قرار گرفتند. سپس میزان فلج کنندگی، پارازیتیسم، تخم‌گذاری، درصد ظهور و نسبت جنسی زنبورهای خارج شده تعیین شد. نتایج نشان دادکه زنبورهای ماده، لاروهای سنین چهارم و پنجم میزبان را برای پارازیتیسم ترجیح می دهند. در آزمون انتخابی زنبورهای ماده، لاروهای تیمار شده با ماترین را برای پارازیتیسم ترجیح دادند اما در آزمون غیرانتخابی، بیشترین میزان پارازیتیسم و تخم‌گذاری مربوط به تیمار شاهد بود. درصد ظهور زنبورهای بالغ و نسبت جنسی آن‌ها (ماده / کل)، حاصل از لاروهای سن چهارم و پنجم تیمار شده با ماترین به ترتیب در آزمون انتخابی ۶۱ و ۵۴ درصد و آزمون غیرانتخابی ۶۴ و ۵۴ درصد بودند. نتایج نشان داد ماترین و *Btk* پتانسیل قابل توجهی در کنترل *A. kuehniella* دارند. اما با توجه به اثرات سوء زیرکشنده این عوامل کنترلی بر کارایی پارازیتوئید، کاربرد همزمان آن‌ها با زنبور پارازیتوئید *H. hebetor*، پیشنهاد نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: اثرات زیرکشنده، ترجیح میزبانی، شب‌پره مدیترانه‌ای آرد، کنترل تلفیقی، مهار زیستی

* نویسنده مسئول: sh.aramideh@urmia.ac.ir

CC BY

مقدمه

یکی از مولفه‌های اساسی برای حفاظت محصولات در برابر خسارت ناشی از آفات، حفظ منابع طبیعی و محیط زیست از نظر اکولوژیکی با روش‌های مدیریت تلفیقی آفات (IPM) است (Baker *et al*., 2020). شب‌پره مدیترانه ای آرد *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) یکی از آفات مهم از راسته بال‌پولک‌داران می‌باشد که به دلیل خسارت اقتصادی به فرآورده‌های انباری از اهمیت برخودار است. استفاده بیش از حد از حشره‌کش‌های شیمیایی، باعث بروز مشکلاتی از جمله افزایش مقاومت آفات به حشره‌کش‌ها، آلودگی محیط زیست و اثرات سوء بر سلامتی انسان شده است (Ahmad *et al*., 2013; Taffar *et al*., 2021). روش کنترل بیولوژیک یک عامل کلیدی و از ستون‌های اصلی مدیریت تلفیقی می‌باشد که موجب کاهش وابستگی به مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی و تولید محصولات گواهی-شده می‌شود. کنترل بیولوژیک در واقع راه‌کاری مبتنی بر قوانین اکولوژیک است که از یک موجود زنده (دشمن طبیعی) برای کنترل گونه دیگر موجود زنده (آفت) استفاده می‌شود (Hoddle & van Driesche, 2009). دشمنان طبیعی شامل پارازیتوئیدها، شکارگرها و بیمارگرها هستند (Heimpel & Mills, 2017). زنبور (Hymenoptera: Braconidae) *Habrobracon hebetor* (Say) یکی از مهم‌ترین پارازیتوئیدهای لارو آفات مختلف به‌ویژه راسته بال‌پولک‌داران می‌باشد (Ba *et al*., 2014; Mbata & Warsi, 2019). این زنبور اکتوپارازیتوئید[1] ایدیوبایونت[2]، تجمعی[3] و همه‌جازی[4]، دارای طول دوره رشدی کوتاه، توان تولیدمثلی بالا، تعداد نسل زیاد و دامنه میزبانی وسیع می‌باشد (Ghimire & Phillips, 2014; Kabore *et al*., 2017)، از این‌رو به عنوان یکی از عوامل کنترل بیولوژیک موفق در بسیاری از برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات در محصولات مختلف و در کشورهای متعدد مورد استفاده قرار گرفته است (Singh *et al*., 2016). این زنبور لارو میزبان‌های خود را با نیش زدن و تزریق زهر[5] فلج کرده و سپس روی آن‌ها تخم‌ریزی می‌کند. اگرچه این پارازیتوئید در برنامه‌های کنترل بیولوژیک آفات راسته بال‌پولک‌داران، اغلب به تنهایی رهاسازی می‌شود، اما می‌توان از آن همراه با سایر عوامل کنترلی استفاده کرد (Allahyari *et al*., 2020a). آفت‌کش‌های گیاهی و میکروبی نیز به‌ویژه در مواردی که استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی مجاز نیست، می‌توانند نقش مهمی در تنظیم جمعیت آفات در برنامه‌های مدیریت تلفیقی داشته باشند (Bernardi *et al*., 2013; Ahmad, 2015). ماترین یک حشره‌کش گیاهی استخراج شده از گیاه تلخ بیان، *Sophora flavescens* Ait. (Fabaceae) می‌باشد که به طور گسترده در آسیا و جزایر اقیانوس آرام پراکنده بوده و عصاره آن خاصیت حشره‌کشی دارد. باکتری *Bacillus thuringiensis* (Berliner) subsp. *kurstaki* (Bacillales: Bacillaceae) خاک-زی، گرم مثبت و هاگ‌زا می‌باشد که برخی از سویه‌های آن کریستال‌های پروتئینی تولید می‌کنند و در طول اسپورزایی برای حشرات بسیار سمی هستند. از آن‌جاکه ماترین و *Bt* برای انسان و محیط زیست کم خطر می‌باشند، در برنامه‌های کنترل تلفیقی آفات مختلف بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (Yuan *et al*., 2004; Zanardi *et al*., 2015; Ali *et al*., 2017; Cheng *et al*., 2018). عوامل کنترل بیولوژیک با وجود محاسن زیاد، در مقایسه با آفت‌کش‌های شیمیایی، در بیش‌تر موارد به تنهایی کارایی بالایی ندارند؛ بدین جهت بررسی کاربرد هم‌زمان این عوامل حائز اهمیت است (Bahmani *et al*., 2020). کاربرد یک پارازیتوئید با عوامل بیمارگر و آفت‌کش گیاهی پرسش‌های فراوانی را در مورد فعل و انفعالات بالقوه بین آن‌ها، مانند توانایی پارازیتوئیدها در تشخیص میزبان آلوده و سالم و همچنین، شایستگی پارازیتوئید مطرح می‌کند که باید به دقت مورد بررسی قرار گیرد (Wan *et al*., 2019; Allahyari *et al*., 2020b). بنابراین، در تحقیق حاضر برای بررسی

[1]. Ectoparasitoid
[2]. Idiobiont
[3]. Gregarious
[4]. Cosmopolitan
[5]. Venom

سازگاری و رفتار زنبور *H. hebetor* همزمان با عوامل کنترلی دیگر، میزان تخم‌ریزی و ترجیح میزبانی این زنبور روی میزبان‌های سالم و آلوده به حشره‌کش‌های ماترین و *B. thuringiensis* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آفت‌کش‌های گیاهی و زیستی

حشره‌کش گیاهی ماترین با ماده موثره عصاره ریشه گیاه تلخ بیان با نام تجاری روی آگرو (Rui Agro® SL 0.6%)، حشره‌کشی تماسی و گوارشی می‌باشد. این حشره‌کش با اثر بر سیستم عصبی و تنفسی موجب مرگ آفات می‌شود. باکتری مورد استفاده در این تحقیق نیز فرمولاسیون تجاری پودر ترشونده (Wettable powder) به‌نام Belthirul 32000 IU/mg بر پایه *B. thuriugiensis* subsp. *kurstaki* (Probelete, Madrid, Spain) بود.

پرورش شب پره مدیترانه ای آرد، *A. kuehniella* و زنبور *H. hebetor*

پرورش میزبان در شرایط آزمایشگاهی در دمای ۲±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد و دوره نوری ۸ : ۱۶ ساعت روشنایی: تاریکی انجام شد. لاروهای *A. kuehniella* از مرکز پرورش حشرات مفید جهاد کشاورزی استان آذربایجان غربی- ارومیه تهیه شدند. لاروهای شب‌پره‌مدیترانه‌ای آرد به ظروف پلاستیکی ۱/۵ لیتری حاوی ۲۰۰ گرم بستر غذایی متشکل از ۱۵۰۰ گرم آرد گندم، ۵۰۰ گرم سبوس گندم و ۱۰۰ گرم مخمر منتقل شدند تا پس از رشد و نمو به حشرات کامل تبدیل شوند (Shams-Salehi *et al.*, 2016). سپس حشرات کامل به قیف‌های تخم‌گیری منتقل شدند تا جفت‌گیری و تخم‌ریزی نمایند. پس از آن تخم‌های هم‌سن در شرایط بیان‌شده با بستر غذایی تازه که در بالا در مورد آن توضیح داده شد، پرورش داده شدند. به منظور خالص‌سازی نمونه‌ها، حشرات مورد آزمایش برای سه نسل پرورش یافتند (Nouri-Ganbalani *et al.*, 2016). حشرات بالغ زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* از مرکز پرورش حشرات مفید جهاد کشاورزی آذربایجان غربی- ارومیه تهیه شده و روی لاروهای *A. kuehniella* پرورش داده شدند. پنبه آغشته به محلول ۱۰ درصد آب و عسل به عنوان غذا برای زنبورهای بالغ در ظروف پلاستیکی در نظر گرفته شد و برای انجام آزمایش‌ها از زنبورهای نر و ماده یک روزه استفاده شد.

ترجیح سن لاروی میزبان

در این آزمون چهار سن لاروی (دو، سه، چهار و پنج) به‌صورت جداگانه در اختیار زنبور ماده *H. hebetor* قرار گرفتند. به این منظور سنین مختلف لاروی در سه تکرار و در هر تکرار ۲۰ لارو هم‌سن در یک ظرف پلاستیکی (قطر ۲۳ و ارتفاع ۴ سانتی‌متر) همراه با ۱۰۰ گرم غذای مصنوعی قرار داده شدند و سپس یک زنبور ماده جفت‌گیری کرده (۲-۳ روزه بدون تجربه قبلی مواجهه با میزبان) درون هر ظرف رهاسازی شد. برای تغذیه زنبورهای بالغ درب ظروف با محلول ۱۰ درصد عسل آغشته شد. تعداد لاروهای پارازیت‌شده سنین مختلف پس از ۲۴ ساعت شمارش شد. برای تشخیص لاروهای پارازیته از استریومیکروسکوپ با بزرگ نمایی ۴۰ استفاده شد (Adly & Marzouk, 2019).

زیست‌سنجی

در آزمایش‌های مقدماتی غلظت‌هایی از هر دو ترکیب ماترین و بلتیرول که بتوانند تلفات بین ۲۰ تا ۸۰ درصد در میزبان ایجاد نمایند به‌دست آمد؛ سپس بین این دو غلظت، سه غلظت با فواصل لگاریتمی تعیین شد (Robertson *et al.*, 2007) و به همراه تیمار شاهد (آب‌مقطر)، ۶ غلظت در سه تکرار در آزمایش‌های اصلی مورد استفاده قرار گرفت و غلظت‌های زیست‌سنجی اصلی به دست آمد.

به منظور تعیین اثرات کشنده حشره‌کش‌ها، لاروهای سنین چهارم و پنجم تازه ظاهر شده شب‌پره مدیترانه‌ای آرد، روی بستر غذایی آلوده به غلظت‌های ۱۰/۰۰، ۷۷/۵۰، ۱۴۵/۰۰، ۲۱۲/۵۰ و ۲۸۰/۰۰ پی‌پی‌ام ماترین و غلظت‌های ۱۵۰/۰۰، ۵۲۵/۰۰، ۹۰۰/۰۰، ۱۲۷۵/۰۰ و ۱۶۵۰/۰۰ پی‌پی‌ام ترکیب تجاری باکتری *Btk*، با نسبت ۹: ۱ پرورش داده شدند (Nouri-Ganbalani *et al.*, 2016). به منظور تحریک برای تغذیه بیشتر، لاروهای سنین چهارم و پنجم به مدت ۱۲ ساعت قبل از تیمار، گرسنه نگه داشته شدند

(Ibargutxi *et al*., 2008). لاروهای گرسنه در گروه‌های ۲۰ تایی به ظروف پتری استریل (قطر ۹ و ارتفاع یک سانتی‌متر)، حاوی ۳۰ گرم غذای مصنوعی آلوده منتقل شده و ظروف در شرایط آزمایشگاهی توصیف‌شده در بالا نگه‌داری شدند. برای هر غلظت سه تکرار در نظرگرفته شد و مرگ و میر لاروها پس از ۴۸ ساعت ثبت شد (Nouri-Ganbalani *et al*., 2016).

آزمون‌های انتخابی و غیرانتخابی

آزمون انتخابی لاروهای سنین چهارم و پنجم آلوده به غلظت زیرکشنده (LC_{30}) ماترین و باکتری *Btk* توسط زنبور *H. hebetor* در شرایط آزمایشگاهی بیان‌شده انجام شد. بدین منظور ظروف پتری (قطر ۹ و ارتفاع یک سانتی‌متر) توسط توری سیمی با قابلیت عبور زنبور پارازیتوئید و عدم عبور لاروهای سنین چهارم و پنجم میزبان به شش قسمت مساوی تقسیم شد و در هر بخش به طور متناوب یک لارو تیمار شده با ماترین، باکتری *Btk* و شاهد، به همراه ۵ گرم غذای مصنوعی (در هر پتری دو عدد لارو از هر تیمار) قرار داده شد. سپس یک زنبور ماده سه روزه، درون هر ظرف پتری رهاسازی شد. پس از ۲۴ ساعت تعداد لاروهای فلج شده، پارازیته و تعداد کل تخم‌های گذاشته شده زنبور و پس از ۱۰ روز تعداد زنبورهای خارج شده از شفیره میزبان شمارش و ثبت شدند. آزمایش‌ها برای هر سن لاروی در ۴۰ تکرار انجام شد و زنبورهای مرده از آزمایش کنار گذاشته شدند.

در آزمون غیرانتخابی از سه عدد ظرف پتری استفاده شد؛ در اولین پتری، شش لارو تیمار شده با ماترین، در پتری دوم، شش لارو تیمار شده با باکتری *Btk* و در پتری سوم شش لارو سالم قرار گرفت. سپس در هر پتری یک زنبور ماده جفت‌گیری‌کرده سه روزه رهاسازی شد؛ ظرف‌های پتری شماره‌گذاری و بقیه مراحل مانند آزمون انتخابی در ۱۵ تکرار انجام شد (Allahyari *et al*., 2020b).

تحلیل آماری

تیمارهای آزمایشی در قالب طرح کرت کامل تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. داده‌های مرگ و میر لاروهایی که از آزمایش زیست‌سنجی غلظت کشنده هر حشره‌کش به دست آمدند، توسط فرمول آبوت (Abbott, 1925) اصلاح و با آزمون پروبیت نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه قرار گرفتند (Finney, 1971). ترجیح میزبانی سنین مختلف لاروی توسط زنبور پارازیتوئید و همچنین، توانایی پارازیتوئید در تشخیص لاروهای آلوده به حشره‌کش‌ها از لاروهای غیرآلوده بعد از بررسی فرض همگنی و نرمال بودن داده‌ها با استفاده ازآزمون شاپیرو–ویلک و آزمون کولموگروف–اسمیرنوف در سطح خطای ۵ درصد با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) محاسبه و با آزمون توکی (Tukey's test) مقایسه شدند.

نتایج

ترجیح سنین لاروی میزبان

در بررسی ترجیح سنین لاروی میزبان توسط زنبور *H. hebetor*، تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد بین ترجیح سنین میزبان، توسط زنبور *H. hebetor* اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($F_{3, 8} = 210.185$, $P = 0.001$) (شکل ۱).

زیست‌سنجی ماترین و باکتری *Btk*

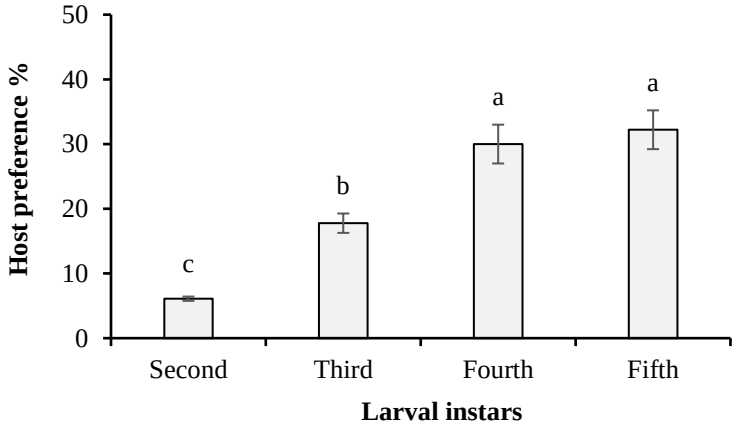
بر اساس نتایج آزمون پروبیت، غلظت‌های کشنده (LC_{50}) و زیرکشنده (LC_{30}) ماترین و باکتری *Btk* بر حسب پی‌پی‌ام روی لاروهای سنین چهارم و پنجم *A. kuehniella* در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- تجزیه پروبیت حاصل از تاثیر غذای مصنوعی تیمار شده با غلظت‌های مختلف باکتری *Bacillus thuringiensis* و ماترین (ppm) روی لاروهای سنین چهارم و پنجم *Anagasta kuehniella* پس از ۴۸ ساعت

Table 1. Probit analyses of the effect of artificial diet treated with different concentrations of Matrine and *Bacillus thuringiensis* (ppm) on the fourth and fifth instars larvae of *Anagasta kuehniella* after 48 hours

Larval stage	Treatment	*n*	Slope ± SE	LC_{30} (CI)*	LC_{50} (CI) *	X^2 (df)
4 th instar	Matrine	60	1.384 ± 0.17	28.086 (2.27 – 60.19)	67.192 (18.94 – 138.55)	**8.085 (3)**
	*Btk***	60	1.584 ± 0.23	423.851 (111.53 –692.77)	908.595 (526.81 –1966.13)	**5.597 (3)**
5 th instar	Matrine	60	1.389 ± 0.17	32.467 (3.20 – 67.17)	77.457 (25.09 – 160.14)	**7.772 (3)**
	Btk	60	1.698 ± 0.26	668.281 (7.33 – 1643.9)	1360.68 (683.65 – 2752)	**10.957 (3)**

* CI: confidence interval at 95% of probability of error. ** *Btk: Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki*



شکل ۱- مقایسه میانگین درصد ترجیح سنین لاروی میزبان توسط زنبور *Habrobracon hebetor* در سطح احتمال ۹۵ درصد با آزمون توکی. حروف مشابه بالای هر ستون نشان دهنده فقدان اختلاف معنی‌داری است.

Figure 1. Comparison of the mean percentage of host larval instars preference by *Habrobracon hebetor* at the 95% probability level with Tukey's test. Similar letters above each column indicate the absence of significant differences.

تاثیر غلظت زیرکشنده (LC_{30}) تیمارهای ماترین و باکتری *Btk* روی رفتار زنبور *H. hebetor* در لاروهای سنین چهارم و پنجم *A. kuehniella* در آزمون انتخابی

رفتار زنبور *H. hebetor* در مواجهه با لاروهای سنین چهارم و پنجم افستیا تیمار شده با دو حشره‌کش غیرشیمیایی مورد نظر نسبت به لاروهای سالم متفاوت بود. میانگین لاروهای فلج شده و پارازیته میزبان توسط زنبور *H. hebetor* در تیمار ماترین بیش‌ترین مقدار را داشت و تیمارهای باکتری و شاهد تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. در مقایسه میانگین تعداد تخم گذاشته شده زنبور روی لاروهای سنین چهارم و پنجم بین سه تیمار اختلاف معنی‌دار بود و بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار به‌ترتیب در تیمارهای ماترین و شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

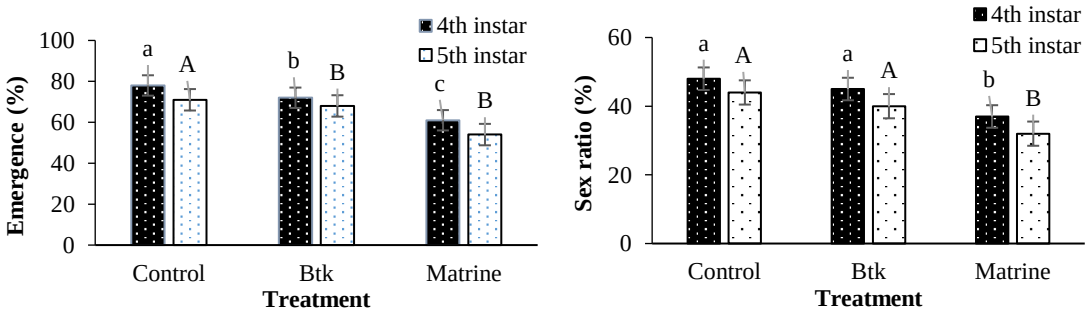
جدول ۲- میانگین (± خطای معیار) تعداد لارو فلج شده و پارازیته و تعداد تخم گذاشته‌شده توسط زنبور *Habrobracon hebetor* روی لاروهای سنین چهارم و پنجم *Anagasta kuehniella* سالم و تیمار شده با غلظت زیرکشنده (LC_{30}) ماترین و باکتری *Bacillus thuringiensis* در آزمون انتخابی

Table 2. The mean (± SE) paralyzed and parasitized larvae and the number of eggs laid by *Habrobracon hebetor* on healthy and treated fourth and fifth instar larvae of *Anagasta kuehniella* by sublethal concentration (LC_{30}) of Matrine and *Bacillus thuringiensis* in choice test

Treatment	4th instar larvae			5th instar larvae		
	No. of paralyzed larvae	No. of parasitized larvae	No. of eggs laid	No. of paralyzed larvae	No. of parasitized larvae	No. of eggs laid
Control	1.12 ± 0.10 [b]	0.81 ± 0.13 [b]	8.27 ± 0.06 [c]	1.34 ± 0.07 [b]	1.03 ± 0.01 [b]	8.71 ± 0.06 [c]
Btk *	1.34 ±0.07 [b]	1.01 ± 0.01 [b]	9.25 ± 0.06 [b]	1.55 ± 0.08 [b]	1.16 ± 0.04 [b]	9.64 ± 0.07 [b]
Matrine	1.72 ±0.07 [a]	1.41 ± 0.07 [a]	11.83 ± 0.06 [a]	2.02 ± 0.01 [a]	1.49 ± 0.07 [a]	12.25 ± 0.06 [a]
F (2, 117)	13.481	12.133	827.524	33.065	15.364	650.863
P	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

Means were compared by Tukey's test at the P<0.05. Similar letters above each column indicate the absence of significant differences. * *Btk: Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki*

در ارزیابی درصد ظهور حشرات کامل زنبور پارازیتوئید از لارو سن چهارم میزبان، بین تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($F_{2, 117} = 31.32$, $P = 0.001$) و بیشترین و کمترین مقدار به‌ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و ماترین بودT درصورتی‌که در لارو سن پنجم، بیش‌ترین درصد ظهور در تیمار شاهد مشاهده شد ($F_{2, 117} = 5.26$, $P = 0.006$) و بین تیمار باکتری و ماترین تفاوت معنی‌دار نبود. بیش‌ترین نسبت جنسی حشرات ماده خارج‌شده زنبور از لاروهای سنین چهارم و پنجم به کل زنبورهای پارازیتوئید نیز در تیمارهای شاهد و باکتری مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲- درصد ظهور و نسبت جنسی حشرات کامل *Habrobracon hebetor* از لاروهای سنین چهارم و پنجم *Anagasta kuehniella* سالم و تیمار شده با غلظت زیرکشنده (LC_{30}) ماترین و باکتری *Bacillus thuringiensis* در آزمون انتخابی. حروف مشابه بالای هر ستون نشان دهنده فقدان اختلاف معنی‌داری است. حروف کوچک و بزرگ به ترتیب مربوط به لاروهای سن چهارم و پنجم می‌باشد.

Figure 2. Emergence rate and sex ratio of adult *Habrobracon hebetor* from healthy and treated fourth and fifth instar larvae of *Anagasta kuehniella* by sublethal concentration (LC_{30}) of Matrine and *Bacillus thuringiensis* in choice test. Similar letters above each column indicate the absence of significant differences. The lowercase and uppercase letters related to the fourth and fifth instar larvae respectively. *Btk: Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki*

تاثیر غلظت زیرکشنده (LC_{30}) تیمارهای ماترین و باکتری *Btk* روی رفتار زنبور *H. hebetor* در لاروهای سنین چهارم و پنجم *A. kuehniella* در آزمون غیرانتخابی

نتایج مقایسه میانگین لاروهای فلج شده سنین چهارم و پنجم میزبان توسط زنبور پارازیتوئید نشان داد که بین تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. میانگین لاروهای پارازیت‌شده میزبان در تیمار شاهد بیش‌ترین و در تیمار ماترین کم‌ترین مقدار مشاهده شد و تیمار باکتری نیز با تیمارهای شاهد و ماترین تفاوت معنی‌داری نداشت. در-صورتی‌که از نظر میزان تخم گذاشته شده زنبور براکن روی سن چهارم میزبان، تیمار شاهد و ماترین به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار را داشتند، اما در لارو سن پنجم، بیش‌ترین مقدار تخم در تیمار شاهد مشاهده شد و بین تیمارهای باکتری و ماترین تفاوت معنی‌دار نبود (جدول ۳).

درصد ظهور حشرات کامل زنبور خارج شده از لاروهای سنین چهارم و پنجم نشانگر تفاوت معنی‌داری بین تیمارها بود ($F_{2, 42} = 6211.00$, $P = 0.001$ و $F_{2, 42} = 340.63$, $P = 0.001$). بین تیمارها از نظر درصد نسبت جنسی ماده به کل نیز تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($F_{2, 42} = 66.50$, $P = 0.001$ و $F_{2, 42} = 578.40$, $P = 0.001$) و تیمارهای شاهد و ماترین به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین درصد ظهور را داشتند (شکل ۳).

جدول ۳- میانگین (± خطای معیار) لاروهای فلج شده و پارازیته شده و تعداد تخم گذاشته شده *Habrobracon hebetor* روی لاروهای سنین چهارم و پنجم *Anagasta kuehniella* سالم و تیمار شده با غلظت زیرکشنده (LC_{30}) ماترین و باکتری *Bacillus thuringiensis* در آزمون غیرانتخابی

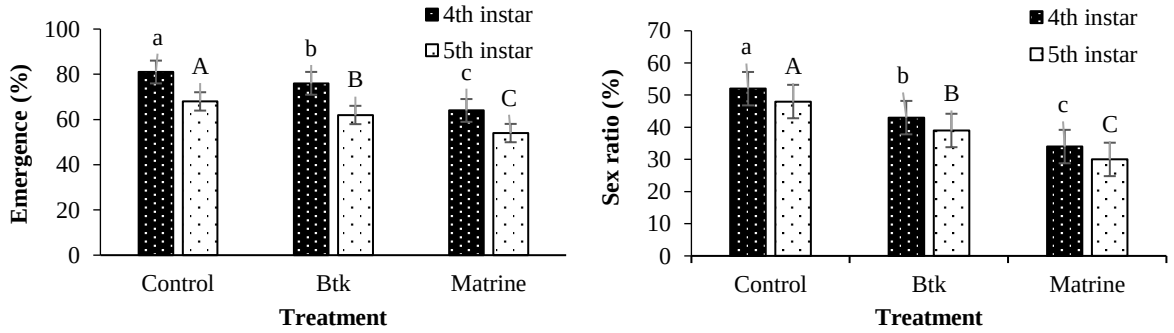
Table 3. The mean (± SE) paralyzed and parasitized larvae and the number of eggs laid by *Habrobracon hebetor* on healthy and treated fourth and fifth instar larvae of *Anagasta kuehniella* by sublethal concentration (LC_{30}) of Matrine and *Bacillus thuringiensis* in non-choice test

Treatment	4th instar larvae			5th instar larvae		
	No. of paralyzed larvae	No. of parasitized larvae	No. of eggs laid	No. of paralyzed larvae	No. of parasitized larvae	No. of eggs laid
Control	3.3 ± 0.12 [a]	2.2 ± 0.10 [a]	19.6 ± 0.12 [a]	3.4 ± 0.13 [a]	2.4 ± 0.13 [a]	21.3 ± 0.12 [a]
*Btk**	3.4 ±0.13 [a]	1.8 ± 0.09 [ab]	17.3 ± 0.12 [b]	3.6 ± 0.12 [a]	2.0 ± 0.06 [ab]	18.9 ± 0.65 [b]
Matrine	3.4 ±0.13 [a]	1.6 ± 0.12 [b]	15.4 ± 0.13 [c]	3.6 ± 0.13 [a]	1.9± 0.11 [b]	17.8 ± 0.10 [b]
F (2, 42)	0.262	6.125	6211.00	0.612	4.875	21.661
P	0.77	0.005	0.001	0.547	0.012	0.001

Means were compared by Tukey's test at $p<0.05$. Similar letters above each column indicate the absence of significant differences.* *Btk: Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki*

بحث

بر اساس فرضیه ترجیح – کارایی (Preference-performance hypothesis)، پارازیتوئیدها به صورتی تکامل یافته‌اند که ترجیح میزبانی در حشرات ماده بر پایه کارایی و عملکرد مطلوب نتاج استوار باشد (Gripenberg *et al*., 2010). با توجه به ارتباط مستقیم اندازه بدن میزبان و موفقیت تولیدمثلی پارازیتوئید از طریق افزایش طول عمر و باروری، بررسی‌ها نشان داده است که اندازه بدن بیش‌تر از سایر عوامل با کارایی زنبورهای پارازیتوئید در ارتباط است (Torfi *et al*., 2019). بررسی نتایج ترجیح سنین میزبانی توسط زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* در تحقیق حاضر نیز نشان داد که زنبورهای ماده، لاروهای سنین آخر *A. kuehniella* را برای پارازیته کردن ترجیح می‌دهند. در تحقیق فراگ و همکاران (Farag *et al*., 2012) نیز تمام سنین لاروی *Cadra cautella* (Walker) توسط زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* پارازیته شده است، اما سنین آخر لاروی برای تخم‌ریزی، بیش‌تر ترجیح داده شده‌اند. بررسی-های گوش و همکاران (Ghosh *et al*., 2022) نیز نشان داده است که زنبور پارازیتوئید *Bracon brevicornis* (Wesmael) سن پنجم لاروهای *Spodoptera litura* (Fabricius) و *S. frugiperda* (J. E. Smith) را بیش‌تر پارازیته می‌کند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.



شکل ۳- درصد ظهور و نسبت جنسی حشرات کامل *Habrobracon hebetor* از لاروهای سنین چهارم و پنجم *Anagasta kuehniella* سالم و تیمار شده با غلظت زیرکشنده (LC_{30}) ماترین و باکتری *Bacillus thuringiensis* در آزمون غیر انتخابی. حروف مشابه بالای هر ستون نشان دهنده فقدان اختلاف معنی‌داری است. حروف کوچک و بزرگ به ترتیب مربوط به لاروهای سن چهارم و پنجم می‌باشد.

Figure 3. Emergence and sex ratio percentage of adult *Habrobracon hebetor* from healthy and treated fourth and fifth instar larvae of *Anagasta kuehniella* by sublethal concentration (LC_{30}) of Matrine and *Bacillus thuringiensis* in non-choice test. Similar letters above each column indicate the absence of significant differences. The lowercase and uppercase letters related to the fourth and fifth instar larvae respectively. *Btk: Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki*

ماترین به عنوان حشره‌کش گیاهی برای کنترل آفات مختلف در محصولات گوناگون استفاده شده است. کارایی تلفیق حشره‌کش ماترین و کنه شکارگر *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans) در کنترل کنه‌های *Panonychus citri* (McGregor) و *Diaphorina citri* (Kuwayama) توسط پژوهشگران نشان داده شده است (Fang *et al*., 2017). همچنین، تأثیر حشره‌کش گیاهی ماترین روی شته سبز هلو نیز اثبات شده است (Yan *et al*., 2019). تحقیق حاضر نیز نشان داد که ماترین با غلظت‌های ۶۷/۱۹ و۷۷/۴۵ پی‌پی‌ام به‌ترتیب قادر به ایجاد ۵۰ درصد تلفات (LC_{50}) در جمعیت لاروهای سنین چهارم و پنجم شب‌پره مدیترانه‌ای آرد می‌باشد. در تحقیق زانادری و همکاران (Zanardi *et al*., 2015) مقدار LC_{50} ماترین روی لاروهای *S. frugiperda*، پس از ۳ روز، ۸۳۵/۶ پی-پی‌ام گزارش شد و نتایج نشان داده است که ماترین با خاصیت حشره‌کشی مناسب می‌تواند در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات مختلف از جمله راسته بال‌پولک‌داران مورد استفاده قرار گیرد. ماترین با غلظت ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر تلفات ۵۰ درصد در جمعیت *S. litura* را ایجاد می‌کند (Wu *et al*., 2019). در بررسی اثرات کشندگی ماترین روی تریپس گل غربی، *Frankliniella occidentalis* (Pergande) مقدار LC_{50} روی این آفت ۳۴/۹ میکرولیتر بر میلی‌لیتر به دست آمده است (Kordestani *et al*., 2021). تفاوت بین مقادیر LC_{50} در پژوهش‌های مختلف می‌تواند مربوط به نوع فرمولاسیون آفت‌کش گیاهی ماترین، نوع میزبان و یا شرایط آزمایش مورد استفاده باشد. از آن‌جاکه بعضی حشره‌کش‌های گیاهی و بیولوژیک می-توانند روی حشرات مفید اثرات سوء داشته باشند، بنابراین، برای استفاده از آن‌ها در تلفیق با پارازیتوئیدها، در مورد چگونگی استفاده و بررسی غلظت‌های زیرکشنده این حشره‌کش‌ها، نیاز به تحقیق بیش‌تر می‌باشد. از طرفی استفاده از غلظت زیرکشنده حشره‌کش‌ها روند افزایش مقاومت آفت به حشره‌کش را کاهش می‌دهد. از این‌رو در تحقیق حاضر اثرات زیرکشنده حشره‌کش گیاهی ماترین و

باکتری *Btk* روی لاروهای *A. kuehniella* در استفاده از چند عامل بیولوژیک و گیاهی هم‌زمان با زنبور پارازیتوئید، مورد بررسی قرار گرفت. در یک تحقیق پیشین، اثر متقابل *Bt* با پارازیتوئیدها روی لاروهای *S. littoralis* آلوده به *Bt*، تاثیر معنی داری روی درصد پارازیتیسم زنبور براکون داشته است (Abbas, 2020). امکان استفاده از دو عامل کنترل بیولوژیکی مهم، ویروس NPV و اندوپارازیت- *Microplitis pallidipes* (Szépligeti) در کنترل لاروهای *S. exigua* (Hübner) تایید شده است (Wan *et al*., 2019). غلظت زیرکشنده *Btk* (LC_{15} و LC_{35}) در تلفیق با اکتوپارازیت *H. hebetor* به منظور کنترل لاروهای *Helicoverpa armigera* (Hubner) مورد بررسی قرار گرفته و نتایج نشان داده است کاربرد هم‌زمان این عوامل بیولوژیک، سازگار بوده و به طور بالقوه میزان تاثیر آن‌ها را افزایش می‌دهد (Allahyari *et al*., 2020b). در تحقیق حاضر، غلظت زیرکشنده (LC_{30}) ماترین و *Btk* روی لارو سن چهارم شب‌پره مدیترانه‌ای آرد به‌ترتیب ۲۸/۰۸ و ۴۲۳/۸۵ پی‌پی‌ام و در لارو سن پنجم آن ۳۲/۴۶ و۶۶۸/۲۸ پی‌پی‌ام برآورد شد. امیرفنک و همکاران، غلظت زیر کشنده (LC_{25}) ماترین علیه شته مومی کلم *Brevicoryne brassica* (L.) را ۳۰/۱۱ میکرولیتر بر میلی‌لیتر محاسبه کرده‌اند (Amirfanak *et al*., 2023). اثرات زیرکشنده آزادیراختین و سایپرمترین به‌طور مستقیم روی کارایی زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* مورد بررسی قرار گرفته و نتایج نشان داده است که اثرات منفی حشره‌کش گیاهی آزادیراختین روی پارازیتوئید، کمتر از حشره‌کش شیمیایی سایپرمترین بود (Abedi *et al*., 2014). اثرات کشنده و زیرکشنده (LC_{25}) ماترین و چند حشره‌کش شیمیایی در تلفیق با سن شکارگر *Orius laevigatus* (Fieber) روی *F. occidentalis* مورد بررسی قرار گرفته و نتایج نشان داده است که ماترین اثر سوء کم‌تری روی ظرفیت تولید- مثلی و نرخ ذاتی رشد شکارگر دارد. از این‌رو در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفت بیان‌شده قابل استفاده می‌باشد (Kordestani *et al*., 2022). کاربرد هم‌زمان غلظت‌های زیرکشنده ماترین و آبامکتین همراه با سن شکارگر *Cyrtorhinus lividipennis* (Reuter) می‌تواند به عنوان یک استراتژی موثر و پایدار در مدیریت تلفیقی آفات برنج به‌کار رود (Wei *et al*., 2019). ترکیب قارچ‌های بیمارگر حشرات و حشره‌کش‌های طبیعی در برنامه مدیریت تلفیقی *S. litura* موثر است (Wu *et al*., 2019). نتایج پژوهشگران مختلف در کنترل آفات نشان داده است که کاربرد مستقیم حشره‌کش‌ها و زنبورهای پارازیتوئید، به دلیل تلفات میزبان در اثر حشره‌کش و کاهش تراکم میزبان، کارایی پارازیتوئید را کاهش می‌دهد (Oluwafemi *et al*., 2009). از این‌رو در تحقیق حاضر ابتدا لاروهای میزبان با غلظت زیرکشنده حشره‌کش‌ها تیمار شد و سپس در اختیار پارازیتوئید قرار گرفت تا رفتار زنبور پارازیتوئید در کاربرد هم‌زمان با آفت‌کش‌های گیاهی و میکروبی مشخص شود. بین لاروهای سنین چهارم و پنجم تیمار شده *با Btk* و لاروهای سالم از نظر ترجیح میزبانی توسط پارازیتوئیدهای ماده اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و زنبور پارازیتوئید، میزبان‌ها را به طور یکسان فلج و پارازیت کردند؛ به عبارتی پارازیتوئیدها هیچ علامت ناخوشایندی از لاروهای تیمار شده با *Btk* دریافت نمی‌کنند که این علائم ظاهراً با حرکت کند و کاهش وزن لاروهای تیمار شده مشخص می‌شود (Blumberg *et al*., 1997). میزبان‌هایی که با غلظت LC_{30} ماترین تیمار شده بودند، بیش‌تر از لاروهای تیمار شده با همان غلظت باکتری *Btk*، فلج و پارازیته شدند. در تحقیقی، لاروهای *H. armigera* با غلظت زیرکشنده (LC_{35}) باکتری *Btk* تیمار شده و زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* بر خلاف نتایج تحقیق حاضر، میزبان تیمار شده با باکتری *Btk* را به میزبان سالم ترجیح داد و میزبان‌های آلوده به طور معنی‌داری بیش‌تر از لاروهای تیمار شاهد فلج شدند (Allahyari *et al*., 2020b) که این تفاوت ممکن است مربوط به شرایط آزمایشی و نوع میزبان باشد. درآزمون غیرانتخابی تحقیق حاضر، زنبور پارازیتوئید، لاروهای تیمار شده با ماترین و *Btk* را به لاروهای سالم ترجیح نداد و بین گروه‌های میزبان اختلاف معنی‌داری از نظر فلج شدن وجود نداشت؛ اما میزان فلج کردن در این حالت بیش‌تر از حالت انتخابی بود و برعکس آزمون انتخابی زنبور ماده، لاروهای

تیمار شده با ماترین را کم‌تر پارازیته کرد. به عبارتی، زنبور براکون برای پارازیته کردن لاروهای ضعیف‌شده میزبان، انرژی و زمان کمتری مصرف می‌کند و لاروهای ضعیف شده در اثر تیمار با حشره‌کش قوی را برای پارازیته کردن بیش‌تر ترجیح می‌دهد. به نظر می‌رسد که در شرایط غیر انتخابی، صرف انرژی کم‌تر بوده و به صورت تصادفی انتخاب صورت می‌گیرد، اما در شرایط انتخابی انرژی مصرف شده دست‌یابی زیاد بوده، به همین خاطر نتایج در دو حالت متفاوت می‌باشد. بررسی‌های الله‌یاری و همکاران (Allahyari *et al*., 2020b) نیز نشان دادند در آزمون غیرانتخابی، بین لاروهای تیمار شده با غلظت LC_{15} باکتری *Btk* از نظر پارازیته کردن، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما در غلظت LC_{35} باکتری، اختلاف معنی‌دار وجود داشته است و میزبان‌های تیمار شده، بیش‌تر پارازیته شدند. در بررسی رفتار زنبور پارازیتوئید در آزمون انتخابی، میزان تخم‌ریزی زنبورهای ماده روی لارو سن چهارم و پنجم میزبان تیمار شده با ماترین بیش‌تر از تیمار *Btk* و شاهد بود که بیان‌گر تضعیف بیش‌تر لاروهای میزبان توسط ماترین نسبت به باکتری *Btk* می‌باشد. میزان تخم‌ریزی روی لارو سن پنجم در حالت غیرانتخابی، در لاروهای تیمار شده با ماترین و باکتری *Btk* در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت و بیش‌ترین میزان تخم‌ریزی در تیمار شاهد مشاهده شد. نتایج رضایی و همکاران (Rezaei *et al*., 2019) نشان داده است که میزبان تیمار شده با حشره‌کش‌های آبامکتین، پروتئوس و سیرینول اثرات سوء بر میزان تخم‌ریزی زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* داشتند و به طور معنی‌داری میزان تخم‌ریزی زنبور ماده را کاهش دادند. بررسی‌های تران و همکاران (Tran *et al*., 2004) نشان داده است که در میزبان‌های تیمار شده با ایمیداکلوپرید، پی‌متروزین و لوفنورون میزان تخم‌ریزی زنبور پارازیتوئید *Neochrysocharis formosa* (Westwood) کاهش یافته است. میزان ظهور حشرات کامل *H. hebetor* از میزبان‌های تیمار شده با حشره‌کش‌ها، در کنترل جمعیت آفات توسط پارازیتوئید حائز اهمیت می‌باشد. بنابراین، نتایج این تحقیق در ارزیابی کاربرد عوامل کنترل گیاهی و میکروبی ماترین و *Bt* روی زنبورهای پارازیتوئید *H. hebetor* و استقرار دشمنان طبیعی در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات می‌تواند مفید واقع شود. به عبارتی ترتیب زمانی استفاده از این ترکیبات در مدیریت تلفیقی آفات (IPM) به منظور جلوگیری از ایجاد اختلال بر کارایی پارازیتوئید، می‌بایست مد نظر قرار داده شود.

در تحقیق حاضر نتایج نشان داد که با وجود بزرگ‌تر بون اندازه لارو سن پنجم، میزان ظهور حشرات کامل زنبور پارازیتوئید در سن چهارم بیش‌تر بود که این امر می‌تواند ناشی از واکنش بازدارندگی از رشد پارازیتوئید به واسطه پیری (aging) لارو سن پنجم و نزدیک شدن به مرحله شفیرگی باشد. تحقیقات نوفملا و کفیر (Nofemela & Kfir, 2007) نشان داده است که میزان پارازیته شدن *Plutella xylostella* (L.) توسط زنبور پارازیتوئید *Diadegma mollipla* (Holmgren)، در آزمون انتخابی و غیرانتخابی، در سن سوم بیشتر از سن چهارم بوده است. به عبارتی زنبور پارازیتوئید، با وجود ترجیح میزبان بزرگ‌تر، سن چهارم (سن آخر) را کم‌تر پارازیته کرده است که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. نتایج پژوهش‌های استکا و همکاران (Stecca *et al*., 2017) نشان داده است که استفاده از سموم شیمیایی برای کنترل آفات در مزارع سویا میزان تخم‌ریزی زنبور پارازیتوئید *Telenomus podisi* (Ashmead) و میزان ظهورحشرات کامل زنبور را کاهش می‌دهد؛ درصورتی که حشره‌کش اسپینوزاد به عنوان یک عامل بیولوژیک تاثیر منفی روی کارایی این پارازیتوئید داشته است. خان و همکاران (Khan *et al*., 2017) اثر چند حشره‌کش، کنه‌کش و علف‌کش را روی مراحل نابالغ زنبور *Trichogramma pretiosum* (Riley) مورد بررسی قرار داده و نتایج نشان داده است که بعضی از حشره‌کش‌ها نظیر بوپروفزین اثر سوء معنی‌داری در مراحل نابالغ پارازیتوئید ندارند، در صورتی‌که آبامکتین و استامی-پرید دارای اثرات منفی روی این مراحل هستند. نتایج تحقیق پیزول و همکاران (Pizzol *et al*., 2012) نشان داده است که فاکتور سن و پدیده پیری، هم در زنبور پارازیتوئید و هم در میزبان آن، نقش مهمی در موفقیت نتاج

پارازیتوئید و کارایی کنترل بیولوژیک دارد. در مقایسه میزان ظهور زنبور پارازیتوئید از میزبان‌های تیمار شده با ماترین و باکتری *Btk* در هر دو سن چهارم و پنجم، کم‌ترین ظهور مربوط به ماترین بود. استفاده از حشره‌کش‌های ایمیداکلوپرید و فن‌پیروکسیمیت در تلفیق با زنبور پارازیتوئید *Trichogramma cacoeciae* (Marcha)، درصد ظهور حشرات کامل پارازیتوئید را کاهش داده است (Saber, 2011)، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. نسبت جنسی حشرات کامل خارج شده از میزبان‌های آلوده نیز در هر دو سن لاروی میزبان نشان داد که نسبت جنسی ماده به کل در تیمار ماترین نسبت به تیمار باکتری و شاهد کم‌تر می‌باشد؛ که می‌تواند ناشی از مرگ و میر بیش‌تر حشرات نر در مرحله تخم و جنینی بوده باشد. کاربرد دلتامترین به طور معنی‌داری اثر سوء روی ظهور زنبور پارازیتوئید *T. cacoeciae* نشان داده است که مشابه نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. اما کاربرد حشره‌کش‌های دلتامترین و سایفلوترین از گروه پیرتروئیدها، نسبت جنسی زنبور پارازیتوئید *T. cacoeciae* را تغییر نداده است (Bayram *et al*., 2010)، که با نتایج این تحقیق مغایرت دارد که این تفاوت ممکن است به دلیل نوع حشره‌کش، نحوه کاربرد و نوع پارازیتوئید باشد. پارامترهای انتخاب میزبان برای فلج کردن و پارازیته نمودن، اختلاف محسوسی بین لاروهای تیمار شده با ماترین و باکتری در مقایسه با شاهد نداشتند. یافته‌های این تحقیق نشان داد سم گیاهی ماترین و حشره-کش میکروبی *Btk* توانایی قابل توجهی در کنترل *A. kuehniella* دارند و در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات (IPM) می‌توانند به عنوان مدلی در جایگزینی برای آفت-کش‌های شیمیایی پر خطر علیه آفات مشابه مدنظر قرار گیرند. با این‌حال، با توجه به اثرات سوء این ترکیبات روی کارایی پارازیتوئید، استفاده هم‌زمان و تلفیق این ترکیبات با زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* پیشنهاد نمی‌شود.

References

Abbas, M. S. T. (2020). Interactions between *Bacillus thuringiensis* and entomophagous insects. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *30* (51), 2-9. **DOI:https://doi.org/10.1186/s41938-020-00255-8.**

Abedi, Z., Saber, M., Gharekhani, G. H., Mehrvar, A., & Kamita, S. G. (2014). Lethal and Sublethal Effects of Azadirachtin and Cypermethrin on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Economic Entomology*, *107*(2), 638-645. **DOI: http://doi.org/10.1603/EC13227.**

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, *18*(2), 265–267. **DOI:https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a.**

Adly, D., & Marzouk, W. M. (2019). Efficacy of the larval parasitoid, *Bracon hebetor* Say. (Hymenoptera: Braconidae) on the greater wax moth larvae, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) under laboratory and field conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control, 29*(87), 1-7. **DOI:https://doi.org/10.1186/s41938-019-0193-x.**

Ahmad, S., Ansari, M. S., & Moraiet, M. A. (2013). Demographic changes in *Helicoverpa armigera* after exposure to neem/azal (1% EC azadirachtin). *Crop Protection*, *50*, 30-36. **DOI:https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.03.012.**

Ahmad, S., Ansari, M. S., & Muslim, M. (2015). Toxic effects of neem based insecticides on the fitness of *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Corp Protection*, *68*, 72-78. **DOI:http://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.11.003.**

Ali, S., Zhang, C., Wang, Z., Wang, X., Wu, J., Cuthbertson, A. G. S., Shao, Z., & Qiu, B. (2017). Toxicological and biochemical basis of synergism between the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* and the insecticide matrine against *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Scientific Reports*, 7, 46558. **DOI:https://doi.org/10.1038/srep46558**.

Allahyari, R., Aramideh, Sh., Michaud, J. P., Safaralizadeh, M. H., & Rezapanah, R. (2020a). Negative life history impacts for *Habrobracon hebetor* (Hymneoptera: Braconidae) that develop in bollworm larvae inoculated with *Helicoverpa armigera* Nucleopolyhedrovirus. *Journal of Economic Entomology*, *113*(4), 1648-1655. **DOI: https://doi.org/10.1093/jee/toaa066.**

Allahyari, R., Aramideh, Sh., Michaud, J. P., Safaralizadeh, M. H., & Rezapanah, R. (2020b). Behavioral and developmental responses of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) to larvae of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) inoculated with various concentrations of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Bacillales: Bacillacae). *Journal of Insect Science*, *20*(6), 1-6. **DOI: https://doi.org/10.1093/jisesa/ieaa129.**

Amirfanak, V., Safavi, S. A., & Forouzan, M. (2023). Study on the life table parameters of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) influenced by sublethal concentrations of the matrine. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *45*(4), 19-35. (In Farsi). **DOI:https://org/10.22055/ppr.2022.17991.**

Ba, N. M., Baoua, I. B., Kabore, A., Amadou, L., Oumarou, N., Dabire-Binso, C., & Sanon, A. (2014). Augmentative on-farm delivery methods for the parasitoid *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) to control the millet head miner, *Heliocheilus albipunctella* (de Joannis) (Lepidoptera: Noctuidae), in Burkina Faso and Niger. *BioControl*, *59*, 689-696. **DOI: https://doi.org/10.1007/s10526-014-9613-8.**

Bahmani, N., Latifian, M., Ostovan, H., & Hesami, Sh. (2020). Pathogenic effects of *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis* on the population dynamics of *Ephestia kuehniella*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control, 30*, 94. **DOI:https://doi.org/10.1186/s41938-020-00285-2.**

Baker, B. P., Green, T. A., & Loker, A. J. (2020). Biological control and integrated pest management in organic and conventional systems. *Biological Control*, *140*, 104095. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104095.**

Bayram, A., Salerno, G., Onofri, A., & Conti, E. (2010). Lethal and sublethal effects of preimaginal treatments with two pyrethroids on the life history of the egg parasitoid *Telenomus busseolae*. *BioControl*, *55*(6), 697-710. **DOI: https://doi.org/10.1007/s10526-010-9288-8.**

Bernardi, D., Botton, M., Cunha, U. S., Bernardi, O., Malausa, T., Garcia, M. S., & Nava, D. E. (2013). Effects of azadirachtin on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and its compatibility with predatory mites (Acari: Phytoseiidae) on strawberry. *Pest Management Science*, *69*(1), 75-80. **DOI: https://doi.org/10.1002/ps.3364.**

Blumberg, D., Navon, A., Keren, S., Goldenberg, A., & Ferkovich, M. (1997). Interactions among *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), its larval endoparasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae), and *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology*, *90*, 1181-1186. **DOI:https://doi.org/10.1093/jee/90.5.1181.**

Cheng, X., Ye, J., He, H., Liu, Z., Xu, C., Wu, B., Xiong, X., Shu, X., Jiang, X., & Qin, X. (2018). Synthesis, characterization and in vitro biological evaluation of two matrine derivatives. *Scientific Reports*, *8*(1), 15686. **DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-018-33908-8.**

Fang, X. D., Ouyang, G. C., Lu, H. L., Guo, M. F., & Wu, W. N. (2017). Ecological control of citrus pests primarily using predatory mites and the biorational pesticide matrine. *International Journal of Pest Management*, *64*(3), 262-270. **DOI: https://doi.org/10.1080/09670874.2017.1394507**

Farag, M. M. A., Ahmed, S. S., & El-Husseini, M. M. (2012). Life history of *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) parasitizing *Cadra (Ephestia) cautella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) on dried date fruits. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *22*(1), 73-77.

Finney, D. J. (1971). Probit analysis, 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 333 pp.

Ghimire, M. N., & Phillips, T. W. (2014). Oviposition and reproductive performance of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) on six different pyralid host species. *Annals of the Entomological Society of America*, *107*, 809-817. **DOI:https://doi.org/10.1603/AN14046**.

Ghosh, E., Varshney, R., & Varshney, R. (2022). Performance of larval parasitoid, on two *Spodoptera* hosts: implication in bio-control of *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Pest Science*, *95*, 435-446. **DOI: https://doi.org/10.1007/s10340-021-01385-0**.

Gripenberg, S., Mayhew, P. J., Parnell, M., & Roslin, T. (2010) A meta-analysis of preference relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters*, *13*, 383–393. **DOI: https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01433. x.**

Heimpel, G. E., & Mills, N. (2017). Biological Control- Ecology and Applications. Cambridge University Press. 380 p. **DOI:https:// org/10.1017/9781139029117.**

Hoddle, M. S., & van Driesche, R. G. (2009). Biological control of insect pests. In: Resh, V.H., Cardé, R.T. (Eds.), *Encyclopedia of Insects, second ed. Academic Press, San Diego*, 91–100. **DOI:https:// org/10.1016/B978-0-12-374144-8.00148-X.**

Ibargutxi, M. A., Munoz D., Escudero I. R., & Caballero, P. (2008). Interactions between Cry1Ac, Cry2Ab, and Cry1Fa *Bacillus thuringiensis* toxins in the cotton pests *Helicoverpa armigera* (Hu¨ bner) and *Earias insulana* (Boisduval). *Biological Control*, 47(1), 89-96. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.07.003.**

Kabore, A., Ba, N. M., Dabire-Binso, C. L., & Sanon, A. (2017). Field persistence of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) following augmentative releases against the millet head miner, *Heliocheilus albipunctella* (de Joannis) (Lepidoptera: Noctuidae), in the Sahel. *Biological Control*, *108*, 64-69. **DOI:https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.03.001.**

Khan, M. A., & Ruberson, J. R. (2017). Lethal effects of selected novel pesticides on immature stages of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Pest Management Science, 73*(12), 2465-2472. **DOI: https://doi.org/10.1002/ps.4639.**

Kordestani, M., Mahdian, K., Baniameri, V., & Garjan, A. S. H. (2021). Lethal and sublethal effects of proteus, matrine, and pyridayl on *Frankliella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Environmental Entomology*, *50*(2), 1137-1144. **DOI:https://doi.org/10.1093/ee/nvab071.**

Kordestani, M., Mahdian, K., Baniameri, V., & Garjan, A. S. H. (2022). Proteus, matrine, and pyridalyl toxicity and their sublethal effects on *Orius laevigatus* (Hemiptera: Anthocoridae). *Journal of Economic Entomology*, *115*(2), 573-581. **DOI:https://doi.org/10.1093/jee/toab267.**

Mbata, G. N., & Warsi, S. (2019). *Habrobracon hebetor* and *Pteromalus cerealellae* as tools in post-harvest integrated pest management. *Insects*, *10*, 2–12. **DOI: https://doi.org/10.3390/insects10040085**.

Nofemela, R. S., & Kfir, R. (2007). *Diadegma mollipla* parasitizing *Plutella xylostella*: host instar preference and suitability. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *126*(1), 9-17. **DOI: https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2007.00632.x.**

Nouri-Ganbalani, G., Borzoui, E., Abdolmaleki, A., Abedi, Z., & Kamita, S. G. (2016). Individual and combined effects of *Bacillus thuringiensis* and Azadirachtin on *Plodia Interpunctella* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Insect Science*, *16*(1), 95, 1–8. **DOI: https://doi.org/10.1093/jisesa/iew086.**

Oluwafemi, A. R., Qiong Rao, Q., Wang, X., & Zhang, H. (2009). Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Habrobracon hebetor* during combined biological control of *Plodia interpunctella*. *Insect Science*, *16*, 409-416. **DOI:https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2009.01262. x.**

Pizzol, J., Desneux, N., Wajnberg, E., & Thiéry, D. (2012). Parasitoid and host egg ages have independent impact on various biological traits in a *Trichogramma species*. *Journal of Pest Science*, *85*(4), 489-496. **DOI:https://doi.org/10.1007/s10340-012-0434-1.**

Rezaei, M., Hesami, Sh., Gheibi, M., & Zohdi, H. (2019). Effect of lethal and sublethal concentrations of three insecticides on some growth parameters of parasitoid wasp, *Habrobracon hebetor* by contact and poisonous-host method. *Journal of Plant protection*, *33*(2), 159-170. **DOI: https://doi.org/10.22067/jpp.v33i2.77262.**

Robertson, J. L., Russell, R. M., Preisler, H. K., & Savin, N. E. (2007). Bioassays with arthropods. Boca Raton, CRC Press. 199 pp. (2nd ed.). CRC Press. **DOI: https://doi.org/10.1201/9781420004045.**

Saber, M. (2011). Acute and population level toxicity of imidacloprid and fenpyroximate on an important egg parasitoid, *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ecotoxicology*, *20*(6), 1476-1484. **DOI:https://doi.org/10.1007/s10646-011-0704-3.**

Shams-Salehi, S., Rajabpour, A., Rasekh, A., & Farkhari, M. (2016). Repellency and some biological effects of different ultrasonic waves on Mediterranean flour moth, *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research, 69*, 14-21. **DOI:https://doi.org/10.1016/j.jspr.2016.05.002.**

Singh, D., Singh, R. P., & Tripathi, C. P. M. (2016). Effect of host density on life table statistics of *Bracon hebetor* Say, 1836 (Hymenoptera: Braconidae). *Tropical Zoology*, *29*(1), 44-51. **DOI:https://doi.org/10.1080/03946975.2016.1145399.**

Stecca, C. S., Bueno, A. F., Pasini, A., Silva, D. M., Andrade, K., & Zirondi Filho, D. M. (2017). Impact of insecticides used in soybean crops to the egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygastridae). *Neotropical Entomology*, *47*(2), 281-291. **DOI: https://doi.org/10.1007/s13744-017-0552-9.**

Taffar, A., Yeliz-touiker, S., Bendjedid, H., & Soltani, N. (2021). Evaluation of azadirachtin, a biopesticides, on growth, development and cuticle secretion of Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Journal of Entomological Research, 45*(3), 436-443. **DOI: https://doi.org/10.5958/0974-4576.2021.00068.2.**

Torfi, E. T., Rasekh, A., Mossadegh, M. S., & Rajabpoor, A. (2019). Host stage preference of *Aenasius bambawalei* (Hymenoptera: Encyrtidae), the parasitoid of cotton mealy bug, *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae), under choice and no-choice access. *Journal of Entomological Society of Iran, 39* (3), 241-254. (In Farsi). **DOI: https://doi.org/10.22117/jesi.2019.126717.1314.**

Tran, D. H., Takagi, M., & Takasu, K. (2004). Effects of selective insecticides on host searching and oviposition behavior of *Neochrysocharis formosa* (Westwood) (Hymenoptera: Eulophidae), a larval parasitoid of the *American serpentine* leaf miner. *Applied Entomology and Zoology*, *39*(3), 435-441. **DOI: https://doi.org/10.1303/aez.2004.435.**

Wan, N. F., Yang, J. H., Zhang, J. Y., Wang, Y. J., Chen, X., Ji, Y., & Jiang, J. X. (2019). Prior experiences of endoparasitoids affect their ability to discriminate NPV-infected from non-infected caterpillars. *Biological Control*, *128*, 64-75. **DOI:https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.09.013.**

Wei, D., Yao, L., Jun, Z., Lin-quan, G., Guo-qing, Y., & Fang, L. (2019). Selectivity and sublethal effects of some frequently-used biopesticides on the predator *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter (Hemiptera: Miridae). *Journal of Integrative Agriculture*, *18*(1), 124-133. **DOI:https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61845-8.**

Wu, J., Yu, X., Wang, X., Tang, L., & Ali, S. (2019). Matrine enhances the pathogenicity of *Beauveria brongniartii* against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Frontiers in Microbiology*, *10*, 1812. **DOI:https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01812.**

Yan, S., Hu, Q., Li, J., Chao, Z., Cai, C., Yin, M., Du, X., & Shen, J. (2019). A star polycation acts as drug nanocarrier to improve the toxicity and persistance of botanical pesticides. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, *7*, 17406-17413. **DOI: https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b04567.**

Yuan, J., Lu, L. Z., & Cong, B. (2004). Biological activity of alkaloids from *Sophora flavescens* Ait to pests. *Pesticides*, *16*, 284-287. **DOI:https://doi.org/10.1080/14786419.2010.533665.**

Zanardi, O. Z., Ribeiro, L. P., Ansante, T. F., Santos, M. S., Bordini, G. P., Yamamoto, P. T., & Vendramim, J. D. (2015). Bioactivity of a matrine-based biopesticide against four pest species of agricultural importance. *Crop Protection, 67*, 160-167. **DOI:https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.10.010.**

Plant Pest Research
2024- 13 (4): 1-15

Open access
doi: 10.22124/iprj.2024.25871.1540
pISSN: 2322-2409
eISSN: 2538-6123

Research paper

Efficacy of the parasitoid wasp, *Habrobracon hebetor* in integrating with Matrine and *Bacillus thuringiensis* in the control of *Anagasta kuehniella*

M. Azimi[1], Sh. Aramideh[2*], Sh. Mirfakhraie[3], A. Hosseinzadeh[4] and J. P. Michaud[5]

1, 2 & 3. Department of Plant Protection, Urmia University, Urmia, Iran, 4. Department of Plant Protection, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, Iran, 5. Department of Entomology, Kansas State University, Agricultural Research Center-Hays, USA

1. 0000-0001-5227-5725, 2. 0000-0003-4220-6165, 3. 0000-0003-1951-0214, 4. 0000-0003-4277-3119, 5. 0000-0003-4277-3119

(Received: October 25, 2023- Accepted: January 15, 2024)

Abstract

In this research, the efficiency of the parasitoid wasp, *Habrobracon hebetor* (Say) in integrated with Matrine and *Bacillus thuringiensis* (Berliner) subsp. *Kurstaki* (*Btk*) against *Anagasta kuehniella* (Zeller), was investigated. Lethal and sublethal concentrations (LC_{30}) of Matrine and *Btk* were determined by bioassay method on host larvae. To evaluate the preference of the host larval instars by the parasitoid, different larval instars were provided for parasitoid and the rate of parasitism was determined. The fourth and the fifth instar larvae of the host were treated with sublethal concentrations of Matrine and *Btk* then were provided for parasitoid in choice and non- choice conditions. The rate of paralysis, parasitism, egg-laying, emergence percentage and sex ratio of release wasps were determined. The results showed that female parasitoid preferred the fourth and fifth instar larvae of the host for parasitism. In the choice test, Matrine-treated larvae were more preferred by female parasitoid while in non-choice test, the highest amount of parasitism and egg-laying was related to the control treatment. The emergence percentage of adult wasps and their sex ratio (Female/Total), obtained from Matrine-treated fourth and fifth instar larvae, were 61 and 54% in the choice and 61 and 54% in the non-choice tests. The results showed that Matrine and *Btk* have significant potential in controlling of *A. kuehniella*. However, due to the sublethal adverse effects of these control agents on the efficiency of the parasitoid, simultaneous use of them with the parasitoid wasp, *H. hebetor* is not recommended.

Key words: Biological control, host preference, integrated control, Mediterranean flour moth, sub-lethal effect

* Corresponding author: sh.aramideh@urmia.ac.ir

CC BY