بسم الله الرحمن الرحيم

ت

دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده کشاورزی

ارزیابی آزمایشگاهی میزان پارازیتیسم تخم پروانه مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Lep. : Gelechiidae) توسط چند گونه زنبور *Trichogramma* spp.

پایان‌نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی

نیلوفر چمانی

اساتید راهنما

دکتر نفیسه پورجواد
دکتر جهانگیر خواجه‌علی

۱۳۹۳

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی خانم نیلوفر چمانی

تحت عنوان

ارزیابی آزمایشگاهی میزان پارازیتیسم تخم پروانه مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Lep. : Gelechiidae) توسط چند گونه زنبور *Trichogramma* spp.

در تاریخ ۹۳/۱۰/۲۳ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای پایان‌نامه	دکتر نفیسه پورجواد
۲- استاد راهنمای پایان‌نامه	دکتر جهانگیر خواجه‌علی
۳- استاد مشاور پایان‌نامه	دکتر امیر مساح
۴- استاد داور	دکتر مسعود بهار
۵- استاد داور	دکتر حسن کریم مجنی
سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر محمد مهدی مجیدی

تقدیر و تشکر

به نام خداوندی که داشتن او جبران همه نداشته‌های من است

سپاس و ستایش مخصوص اوست که از ازل تا ابد قابل اعتمادترین راهنما و بی منت ترین راهگشاست.

او را بینهایت شاکرم که به من توفیق عنایت فرمود تا به انجام رسانم هرآنچه را که با یادش آغاز کردم.

در طی انجام این پایان نامه همواره رهین منت انسان هایی شریف هستم، زحمات اساتید راهنمای عزیز و بزرگوارم سرکار خانم دکتر نفیسه پورجواد و جناب آقای دکتر جهانگیر خواجه علی، که با صبر و حوصله بسیار مرا در مسیر این پایان نامه هدایت فرمودند و روح فعالیت را در من برانگیختند. همچنین از استاد مشاور گرانقدر جناب آقای دکتر امیر مساح سپاسگزارم. از اساتید ارجمند، آقایان دکتر مسعود بهار و دکتر حسن کریم مجنی که زحمت باز خوانی و داوری این پایان نامه را تقبل نمودند صمیمانه قدردانی می نمایم.

سپاس بیکران از پدر و مادر عزیزم که به من چگونه زیستن را آموختند، مشوق راه دانشم بودند و اکنون نیز وجودشان استوار کننده قدم هایم است و همچنین زیباترین واژه های سپاسم تقدیم او که با شکوه ترین دوران زندگی ام را در کنارش سپری می کنم. او که اسوه سبزترین فداکاری هاست.

از زحمات کارشناس آزمایشگاه گیاه پزشکی جناب آقای مهندس رخشانی، سرکار خانم مهندس طلایی و تکنسین آزمایشگاه جناب آقای رحمتی، سپاسگزارم.

از دوست های خوبم مهرنوش شکوهی، سمیرا احمدی، سمانه سیاپوش و زهرا فاطمی که مرا در مسیر این کار صمیمانه همراهی نمودند، قدردانی و تشکر مینمایم. نام های ذکر شده، مجموعه ای قلم نوشته اند که هیچ ترتیبی بر آن نمی توان نهاد، اگر نامی در آن نیست حکایت از نبودن یاد نیست و خورده بر قلم می رود نه بر من.

نیلوفر چمانی

زمستان ۹۳

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به

عزیزانی که هیچ گاه پاسخگوی زحمات بی دریغشان نخواهم بود

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده ۱

فصل اول: مقدمه وبررسی منابع

۱-۱- کلیات و اهداف ۲

۱-۲- گوجه فرنگی ۵

۱-۳- پروانه ی مینوز گوجه فرنگی *Tuta absoluta* ۶

۱-۳-۱- شکل شناسی ۶

۱-۳-۲- زیست شناسی ۶

۱-۳-۳- اهمیت اقتصادی و نحوه خسارت ۸

۱-۳-۴- کنترل بیولوژیک پروانه مینوز گوجه فرنگی ۸

۱-۴- طبقه بندی زنبورهای تریکوگراما ۱۰

۱-۴-۱- خانواده ی Trichogrammatidae ۱۰

۱-۴-۲- جنس *Trichogramma* ۱۰

۱-۵- میزبان های زنبورهای جنس *Trichogramma* ۱۱

۱-۶- زنبورهای جنس *Trichogramma* در ایران ۱۱

۱-۷- زیست شناسی زنبورهای جنس *Trichogramma* ۱۲

۱-۸- رفتار زنبور تریکوگراما ۱۳

۱-۹- کاربرد زنبور های تریکوگراما در کنترل آفات ۱۴

۱-۱۰- روند استفاده از زنبور تریکوگراما در ایران ۱۵

۱-۱۱- پرورش انبوه زنبورهای تریکوگراما ۱۷

۱-۱۲- ویژگی های مهم زیستی زنبور تریکوگراما جهت ارزیابی کارایی آنها ۱۸

۱-۱۲-۱- باروری ۱۸

۱-۱۲-۲- طول عمر ۱۹

۱-۱۲-۳- نسبت جنسی ۲۰

۱-۱۳- جمعیت های ماده زای زنبور های جنس تریکوگراما ۲۱

۱-۱۴- اهمیت جمعیت های ماده زا در برنامه های کنترل بیولوژیک ۲۳

۱-۱۵- اهمیت انتخاب و ارزیابی توانایی ها و محدودیت های بیولوژیک جمعیت/گونه ها در شرایط آزمایشگاهی ۲۵

۱-۱۵-۱- ارزیابی جمعیت ها با استفاده از جداول زندگی-باروری..... ۲۵
۱-۱۵-۲- ارزیابی جمعیت ها با استفاده از واکنش تابعی..... ۲۷
فصل دوم: مواد و روش ها
۲-۱- تهیه ی جمعیت های زنبور مورد استفاده در آزمایش. ۳۰
۲-۲- شناسایی گونه های جنس تریکوگراما..... ۳۰
۲-۲-۱- روش تشخیص مرفولوژیک.. ۳۰
۲-۲-۲- روش تشخیص مولکولی..... ۳۲
۲-۳- پرورش حشرات..... ۳۵
۲-۳-۱- پرورش پروانه ی بید آرد *Ephestia kuehniella Zeller* (Lep:. Pyralidae)..... ۳۵
۲-۳-۲- پرورش تریکوگراما. ۳۶
۲-۳-۳- پرورش پروانه مینوز گوجه فرنگی. ۳۶
۲-۴- پرورش گوجه فرنگی..... ۳۷
۲-۵- بررسی ویژگیهای جدول زندگی چهار جمعیت زنبور تریکوگراما بر روی تخم پروانهی بید آرد ۳۸
۲-۶- بررسی میزان پارازیتیسم تخم پروانه ی مینوز گوجه فرنگی توسط چهار جمعیت زنبور تریکوگراما در شرایط آزمایشگاه ۴۰
۲-۷- بررسی میزان پارازیتیسم تخم پروانه ی مینوز گوجه فرنگی در قفس و شرایط گلخانه ۴۱
۲-۸- بررسی واکنش تابعی چهار جمعیت زنبور تریکوگراما بر روی تخم پروانه بید آرد..... ۴۱
۲-۹- تجزیه و تحلیل داده ها..... ۴۲
فصل سوم: نتایج و بحث
۳-۱- شناسایی گونه ها..... ۴۴
۳-۲- ویژگیهای جدول زندگی جمعیت های زنبور تریکوگراما..... ۴۶
۳-۳- میزان پارازیتیسم تخم پروانه ی مینوز گوجه فرنگی در شرایط آزمایشگاه ۵۲
۳-۴- بررسی میزان پارازیتیسم تخم پروانه ی مینوز گوجه فرنگی توسط جمعیت های مختلف زنبور تریکوگراما در قفس و شرایط گلخانه ۵۴
۳-۵- واکنش تابعی چهار جمعیت زنبور تریکوگراما بر روی تخم پروانه بید آرد..... ۵۵
فصل چهارم: نتیجه گیری کلی
۴-۱- پیشنهادات ۵۹
فصل چهارم: نتیجه گیری کلی
منابع

فهرست اشکال

شکل ۱-۱- مراحل مختلف زندگی پروانه مینوز گوجه فرنگی (الف- تخم، ب- لارو، ج- شفیره و د- حشره کامل) ۷
شکل ۱-۲- نحوه خسارت پروانه مینوز گوجه فرنگی به برگ (الف) و میوه (ب) گیاه گوجه فرنگی ۸
شکل ۱-۳- نمودار روند تولید زنبور تریکوگراما در طول سال های اجرا (منبع: سایت سازمان حفظ نباتات کشور) ۱۶
شکل ۱-۴- سطوح رهاسازی زنبور تریکوگراما در مزارع گوجه فرنگی کشور(برگرفته از عطاران و دادپور [۱۲]) ۱۷
شکل ۲-۱- الف) قیف های حاوی حشرات بالغ بید آرد به منظور تخمگیری و ب) ظرف حاوی لاروها و حشرات بالغ بید آرد تازه خارج شده از شفیره در انکوباتور ۳۶
شکل ۲-۱ مشخصات زادآوری وشاخک نردرجنس ۳۲
شکل ۲-۲- سینی های نشا و گلدان های گوجه فرنگی استفاده شده در پرورش پروانه مینوز گوجه فرنگی و آزمایشات ... ۳۸
شکل ۲-۳- الف) کارت حاوی تخم بید آرد شمارش شده و ب) لوله های آزمایش حاوی کارت و زنبور تریکوگراما و ج) لوله های آزمایش حاوی تخم های پارازیته شده در انکوباتور ۳۹
شکل ۲-۴- الف)ویال حاوی برگ گوجه فرنگی که حاوی تخم پروانه مینوز گوجه فرنگی بود و ب) ظرف های پلاستیکی مورد استفاده در آزمایش حاوی ویال همراه با برگ گوجه فرنگی و زنبور تریکوگراما ۴۰
شکل ۲-۵- قفس ها و گلدان های آماده برای رهاسازی تریکوگراما ۴۱
شکل ۳-۱- باندهای مورد مشاهده مربوط به قطعه ITS2 می باشد که از سمت راست به چپ متعلق به گونه های W^{+} *T. brassicae* (۳)، *T. sp* (۴)، *T. evanescens* (۵) و W^{-} *T. brassicae* (۶) است.....۴۶
شکل ۳-۲- نرخ بقا ویژه سن (L_x) مربوط به چهار گونه/ جمعیت از جنس *Trichogramma* ۵۰
شکل ۳-۳- تعداد نوزاد دختر ویژه سن به ازای هر روز (m_x) مربوط به چهار جمعیت از جنس *Trichogramma* ۵۰
شکل ۳-۴- الف)نمودار واکنش تابعی مربوط به جمعیت W^{+}*T. barassicae*، ب) نمودار واکنش تابعی مربوط به جمعیت ۵۷

فهرست جداول

جدول ۲-۱- مواد تشکیل دهنده واکنش PCR در حجم ۵۰ میکرولیتر ۲۶
جدول ۲-۲- توالی مربوط به آغازگرهای استفاده شده و اندازه قطعات حاصل از آنها پس از PCR..... ۲۶
جدول ۳-۱- میانگین (± خطای معیار) پارامترهای جدول زیستی باروری چهار جمعیت زنبور تریکوگراما ۳۷
جدول ۳-۲- میانگین (± خطای معیار) ویژگیهای زیستی چهار جمعیت زنبور تریکوگراما..... ۴۰
جدول ۳-۳- تاثیر چهار جمعیت تریکوگراما و فاصله زمانی از شروع آزمایش بر روی (± خطای معیار) درصد پارازیتیسم تخم پروانه مینوز گوجه فرنگی در شرایط آزمایشگاه..... ۴۲
جدول ۳-۴- میانگین (± خطای معیار) پارازیتیسم تخم پروانه مینوز گوجه فرنگی توسط جمعیت های زنبور تریکوگراما در سه روز متوالی در شرایط آزمایشگاه..... ۴۲
جدول ۳-۵- تاثیر چهار گونه/جمعیت تریکوگراما و موقعیت تخم میزبان بر روی (± خطای معیار) درصد پارازیتیسم تخم پروانه مینوز گوجه فرنگی در شرایط گلخانه ای ۴۳
جدول ۳-۶- واکنش تابعی چهار جمعیت تریکوگراما روی تخم پروانه بید آرد ۴۴

چکیده

آفت مهاجم پروانه مینوز گوجه فرنگی(*Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae اخیراً وارد ایران شده و به سرعت در تمام مناطق گوجه فرنگی کاری اعم از مزرعه و گلخانه گسترش یافته است و در حال حاضر به عنوان مهمترین آفت گوجه فرنگی در کشور مطرح می باشد. یکی از روش های کنترل پروانه مینوز گوجه فرنگی که امروزه در کشورهای خاستگاه آن و همچنین اروپا مورد توجه روزافزون می باشد کنترل بیولوژیک آن با استفاده از زنبورهای پارازیتوئید جنس :.Hym) (Trichogrammatidae Trichogramma علیه مرحله تخم آفت در کشت های باز و گلخانه است. در این تحقیق چهار جمعیت از زنبورهای پارازیتوئید جنس *Trichogramma* جمع آوری و با استفاده از خصوصیات مرفولوژی و توالی یابی منطقه ITS2 شناسایی شدند. این جمعیت ها شامل دو جمعیت از گونه *T. brassicae* که یکی از آنها به طور کامل به باکتری *Wolbachia* آلوده بود، یک جمعیت از گونه *T. evanescence* و یک جمعیت از گونه .*T* sp. بود. به منظور ارزیابی پتانسیل جمعیت های مختلف زنبور تریکوگراما برای کنترل پروانه مینوز گوجه فرنگی، چهار آزمایش مستقل طراحی شد. در آزمایش اول خصوصیات زیستی و پارامترهای رشد جمعیت در قالب جدول زندگی باروری بر روی میزبان آزمایشگاهی *Ephestia kuehniella* در شرایط دمایی ۱±۲۵ درجه‌ی سلسیوس ، دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۱۰±۷۰ درصد بررسی شد. نتایج نشان داد بین ویژگی‌های زیستی و پارامترهای چهار جمعیت اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری وجود دارد، بطوریکه در مقایسه جمعیت ها با در نظر گرفتن صفاتی مانند میزان مرگ و میر قبل از بلوغ، تعداد تخم های پارازیته شده، درصد ظهور حشرات کامل، نرخ ذاتی رشد، نرخ خالص افزایش جمعیت و میانگین طول یک نسل،گونه .*T* sp. و پس از آن گونه *T. evanescence* بالاترین کارایی را نشان داد. همچنین مشخص شد که آلودگی به باکتری *Wolbachia* در زنبوران متعلق به گونه *T. brassicae* می تواند تاثیر مثبت بر میزان نرخ ذاتی رشد و نرخ خالص افزایش جمعیت داشته باشد. در آزمایش دوم میزان پارازیتیسم تخم پروانه مینوز گوجه فرنگی بر روی برگ گوجه فرنگی و در شرایط آزمایشگاهی در سه روز اول عمر زنبوران ماده توسط جمعیت های مختلف بررسی شد. نتایج نشان داد که گونه *T. evanescens* بیشترین میزان پارازیتیسم در طول سه روز را داشته است. همچنین بین روز ها در میزان پارازیتیسم تخم پروانه مینوز گوجه فرنگی اختلاف معنی داری وجود داشت، بطوریکه بیشترین میزان پارازیتیسم در روز اول عمر زنبوان ماده اتفاق افتاد اما اثر متقابل جمعیت و روز معنی داری نشد. از آنجا که یکی از معیارهای مهم در ارزیابی توانایی دشمنان طبیعی، واکنش آنها به تراکم های مختلف میزبان است در آزمایش سوم توانایی پارازیتیسم جمعیت های مختلف زنبور در پاسخ به تراکم های مختلف میزبان (هفت تراکم از تخم پروانه بید آرد) در قالب واکنش های تابعی و در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه داده ها نشان داد که واکنش تابعی هر چهار جمعیت نسبت به تراکم های مختلف تخم میزبان از نوع سوم می باشد. در آزمایش چهارم، توانایی پارازیتیسم جمعیت‌های مختلف زنبور بر روی تخم پروانه مینوز گوجه فرنگی بر روی بوته‌های گوجه فرنگی در شرایط قفس درگلخانه بررسی شد. تفاوت‌های مشاهده شده میان جمعیت های مختلف زنبور در شرایط آزمایشگاهی در آزمایش قفس مشاهده نشد و هر چهار جمعیت کارایی یکسانی را در کنترل پروانه مینوز گوجه فرنگی نشان دادند ، بطوریکه همه آنها حدود شش درصد تخم را پارازیته کردند. تفاوت مشاهده شده بین نتایج آزمایشگاهی و نتایج شبه گلخانه ای ممکن است به دلیل عوامل غیر زنده و زنده دیگری بویژه حضور میزبان گیاهی باشد که بر روی رفتار جستجوگری و کارایی زنبورهای تریکوگراما تاثیرگذار است.

کلمات کلیدی: جدول زندگی/ باروری، واکنش تابعی، دشمن طبیعی، کنترل بیولوژیک، آفت مهاجم

فصل اول
مقدمه و بررسی منابع

۱-۱- کلیات و اهداف

همواره تولید محصولات کشاورزی سالم و عاری از بقایای سموم مورد توجه تولید کنندگان و مصرف کنندگان این محصولات می‌باشد که در این راستا مبارزه بیولوژیکی با آفات به منظور کاهش مصرف آفت‌کش‌ها نقش بسزایی دارد. در بین مجموعه غنی حشرات حشره‌خوار که می‌توانند به عنوان عامل کنترل‌بیولوژیک‌استفاده شوند، زنبورهای پارازیتویید *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) به دلیل گسترش جهانی، کارایی بالا، دارا بودن تکنولوژی تولید انبوه و وسعت کاربرد، بسیار حائز اهمیت هستند [۱۱۸]. تاکنون زنبورهای پارازیتوئید جنس *Trichogramma* به عنوان مهمترین عامل کنترل بیولوژیک حشرات زیان آور، خصوصاً آفات پروانه‌ای مزارع و باغ‌ها، بیشتر از سایر عوامل کنترل بیولوژیک استفاده شده‌اند. این زنبورها سالانه در بیش از ۳۲ میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی و جنگل‌ها و در بیش از ۴۰ کشور به منظور کنترل آفات مهم کشاورزی رهاسازی می‌شوند [۵۸]. از جمله مزایای استفاده از این زنبورها، امکان تکثیر و تولید آسان و اقتصادی، کاهش هزینه کنترل آفات، کاهش اثرات زیانبار سموم شیمیایی، پارازیته کردن و از بین بردن میزبان‌ها در مرحله قبل از وارد آوردن خسارت

(مرحله تخم) و بالاخره کنترل بسیاری از آفات مهم بواسطه پلی‌فاژی آنها می‌باشد [۵۸]. اگر چه استفاده از زنبورهای تریکوگراما در ابتدا ساده به نظر می‌رسد اما کنترل موثر آفات به وسیله این پارازیتویید به عوامل متعددی همچون گونه و حتی جمعیت تریکوگرامای مورد استفاده، کیفیت زنبور تریکوگرامای تولیدی، زمان، تعداد و روش رهاسازی و نیز به روابط متقابل و پیچیده میان پارایتویید، آفت، محصول و شرایط محیطی بستگی دارد [۴]. ویژگی‌هایی نظیرمیانگین طول عمر زنبور پارازیتویید، میزان پارازیتیسم و نسبت جنسی، از پارامترهای تعیین کیفیت در تولید این زنبور می‌باشند [۴]. موفقیت در رهاسازی زنبور-های تریکوگراما وابسته به آگاهی از ویژگی‌ها و خصوصیات زیستی گونه‌های پارازیتوئید یا جمعیت‌های مورد استفاده و تعامل آن‌ها با یک میزبان خاص است [۳۱]. به‌کارگیری زنبور تریکوگراما درایران از اوایل دهه‌ی ۶۰ در مبارزه با آفاتی همچون ساقه‌خوار برنج، کرم ساقه‌خوار اروپایی ذرت و کرم قوزه پنبه آغاز گردید [۹و۸] و در حال حاضر آفات دیگری نظیر کرم گلوگاه انار و کرم سیب را نیز در سطح محدود زیر پوشش قرار داده است [۱۱]. تنوع شرایط آب و هوایی و وجود میزبان‌های متعدد برای این زنبور، همواره انتخاب گونه و اکوتیپ مناسب زنبور تریکوگراما با توجه به شرایط مزرعه و هم‌چنین میزبان خاص را در راس برنامه‌های کاربردی کنترل بیولوژیک با استفاده از این زنبورها قرار داده است [۱۱].

پروانه مینوز برگ گوجه فرنگی(*Tuta absoluta*) یکی از مخرب‌ترین آفات گوجه فرنگی است که خاستگاه آن آمریکای جنوبی می باشد [۷۱،۶۰،۵۷،۵۳،۳۴،۳۱و۷۹] و در حال حاضر یک گونه‌ی مهاجم مهم در حوزه مدیترانه است [۳۱]. میزبان ارجح این آفت، گوجه فرنگی است اما میزبان‌های مختلفی از جمله سیب‌زمینی، فلفل شیرین و تنباکو نیز دارد و بطور کلی می‌تواند بر روی گیاهان خانواده‌ی Solanaceae تغذیه، رشد و نمو و تولید مثل نماید [۳۴]. اگر اقدامی جهت کنترل این آفت صورت نگیرد می‌تواند ۸۰ تا ۱۰۰ ٪ محصول را هم در کشت گلخانه‌ای و هم در کشت فضای باز از بین ببرد. این آفت برای اولین بار در ایران در سال ۱۳۸۹ از استان آذربایجان‌غربی گزارش شد و متعاقب آن در سایر استان-های غربی و مرکزی از جمله استان اصفهان نیز مشاهده گردید [۳۴]. روش اصلی کنترل *Tuta absoluta* متکی بر استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی است [۵۳و۶۰]. اما کنترل شیمیایی این آفت با توجه به زیست‌شناسی آن (رفتار تغذیه لارو به صورت مینوز) مشکل است. هم‌چنین توسعه مقاومت به حشره-

کش‌های مورد استفاده باعث گردیده تا کاربرد دشمنان طبیعی در کنترل این آفت گسترش روز افزون پیدا کند [۳۰].

کنترل بیولوژیک یک جزء کلیدی از برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات در گلخانه‌های گوجه فرنگی در اروپاست [۲۰و۲۶]. امکان استفاده از زنبورهای پارازیتوئید جنس تریکوگراما به عنوان عامل کنترل بیولوژیک *Tuta absoluta* در حال حاضر در اروپا مطرح است زیرا که پارازیتیسم طبیعی این آفت به وسیله‌ی گونه‌های مختلف تریکوگراما در آمریکای جنوبی و اروپا گزارش شده است [۸۳و۱۱۴]. انتخاب گونه‌ی تریکوگراما با بالاترین سازگاری با آفت هدف و با ویژگی‌های اکوسیستم کشاورزی مورد نظر برای موفقیت برنامه کنترل بیولوژیک حائز اهمیت می‌باشد، از این رو شناسایی گونه‌های کارآمد تریکوگراما اجازه یک برنامه کنترل بیولوژیک استوار، اقتصادی و بهینه شده برعلیه *Tuta absoluta* را خواهد داد [۳۱]. یکی از امیدوارکننده‌ترین عامل بیولوژیکی مورد استفاده برای کنترل *Tuta absoluta*، گونه‌ی *Trichogramma pretiosum* است که در حال تولید انبوه و رهاسازی در مزارع گوجه فرنگی شمال شرق برزیل و نیز چندین کشور آمریکای جنوبی می‌باشد [۳۳، ۳۱، ۳۰و۸۴]. علاوه بر آن گونه‌ی *T. nerudai* در چندین کشور آمریکای جنوبی برای کنترل این آفت استفاده شده است [۳۰].گونه‌ی *T. achaeae* در حال حاضر در قسمت‌هایی از اروپا و کشورهای شمال آفریقا در مزارع گوجه فرنگی رها-سازی می‌شود [۳۱]. استفاده تجاری از گونه‌های مختلف تریکوگراما برای محصول گوجه فرنگی در کشورهای چین، کلمبیا، ایالات متحده امریکا، انگلستان و هندوستان نیز رایج می باشد[۸۴].

با توجه به اهمیت پروانه‌ی مینوز گوجه فرنگی و نقش اثبات شده‌ی زنبورهای تریکوگراما در کنترل موثر آن، هدف از این طرح ارزیابی آزمایشگاهی کارایی چهارجمعیت از زنبورهای تریکوگراما به عنوان عامل کنترل بیولوژیک *Tuta absoluta* روی گوجه فرنگی می‌باشد. برای این منظور ویژگی‌های زیستی این جمعیت‌ها در قالب جدول زندگی روی پروانه بید آرد *Ephestia kuehniella* ، محاسبه و با یکدیگر مقایسه شد. پروانه بید آرد میزبان این زنبور در سیستم های پرورش انبوه می باشد. هم‌چنین میزان پارازیتیسم تخم پروانه‌ی مینوز گوجه فرنگی بر روی گیاه گوجه فرنگی و در شرایط آزمایشگاه و نیمه گلخانه‌ای ارزیابی گردید. با توجه به این که عوامل کنترل بیولوژیک نسبت به تراکم های مختلف میزبان

رفتار های متفاوتی نشان می دهند، واکنش تابعی این زنبورها نسبت به تراکم‌های مختلف تخم میزبان در شرایط آزمایشگاهی محاسبه شد.

۱-۲- گوجه فرنگی

گوجه فرنگی با نام علمی *Lycopersicum esculentum* گیاهی از خانواده سولاناسه است که بومی آمریکای جنوبی و مرکزی است. این گیاه معمولا به صورت چند ساله و علفی می باشد ولی اغلب به صورت یکساله کشت می شود. ساقه این گیاه شکننده، کرکدار، خزنده، منشعب و گاهی به طول ۱/۵ متر می رسد، برگ های آن متناوب و مرکب می باشد. گل ها به صورت خوشه ای و هر گل دارای پنج گلبرگ زرد رنگ به هم پیوسته و پنج کاسبرگ بلند و کشیده می باشد که در ابتدا کوچک ولی با رشد میوه بلندتر می شود، میوه ها گوشتی و دارای تعدادی تخم های قلبی شکل کوچک می باشد [۱۴]. اولین نشانه پیدایش گوجه فرنگی در قاره آمریکا و احتمالا در کشور های مکزیک و پرو بوده است. این محصول به تدریج توسط اهالی بومی پرورش و تکثیر یافته است. اهالی آمریکا این گیاه را به نام کیتومیت[۱] و یا زیتوتومیتو[۲] نامیده اند. در اوایل قرن ۱۶ این گیاه از آمریکا به اروپا برده شد و اهالی کشور ایتالیا به ارزش غذایی آن پی بردند و آن را گلدن اپل[۳] نام گذاری کردند و بعد در فرانسه به نام لاو اپل[۴] معروف شد. در قرن ۱۸ مصرف گوجه در انگلستان به عنوان طعم دهنده و چاشنی در سوپ بوده است. در سال ۱۸۴۷ در شهر ایستون[۵] ایالت پنسیلوانیا[۶] توسط هریسون[۷] گوجه فرنگی به صورت درسته و قطعه قطعه شده در قوطی فلزی به صورت کنسرو تهیه گردید و باعث شد که کشت گوجه فرنگی رواج بیشتری پیدا کند و در ردیف یکی از بهترین محصولات کشاورزی محسوب شود [۱۳].

به طور کلی کشت و پرورش این گیاه، مساحتی حدود سه میلیون هکتار را به خود اختصاص داده است، که نزدیک به یک سوم کل مساحت مختص به کشت تره بار در جهان است. سالانه حدود ۵/۲ میلیون تن گوجه فرنگی در ۱۵۰ هزار هکتار تولید می شود که حدود ۴۰ هزار هکتار آن(یک میلیون تن گوجه

۱-Kitomato
۲-Zitotomato
۳-Golden apple
٤-Love apple
٥-Easton
٦-Pennsylvania
۷-Harrison

فرنگی)مربوط به کشت استان های جنوبی کشور در فصول پائیز و زمستان است و این مقدار حدود ۱۰ درصد محصول گوجه فرنگی در گلخانه ها و مابقی در فضای باز تولید می شود.

گوجه فرنگی به علت کاشت وسیع دارای آفات فراوانی است که از جمله آن ها می‌توان به کرم طوقه بر، شته ها، سفید بالک ها، کرم میوه گوجه‌فرنگی، پروانه مینوز گوجه فرنگی، کنه تارتن و کنه حنایی اشاره کرد.

۱-۳- پروانه‌ی مینوز گوجه فرنگی *Tuta absoluta*

پروانه‌ی مینوز گوجه فرنگی *Tuta absoluta* Meyrick 1917 در راسته‌ی بالپولکداران (Lepidoptera)، زیرراسته‌ی Ditrysia، بالاخانواده‌ی Gelechioidea و خانواده‌ی Gelechiidae می‌باشد [۱۰۳،۷۹و۱۰۴].

۱-۳-۱- شکل شناسی

تخم این حشره، بیضی شکل و در ابتدا بی رنگ، بعد از گذشت یک روز سفید و یا شیری رنگ و در آخر زرد رنگ می‌شود. لارو در ابتدای رشد به رنگ سفید بوده و سپس بسته به محل تغذیه از قهوه‌ای مایل به رنگ سبز (برگ خواری) تا سبز مایل به قهوه‌ای (میوه خواری) متفاوت است. لارو دارای خط سیاه در پشت سر است که به راحتی قابل تشخیص می‌باشد. در ابتدای تفریخ تخم‌ها به سختی می‌توان لارو سن یک را تشخیص داد و فقط از روی اثر خسارت می‌توان به وجود آن پی برد ولی در انتهای رشد لاروها تا حدود یک سانتی‌متر طول دارد. شفیره به شکل استوانه‌ای با طول ۵-۶ میلی‌متر است و رنگ آن در ابتدا سبز بوده که به مرور زمان تیره می شود [۳۴،۶۳و۷۹]. طول بدن بالغین با بال‌های باز بین ۰/۹ تا ۱/۲ سانتی‌متر است و شاخک‌های نخی شکل در آن‌ها مشاهده می‌شود. بدن آن‌ها به رنگ نقره‌ای تا خاکستری با نقاط سیاه رنگ در بال جلو می باشد. حشرات ماده پهن‌تر و بزرگ‌تر از نرها هستند و شکم آن‌ها نیز بزرگ‌تر از حشرات نر است (شکل ۱-۱) [۳۴].

۱-۳-۲- زیست شناسی

چرخه زندگی پروانه‌ی مینوز گوجه فرنگی از چهار مرحله تخم، لارو، شفیره و حشره‌ی کامل تشکیل شده است. ماده‌های بالغ تخم‌های خود را معمولا زیر برگ‌ها، ساقه و به میزان کمتر روی میوه می‌گذارند. لاروها بعد از خروج از تخم، مستقیم وارد گیاه می‌شوند و در آنجا رشد و نمو می یابند. این آفت دارای چهار مرحله‌ی لاروی است. لاروها بعد از تغذیه‌ی کامل معمولا با تار به روی زمین افتاده و روی خاک

به شفیره تبدیل می‌شوند. در بعضی موارد ممکن است شفیره روی برگ یا میوه تشکیل شود. پروانه‌ی مینوز گوجه فرنگی آفتی چند نسلی و رشد جمعیت آن از نوع r استراتژی است. چرخه‌ی زندگی آن بسته به شرایط محیط ۷۶ روز در دمای ۱۴ درجه‌ی سلسیوس، ۳۹ روز در دمای ۱۹ درجه‌ی سلسیوس و ۲۳ روز در دمای ۲۷ درجه‌ی سلسیوس است. لاروهای حشره تا وقتی که غذا در دسترس باشد به دیاپوز نمی‌روند، بنابراین آفت می‌تواند ۱۰ تا ۱۲ نسل در سال ایجاد کند. طول دوره زندگی حشره‌ی کامل برای ماده‌ها حدود ۱۰ تا ۱۵ روز و در نرها حدود ۶ تا ۷ روز است. ماده‌ها در روز فقط یک بار جفت‌گیری می‌کنند و در طول زندگی خود قادر به ۶ مرتبه جفت‌گیری هستند. بیشترین تخم‌گذاری در ۷ روز بعد از جفت‌گیری اول ماده‌ها اتفاق می‌افتد که حدود ۷۶٪ تخم‌ها در این مدت گذاشته می‌شود و یک حشره‌ی ماده در طول عمر خود می‌تواند تا ۲۶۰ عدد تخم تولید کند [۴۴،۶۳و۷۹].

شکل ۱-۱- مراحل مختلف زندگی پروانه مینوز گوجه فرنگی (الف- تخم، ب- لارو، ج- شفیره و د- حشره کامل)
(عکس گرفته شده توسط نگارنده در آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشگاه صنعتی اصفهان)

۱-۳-۳- اهمیت اقتصادی و نحوه خسارت

پروانه‌ی مینوز گوجه فرنگی اولین‌بار از جنوب آمریکا گزارش شده و با سرعت زیادی در بقیه نقاط جهان گسترش یافته و خسارت سنگینی را به کشاورزان و گلخانه‌داران وارد کرده است. این آفت در دی ماه سال ۱۳۸۹ برای اولین‌بار در ایران پس از گزارش از منطقه بکشلو چای ارومیه توسط سازمان حفظ نباتات مورد تایید قرار گرفت. پروانه‌ی مینوز گوجه فرنگی از طریق انتقال بقایای گیاهی خانواده‌ی سولاناسه در مدت زمان کوتاهی در کشور گسترش یافت. خسارت این آفت به تمامی مراحل رشدی گوجه فرنگی، سیب زمینی، فلفل، بادمجان و سایر گیاهان خانواده‌ی سولاناسه (میزبان ارجح این آفت گوجه فرنگی است) وارد می‌شود و ۵۰ تا ۱۰۰ درصد محصول را با تغذیه از پارانشیم برگ، نفوذ درون میوه و تغذیه از گوشت آن و خشکاندن شاخه‌های جوان از بین می‌برد (شکل ۱-۲) [۳۴،۳۶و۴۴]

شکل ۱-۲- نحوه خسارت پروانه مینوز گوجه فرنگی به برگ (الف) و میوه (ب) گیاه گوجه فرنگی (عکس گرفته شده توسط نگارنده در گلخانه پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان)

۱-۳-٤- کنترل بیولوژیک پروانه مینوز گوجه فرنگی

از زمان ورود پروانه مینوز گوجه فرنگی در منطقه مدیترانه، مجموعه ای از دشمنان طبیعی بومی برای آن گزارش شده است. در طول دهه گذشته نیز تنوع گسترده ای از پارازیتویید های تخم، لارو و شفیره گزارش شده است که به نظر می رسد برخی از گونه ها محدود به یک منطقه یا کشور باشند، در حالی که گونه های دیگر به طور گسترده در جنوب آمریکا توزیع شده است [۳۴].

گونه‌های حشرات پارازیتویید مانند *Necremnus artynes* و *Hemiptarsenus zilahisebessi* در گوجه‌فرنگی‌های آلوده به پروانه مینوز گوجه‌فرنگی منطقه اسپانیا گزارش شده‌اند.گونه *Necremnus artynes* یک اکتوپارازیتویید است که به نظر می رسد ترجیح پارازیتوییدی آن لارو سن سوم پروانه مینوز گوجه فرنگی باشد. فراوانی این گونه با اقدامات حفاظتی به صورت قابل توجهی از سال ۲۰۰۸ تا سال ۲۰۰۹ افزایش داشته است [۳۴].

در سال اول ورود پروانه مینوز گوجه فرنگی به منطقه مدیترانه، تعدادی شکارگر بومی بر روی آن گزارش شده است [۳۴]. به طوری که گونه های *Macrolophus pygmaeus* و *Nesidiocris tenuis* فعالانه به تخم و مراحل لاروی پروانه مینوز گوجه فرنگی حمله می کنند و لارو سن اول را به بقیه مراحل زندگی پروانه مینوز گوجه‌فرنگی ترجیح می دهند. هر فرد بالغ از هر دو گونه بیش از ۱۰۰ تخم در هر روز مصرف می کند. اما گزارش شده است که پوره های گونه *Macrolophus pygmaeus* نسبت به پوره های گونه *Nesidiocris tenuis* تخم مینوز کمتری می خورند. درصورتیکه هر دو گونه در مزرعه گوجه فرنگی به خوبی مستقر شوند، قادرند به ترتیب آلودگی برگ ها را ۷۵ و ۹۵ درصد و آلودگی میوه را ۵۶ و ۱۰۰درصد کاهش دهند[۲۱،۶۶و۱۰۵]. همچنین آرنو[۱] و همکاران در سال ۲۰۰۹ براساس ۲۸۱ مشاهده مختلف (گلخانه و کشت فضای باز گوجه فرنگی) بیان کردند که در اثر وجود به طور متوسط ۴/۵ سن Miridae در هر گیاه،سطح زیان میوه زیر چهار درصد باقی می ماند [۲۱].از دیگر دشمنان طبیعی گزارش شده برای پروانه مینوز گوجه فرنگی،کنه های شکارگر از گونه‌های *Amblyseius swirskii* و *Amblyseius cucumeris* هستند که از شکارگرهای تخم پروانه مینوز گوجه‌فرنگی به ویژه در مزارع کشت بادمجان می باشند [۳۴].

کنترل بیولوژیک علیه پروانه مینوز گوجه فرنگی با استفاده از گونه های زنبور تریکوگراما در آرژانتین، برزیل، کلمبیا و شیلی مستند می باشد. مجموعه گونه های تریکوگرامای مرتبط با پروانه مینوز گوجه فرنگی در سرتاسر آمریکای جنوبی حداقل ۱۰ گونه است و از این میان گونه های *T. nerudai*، *T. bactrae*، *T. pretiosum*، *T. exiguum* دارای سیستم پرورش انبوه موفق بوده اند. گونه های *T. nerudai* و *T. bactrae* در حال حاضر تحت بررسی برای استفاده در کنترل پروانه مینوز گوجه فرنگی در آرژانتین می باشند. با استفاده از گونه‌ی *T. exiguum* در کشت فضای باز در کلمبیا، سطوح ۹/۸ تا ۲۸/۶٪ از پارازیته شدن تخم پروانه مینوز حاصل شده است. در برزیل ۸۷٪ پارازیتیسم پروانه‌ی مینوز گوجه فرنگی توسط *T. pretiosum* در گلخانه گزارش شده است. همچنین در برزیل ۲۶۰۰ هکتار از مزارع گوجه فرنگی با استفاده از زنبور های تریکوگراما علیه *Tuta absoluta* تیمارمی‌شوند. در سال ۲۰۰۴ این میزان به ۱۰۰۰ تا ۱۲۰۰ هکتار در کشت گوجه فرنگی رسیده است [۶۹،۷۷،۸۵و۱۰۰].

آزمایش ها نشان می دهد که *T. achaeae* در کاهش سطح آلودگی پروانه‌ی مینوز گوجه فرنگی در آزمایشگاه و گلخانه‌های تجاری گوجه فرنگی جنوب اسپانیا بسیار کارآمد است و استفاده از آن در اوایل رشد گیاه گوجه فرنگی، هنگامی که شکارگر های پروانه مینوز گوجه فرنگی هنوز به خوبی در زمین های گوجه فرنگی مستقر نشده اند، توصیه شده است [۳۰].

۱-٤- طبقه‌بندی زنبورهای تریکوگراما

۱-٤-۱- خانواده‌ی Trichogrammatidae

خانواده Trichogrammatidae از راسته‌ی Hymenoptera و بالاخانواده‌ی Chalcidoidea می‌باشد که دارای ۸۰ جنس و ۶۲۰ گونه است. این زنبورها به طول ۰/۲ تا ۱/۵ میلیمتر هستند و از صفات مشخص آن‌ها، شاخک‌های کوتاه با هفت‌بند یا کمتر، وجود حاشیه مویی در بال‌ها و پنجه‌ی پای سه‌بندی است که صفت اخیر، آن‌ها را کاملاً از سایر زنبورهای بالاخانواده‌ی Chalcidoidea متمایز می‌کند [۸۰]. اغلب جنس‌های این خانواده، تعداد گونه‌ی کمی دارند. جنس *Trichogramma* با حدود ۱۸۰ گونه و جنس *Oligostia* با ۹۵ گونه، بزرگ‌ترین جنس‌های این خانواده هستند به طوری که ۴۰ درصد تنوع این خانواده را شامل می‌شوند [۳].

۱-٤-۲- جنس *Trichogramma*

جنس *Trichogramma* بزرگ‌ترین و شناخته شده‌ترین جنس از خانواده‌ی Trichogrammatidae می‌باشد که توسط وست وود[۱] در سال ۱۸۳۳ توصیف شده و گونه تیپ آن *Trichogramma evanescense* می‌باشد. به دنبال آن، گونه‌های *T. embryophagum* توسط هارتیگ[۲]، *T. pretiosum* و *T. minutum* توسط رایلی[۳] و *T. semblidis* توسط اوریویلوس[۴] توصیف شدند [۶۷]. توصیف ها و تشخیص‌ها اغلب براساس اختلافات مرفولوژیک نظیر رنگ و مو های بدن بوده است. پایدار نبودن صفات مرفولوژیک که با اندازه بدن، فصل و میزبان دچار تغییر می شود و همچنین در دسترس نبودن نمونه های تیپ، سبب ایجاد مترادف های بسیار در این جنس شده است [۳۹،۷۰و۸۷].

۱-Westwood
۲-Hartig
۳-Riley
٤-Aurivillus