تاثیر تعداد دفعات تغذیه از ماده‌ی قندی و وضعیت جفتگیری بر کارایی ذخیره‌سازی حشرات کامل زنبور پارازیتوییدBracon hebetor Say در سرما

اکرم علی‌آبادی[۱]، علی افشاری[۲*] و محسن یزدانیان[۳]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۲- *نویسنده مسوول: دانشیار حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران (Afshari@gau.ac.ir)

۳- استادیار حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۲۱

چکیده

با توجه به ضرورت ذخیره‌سازی کارآمد زنبور پارازیتوییدBracon hebetor Say در انسکتاریوم‌ها، این پژوهش با هدف ارزیابی تاثیر تعداد دفعات تغذیه از ماده‌ی قندی (در سه سطح بدون تغذیه، یک نوبت تغذیه پیش از ذخیره‌سازی در یخچال و دو نوبت تغذیه پیش و در حین ذخیره‌سازی) و وضعیت جفتگیری (در دو سطح جفتگیری کرده و بدون جفتگیری) بر مقاومت حشرات کامل مادری و نتاج نسل بعد این زنبور به سرما (دمای ۱±۵ درجه‌ی سلسیوس) انجام گردید. تغذیه‌ی حشرات کامل زنبور از ماده‌ی قندی و جفتگیری آن‌ها پیش از ذخیره‌سازی در یخچال موجب کاهش تلفات ناشی از سرما و افزایش تخمگذاری در مقایسه با زنبورهای گرسنه و جفتگیری نکرده شد. بیش‌ترین تلفات ناشی از سرما در زنبورهای ماده (۳۳/۲ درصد) در جمعیت‌هایی مشاهده شد که بدون انجام تغذیه و جفتگیری به مدت دو هفته درون یخچال ذخیره شدند و در مقابل، کم‌ترین تلفات (۷/۷۱ درصد) در زنبورهای ماده‌ی جفتگیری کرده‌ای مشاهده شد که با دو نوبت تغذیه به مدت یک‌هفته ذخیره‌سازی شدند. تغذیه زنبورهای مادری از ماده‌ی قندی همچنین موجب کاهش تلفات مراحل نارس زنبور و کوتاه‌تر شدن طول دوره‌ی نشوونمای آن‌ها در نسل بعد شد. میانگین تلفات و طول دوره‌ی نشوونمای مراحل نارس در زنبورهای تغذیه شده از ماده قندی (به ترتیب، ۲۲/۸۲ درصد و ۱۱/۱۷ روز) به طور معنی‌داری از زنبورهای تغذیه نشده (به ترتیب، ۳۰/٦٤ درصد و ۱۱/۷۷ روز) کم‌تر بود (آنالیز اُرتوگنال). به طور کلی، با توجه به اثرات مثبت تغذیه و جفتگیری، توصیه می‌شود برای ذخیره‌سازی موثر این زنبور در دمای یخچال از زنبورهای جفتگیری کرده‌ای استفاده شود که پیش از ذخیره‌سازی حداقل یک نوبت با آب‌عسل تغذیه شده باشند.

کلیدواژه‌ها: زنبور B. hebetor، ذخیره‌سازی در سرما، جفتگیری، تغذیه

مقدمه

ذخیره‌سازی در دماهای پایین یک روش مفید جهت نگهداری طولانی‌مدت دشمنان طبیعی و فراهم ساختن یک جمعیت پایدار از آن‌ها برای رهاسازی به موقع در برنامه‌های کنترل بیولوژیک می‌باشد. ذخیره‌سازی علاوه بر کاهش هزینه‌ی پرورش انبوه، به هماهنگ کردن زمان رهاسازی دشمن طبیعی و زمان طغیان آفات و به دنبال آن، کنترل موثرتر آفت کمک می‌کند (Colinet and Boivin, 2011).

ذخیره‌سازی دشمنان طبیعی در سرما سابقه‌ای طولانی دارد و برای اولین بار Hanna (1935) با ذخیره‌سازی زنبور پارازیتوئید *Euchalcidia carybori* Hanna در

دماهای پایین، تحمل آن به سرما را مورد مطالعه قرار داد. البته،کاربرد ذخیره‌سازی در سرما فقط به پرورش انبوه دشمنان طبیعی محدود نمی‌باشد بلکه در حوزه‌های دیگر حشره‌شناسی مانند تکنیک نرعقیمی، پرورش حشرات به منظور تهیه‌ی غذای حیوانات خانگی و ماهی‌ها، حشره‌شناسی جنایی و نجات گونه‌های در معرض انقراض نیز می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (Leopold, 2007).

حفظ کیفیت دشمنان طبیعی پس از ذخیره‌سازی، یکی از پیش‌شرط‌های مهم در اجرای برنامه‌های ذخیره‌سازی در سرما می‌باشد. تاثیر منفی سرمای شدید و طولانی‌مدت بر ویژگی‌های مختلف زیستی و تولیدمثلی پارازیتوییدها از جمله قدرت باروری و طول عمر (Leopold and Chen, 2007)، نسبت جنسی (Okin et al., 1996; Bayram et al., 2005) و طول دوره‌ی نشوونما (Colinet and Hance, 2010) گزارش شده است. بنابراین، برای حفظ کیفیت پارازیتوییدهای ذخیره‌سازی شده در سرما، بررسی عوامل موثر بر مقاومت آن‌ها به سرما ضروری می‌باشد . Colinet and Boivin (2011) با ارایه‌ی یک فهرست جامع از عوامل موثر بر ذخیره‌سازی پارازیتوییدها در سرما، نتیجه گرفتند که مقاومت به سرما فرایند پیچیده‌ای می‌باشد که مجموعه‌ی متنوعی از عوامل بیرونی مانند دمای ذخیره‌سازی و طول مدت ذخیره‌سازی و عوامل درونی مانند وضعیت تغذیه، جنسیت، سن و مرحله‌ی نشوونمایی آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد. تاثیر تعدادی از این عوامل از جمله مدت زمان ذخیره‌سازی و مرحله‌ی نشوونمایی بر کارایی ذخیره‌سازی زنبور *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (مهم‌ترین پارازیتویید شته‌ها در شمال ایران) در سرما گزارش شده است (Mahi et al., 2014a,b).

زنبور *Bracon hebetor* Say همه‌ساله در تعداد زیادی از انسکتاریوم‌های کشور پرورش داده شده و به منظور کنترل لارو آفات بالپولکدار به ویژه کرم غوزه‌ی پنبه، *Helicoverpa armigera* (Hübner) در سطح مزارع مختلف از جمله پنبه، گوجه‌فرنگی و سویا رهاسازی می‌گردد (Najafi Navaei et al., 2002; Hamzehpour Chenari, 2013). این زنبور زمستان را به شکل حشرات کامل سپری می‌کند (Huang 1986; Johnson et al., 2000) و بررسی‌های آزمایشگاهی نیز نشان داده‌اند که مقاومت حشرات کامل آن به سرما در مقایسه با شفیره‌ها به مراتب بیش‌تر می‌باشد (Al-Tememi and Ashfaq 2005; Mousapour et al., 2014).

در زمینه‌ی ذخیره‌سازی زنبور *B. hebetor* در دماهای پایین مطالعات متعددی انجام شده‌اند که بیش‌ترآن‌ها بر تاثیر عوامل بیرونی مثل دما و طول مدت ذخیره‌سازی متمرکز بوده‌اند (Carillo et al., 2005; Chen et al., 2011; Chen et al., 2013; Hamzehpour Chenari, 2013) و در خصوص تاثیر عوامل درونی مانند تغذیه و جفت‌گیری بر مقاومت این زنبور به سرما تاکنون گزارشی منتشر نشده است. به طور کلی، شرایط تغذیه‌ای مراحل نارس و حشرات کامل واکنش پارازیتوییدها به سرما را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Rivers et al. 2000; Riddick 2001; Uçkan and Ergin 2003; Tunca et al. 2014). نتایج پژوهش Hamzehpour Chenari (2013) نشان داد که حشرات ماده‌ی زنبور*B. hebetor* را تا دو هفته می‌توان در دمای پنج درجه‌ی سلسیوس ذخیره کرد بدون آن که تاثیر سوء چندانی بر زنده‌مانی و زادآوری آن‌ها بر جای گذاشته شود. در یک پژوهش دیگر Mousapour et al. (2015) با ذخیره‌سازی حشرات ماده‌ی یک‌روزه‌ی زنبور *B. hebetor* در دمای ۱۲ درجه‌ی سلسیوس، نشان دادند که تا ۴ هفته، ذخیره‌سازی در این دما بر زنده‌مانی و طول عمر زنبورهای ماده تاثیر منفی نداشت.

در مقایسه با تغذیه، اطلاعات منتشر شده در زمینه‌ی اثرات احتمالی وضعیت جفتگیری بر مقاومت

پارازیتوییدها به سرما بسیار کم‌تر می‌باشد. شیوه‌ی تولیدمثل (آرنوتوکی در مقابل تلی‌توکی) بر واکنش دمایی برخی از پارازیتوییدها موثر گزارش شده است (Rössler and DeBach 1972; Wang and Smith 1996) اما سازوکارهای فیزیولوزیکی و بیوشیمیایی این تغییرات هنوز شناسایی نشده‌اند.

پرورش‌دهندگان تجاری زنبور *B. hebetor* در انسکتاریوم‌های استان گلستان (محل انجام این پژوهش)، به طور تجربی و در صورت ضرورت تا یک‌هفته لیوان‌های حاوی زنبور را پیش از تحویل به کشاورزان، در یخچال نگهداری می‌کنند. در پرورش‌های غیرتجاری (تحقیقاتی) این زنبور هم ذخیره‌سازی در سرما به منظور حفظ کلنی یک روش رایج می‌باشد (Hamzehpour Chenari, 2013). با توجه به لزوم افزایش راندمان ذخیره‌سازی این زنبور در دماهای پایین و شناخت نقش عوامل مختلف بر مقاومت آن به سرما، این پژوهش با هدف بررسی تاثیر دو عامل تعداد دفعات تغذیه از ماده‌ی قندی و وضعیت جفتگیری بر کارایی ذخیره‌سازی حشرات کامل این زنبور پارازیتوییدر در سرما انجام شد.

مواد و روش‌ها

مکان انجام تحقیق

این پژوهش در آزمایشگاه کنترل بیولوژیک گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد.

پرورش حشرات

میزبان جایگزین

در این پژوهش از لاروهای شب‌پره‌ی مدیترانه‌ای آرد، *Anagasta kuehniella* (Zeller) به عنوان میزبان جایگزین برای پرورش زنبور *B. hebetor* استفاده شد. مطابق روش Yazdanian et al., (2005)، از مخلوط آرد و سبوس گندم (به نسبت ۳ به ۱) درون تشت‌های پلاستیکی به منظور پرورش این شب‌پره استفاده شد. لاروهای سنین آخر شب‌پره (سنین چهارم و پنجم) پس از جمع‌آوری از تشت‌ها به عنوان میزبان در اختیار زنبور پارازیتوییدر قرار گرفتند.

زنبور پارازیتوییدر *B. hebetor*

جمعیت اولیه‌ی زنبور از یکی از انسکتاریوم‌های شهر گرگان تهیه و پس از انتقال به اتاق پرورش (دمای ۲±۲۶ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۶۰ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی به ۸ ساعت تاریکی) به مدت پنج نسل روی لاروهای شب‌پره‌ی مدیترانه‌ی آرد پرورش داده شد تا یک جمعیت همسان از آن برای انجام آزمایش‌ها به دست آید. به منظور پرورش زنبور پارازیتوییدر از ظروف پلاستیکی (به ارتفاع ۲۵ و قطر ۱۷ سانتی‌متر) استفاده شد. بدین منظور، جمعیت اولیه‌ی زنبور درون این ظروف محبوس و دهانه‌ی ظروف با استفاده از پارچه‌ی توری سفیدرنگ (۴۰ مش) مسدود گردید. سپس لاروهای درشت میزبان (سنین چهارم و پنجم) روی یک ورق کاغذ در اختیار زنبورهای درون ظروف قرار گرفتند. هر ۲۴ ساعت، لاروهای قدیمی میزبان با لاروهای تازه جایگزین و لاروهای پارازیته شده‌ی قدیمی درون ظروف پلاستیکی درب‌دار قرار می‌گرفتند و تا زمان خروج زنبورهای کامل در اتاق پرورش نگهداری می‌شدند. زنبورهای کامل خارج شده پس از جمع‌آوری، به تدریج در آزمایش‌های مورد نظر مورد استفاده قرار گرفتند.

چگونگی اعمال تیمارها

تغذیه

تاثیر عامل تغذیه بر مقاومت زنبور به سرما در سه سطح "عدم تغذیه"، "یک بار تغذیه پیش از ذخیره‌سازی" و "دو بار تغذیه پیش و در حین ذخیره‌سازی" مورد بررسی قرار گرفت. در تیمارهای مربوط به یک بار تغذیه، جمعیت زنبور پیش از ذخیره‌سازی در یخچال، درون یک عدد لیوان پلاستیکی (قطر دهانه ۱۰ و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر) قرار گرفت. جهت تغذیه‌ی زنبور، سوراخی به قطر چهار سانتی‌متر در دیواره‌ی لیوان ایجاد شد، دهانه‌ی آن با یک قطعه

پارچه‌ی توری مسدود و یک قطعه پنبه‌ی آغشته به آب‌عسل ۲۰ درصد به منظور تغذیه‌ی زنبور بر روی پارچه‌ی توری چسبانده شد. به زنبورهای درون لیوان ۱۲ ساعت فرصت تغذیه داده شد و سپس لیوان حاوی زنبور به درون یخچال انتقال یافت. در تیمارهای مربوط به دوبار تغذیه، جمعیت زنبور علاوه بر تغذیه‌ی پیش از ذخیره‌سازی، یک نوبت دیگر و برای بار دوم در وسط دوره‌ی ذخیره‌سازی تغذیه شد. بدین منظور، لیوان‌های حاوی زنبور در وسط مدت زمان در نظر گرفته شده برای ذخیره‌سازی (یعنی ۳/۵ روز پس از آغاز ذخیره‌سازی در تیمار ۷ روز و ۷ روز پس از آغاز ذخیره‌سازی در تیمار ۱۴ روز) از یخچال خارج و پس از انجام تغذیه به روش بالا، دوباره به درون یخچال منتقل شدند. در تیمارهای فاقد تغذیه، هیچ آب عسلی در اختیار زنبور پارازیتویید قرار نگرفت و جمعیت زنبور بدون انجام هر گونه تغذیه‌ای به درون یخچال منتقل شد.

جفتگیری

تاثیر عامل جفت‌گیری بر مقاومت زنبور به سرما در دو سطح "جفت‌گیری" و "عدم جفت‌گیری" ارزیابی شد. به منظور جلوگیری از جفت‌گیری زنبورهای نر و ماده (در تیمارهای مربوط به عدم جفت‌گیری)، شفیره‌های زنبور به صورت انفرادی درون ظروف پتری قرار گرفتند تا حشرات کاملِ خارج شده از آن‌ها شانس جفت‌گیری نداشته باشند. زنبورهای خارج شده از شفیره‌های انفرادی بلافاصله بر حسب جنسیت تفکیک (بر اساس وجود تخم‌ریز بلند در افراد ماده) و پس از قرار گرفتن درون لیوان‌های پلاستیکی شفاف و اِعمال تیمارهای مربوط به تغذیه، به درون یخچال منتقل شدند. در تیمارهای مربوط به زنبورهای جفت‌گیری کرده، زنبورهای نر و ماده بلافاصله پس از خروج از شفیره به صورت مخلوط درون یک عدد ارلن شیشه‌ای محبوس شدند و به مدت تقریباً ۱۲ساعت زیر نور لامپ قرار گرفت تا جفتگیری انجام شود (Hamzehpour Chenari, 2013). سپس، زنبورهای نر و ماده از همدیگر جدا شدند و پس از اعمال تیمارهای مربوط به تغذیه، به درون یخچال منتقل شدند.

مدت زمان ذخیره‌سازی

تاثیر عامل مدت زمان ذخیره‌سازی در دو سطح یک هفته و دو هفته ارزیابی شد. یک هفته، بیش‌ترین مدت زمانی است که پرورش‌دهندگان در انسکتاریوم‌ها یا مجریان رهاسازی در کلینیک‌های گیاه‌پزشکی، معمولاً اقدام به ذخیره‌سازی زنبور *B. hebetor* در یخچال می‌کنند (Golestan Plant Protection Office: Personal Communication). دو هفته، حداکثر مدت زمانی است که بر اساس نتایج پژوهش‌های قبلی (Hamzehpour Chenari, 2013) برای ذخیره‌سازی حشرات کامل این زنبور توصیه شده است.

اندازه‌گیری ویژگی‌های زیستی و تولیدمثلی زنبور

در این پژوهش روی هم رفته، تاثیر ۱۲ ترکیب تیماری (تعداد دفعات تغذیه×وضعیت جفتگیری×مدت زمان ذخیره‌سازی) بر مقاومت زنبور *B. hebetor* به سرما در دو نسل والد (حشرات کاملِ مادری ذخیره‌سازی شده درون یخچال) و نتاج نسل اول (F_1) بررسی شد. به منظور بررسی تاثیر تیمارهای مورد نظر بر مرگ و میر زنبورهای نر و ماده‌ی نسل والد، در هر ترکیب تیماری، هفت جمعیت ۵۰ تایی از زنبورهای نر و هفت جمعیت ۵۰ تایی از زنبورهای ماده‌ی یک‌روزه پس از اعمال تیمارهای مربوط به تغذیه و جفتگیری، به طور جداگانه درون لیوان‌های پلاستیکی شفاف قرار گرفتند (هر لیوان به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد) و لیوان‌های حاوی زنبور بر حسب تیمار، به مدت ۷ یا ۱۴ روز درون یخچال (دمای ۱±۵ درجه‌ی سلسیوس و تاریکی مطلق) نگهداری شدند (Chen et al., 2011, 2013). پس از سپری شدن مدت زمان مورد نظر، لیوان‌ها از یخچال خارج شده و تعداد افراد مرده در هر کدام از آن‌ها شمارش و ثبت شد. زنبورهای مرده به زنبورهایی اطلاق می‌شد که تا ۳ ساعت پس از خروج از یخچال قادر به حرکت و پرواز عادی نبودند. به منظور بررسی تاثیر

تیمارها بر طول عمر و زادآوری زنبورهای نسل والد، پس از خارج کردن لیوان‌ها از یخچال و شمارش تعداد زنبورهای مرده، از میان زنبورهای زنده مانده در هر تیمار، تعداد ۲۵ جفت زنبور نر و ماده انتخاب شدند و به طور جداگانه درون ۲۵ عدد لیوان پلاستیکی (به ابعاد اشاره شده در بالا) نگهداری شدند (هر جفت زنبور درون یک لیوان به عنوان یک تکرار لحاظ گردید). روزانه تعداد ده عدد لارو سن بالای (سنین چهارم یا پنجم) شب‌پره‌ی مدیترانه‌ای آرد به عنوان میزبان در اختیار زنبورهای درون هر لیوان قرار گرفت. لیوان‌های حاوی زنبور به همراه لاروهای میزبان درون ژرمیناتور (دمای ۱±۲۶ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) نگه‌داری شدند. لاروهای پارازیته شده به طور روزانه از زیر لیوان‌ها خارج شده و پس از شمارش تعداد تخم‌های گذاشته شده روی آن‌ها، درون ظروف پتری قرار گرفتند. هر چند روز یک‌بار با استفاده از یک قطره‌چکان مقداری آب عسل از طریق یک قطعه پنبه‌ی خیس به عنوان غذا در اختیار زنبورهای درون لیوان قرار گرفت. پس از مرگ زنبور ماده، عمل لاروگذاری متوقف گردید و زنبور نر تا زمان مرگ فقط با آب عسل تغذیه شد. با ثبت زمان دقیق مرگ زنبورهای نر و ماده و شمارش روزانه‌ی تعداد تخم‌های گذاشته شده توسط زنبورهای ماده، طول عمر زنبورهای نر و ماده و میانگین تخم‌گذاری زنبورهای ماده محاسبه و یادداشت گردید.

به منظور بررسی تاثیر تیمارهای مختلف بر نتاج نسل اول (F_1) زنبور، در هر کدام از تیمارها، ۲۵ جفت از زنبورهایی که پس از خارج شدن از یخچال زنده مانده بودند، به طور جداگانه به درون لیوان‌های پلاستیکی منتقل شدند و ۲۴ ساعت به آن‌ها اجازه داده شد تا روی لاروهای میزبان تخمگذاری کنند. تخم‌های گذاشته شده توسط هر جفت پارازیتویید به همراه لاروهای پارازیته شده‌ی میزبان به درون ظروف پتری منتقل شدند و پتری‌ها تا زمان خروج حشرات کامل پارازیتویید، درون ژرمیناتور (دمای ۱±۲۶ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. پس از خروج حشرات کامل زنبور در هر پتری، تعداد آن‌ها به تفکیک جنسیت شمارش و یادداشت شد و بدین ترتیب، درصد خروج حشرات کامل (نسبت حشرات کامل خارج شده به تعداد شفیره‌ها) و نسبت جنسی زنبورهای خارج شده (نسبت زنبورهای ماده به کل زنبورهای خارج شده) محاسبه و ثبت گردید. همچنین، به منظور محاسبه‌ی درصد تلفات مراحل نارس زنبور (مجموع تلفات مراحل تخم، لارو و شفیره)، نسبت تعداد زنبورهای کامل خارج شده در هر پتری به تعداد تخم‌های موجود در آن محاسبه گردید. به منظور پی بردن به تاثیر احتمالی تیمارهای مختلف بر طول دوره‌ی نشوونمای مراحل نارس (فاصله‌ی زمانی گذاشته شدن تخم تا خروج حشرات کامل زنبور)، در هر تیمار تعداد ۲۵ عدد تخم زنبور پس از ثبت لحظه‌ی گذاشته شدن آن‌ها روی لارو میزبان به طور انفرادی و به همراه لارو میزبان به درون ظروف پتری منتقل شدند (هر عدد تخم گذاشته شده بر روی لارو میزبان به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد) و تا زمان خروج حشرات کامل زنبور به طور مرتب و به فواصل زمانی کوتاه (روزانه حداقل چهار نوبت) پایش شدند. پس از ثبت زمان خروج حشرات کامل زنبور، فاصله‌ی زمانی بین تخمگذاری پارازیتویید روی لارو میزبان و خروج حشرات کامل زنبور به عنوان طول دوره‌ی نشوونمای مراحل نارس یادداشت گردید.

تجزیه و تحلیل‌های آماری

به منظور پی بردن به اثرات اصلی و متقابل تیمارها، داده‌های به دست آمده به شکل فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و به کمک نرم‌افزار آماری SAS (SAS Institute, 2002) تجزیه‌ی واریانس شدند. بدین منظور، فاکتور تعداد دفعات تغذیه در سه سطح عدم تغذیه، یک‌بار تغذیه پیش از ذخیره‌سازی و دو بار تغذیه پیش و در طول ذخیره‌سازی؛ فاکتور جفت‌گیری در دو

سطح "جفتگیری" و "عدم جفتگیری" و فاکتور مدت زمان ذخیره‌سازی در دو سطح یک هفته و دو هفته بررسی شدند. میانگین ویژگی‌های زیستی و تولیدمثلی زنبور در ترکیب‌های تیماری مختلف با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. با توجه به این که در آزمون‌های رایج مقایسه میانگین (از جمله LSD)، امکان مقایسه‌ی برخی از گروه‌های تیماری وجود ندارد لذا به منظور دسته‌بندی تیمارها و مقایسه‌ی گروهی (اُرتوگنال) آن‌ها از نرم‌افزار MSTAT-C استفاده شد. بدین منظور، تیمار تغذیه به چهار گروه دوتایی تغذیه در مقابل عدم تغذیه، عدم تغذیه در مقابل یک‌بار تغذیه، عدم تغذیه در مقابل دوبار تغذیه و یک‌بار تغذیه در مقابل دوبار تغذیه و تیمار جفتگیری به یک گروه دوتایی جفتگیری در مقابل عدم جفتگیری تقسیم و میانگین صفات در آن‌ها به شکل اُرتوگنال مقایسه شدند. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده گردید.

نتایج

تاثیر تیمارها بر زنبورهای والد

تلفات زنبورهای نر و ماده

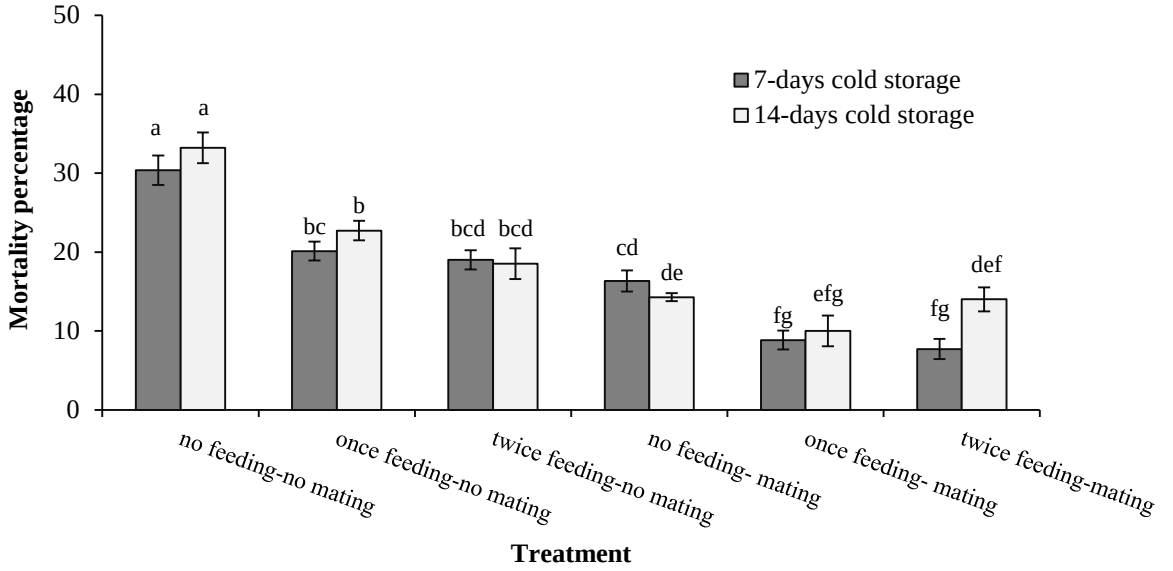
نتایج این پژوهش نشان داد که تعداد دفعات تغذیه از ماده‌ی قندی و وضعیت جفتگیری بر درصد مرگ و میر زنبورهای نر و ماده‌ی ذخیره‌سازی شده در یخچال در سطح احتمال یک درصد تاثیر معنی‌دار داشت (به ترتیب، $F_{1,72}$= 83.1, P<0.0001 و $F_{2,72}$=19.2, P<0.0001 در زنبورهای نر و $F_{1,72}$= $F_{2,72}$=27.6, P<0.0001 و 127.9, P<0.0001 در زنبورهای ماده). در مقابل، مدت زمان ذخیره‌سازی در یخچال بر میزان تلفات زنبورهای ماده تاثیر معنی‌دار نداشت ($F_{1,72}$=2.58, P=0.11) اما تاثیر آن بر تلفات زنبورهای نر در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود ($F_{1,72}$=2.58, P=0.013). بیش‌ترین تلفات ناشی از سرما در زنبورهای ماده (۳۳/۲۱ درصد) و زنبورهای نر (۳۰/۹۵ درصد) به جمعیت‌هایی تعلق داشت که بدون انجام تغذیه و جفتگیری به مدت دو هفته درون یخچال ذخیره‌سازی شدند. در مقابل، کم‌ترین درصد مرگ و میر در زنبورهای ماده (۷/۷۱ درصد) و نر (۱۰ درصد) به جمعیت‌های جفتگیری کرده و دوبار تغذیه شده (پیش از ذخیره‌سازی و در حین ذخیره‌سازی) تعلق داشت که به مدت یک هفته درون یخچال ذخیره‌سازی شده بودند (شکل‌های ۱ و ۲).

نتایج مقایسه‌ی گروهی (اُرتوگنال) تیمارها (جدول ۱) نشان داد که میانگین مرگ و میر ناشی از ذخیره‌سازی در یخچال در زنبورهای ماده‌ی یک و دو نوبت تغذیه شده با ماده‌ی قندی (به ترتیب، ۱۵/۴۲ و ۱۴/۸۱ درصد) در مقایسه با زنبورهای فاقد تغذیه (۲۳/۵۴ درصد) به طور معنی‌داری کم‌تر بود، اما بین درصد تلفات زنبورهای ماده‌ی یک و دو نوبت تغذیه شده اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین، میانگین کلی مرگ و میر ناشی از سرما در زنبورهای ماده‌ی جفتگیری نکرده (۲۳/۹۹ درصد) به طور معنی‌داری از زنبورهای جفتگیری کرده (۱۱/۸۶ درصد) بیش‌تر بود. بر خلاف دو عامل تغذیه و جفتگیری که انجام آن‌ها موجب کاهش تلفات زنبورهای ماده‌ی ذخیره‌سازی شده در یخچال شدند، مدت زمان ذخیره‌سازی در یخچال بر مرگ و میر زنبورهای ماده تاثیر معنی‌داری نداشت (۱۷/۰۶ و ۱۸/۷۹ درصد به ترتیب در یک هفته و دو هفته ذخیره‌سازی).

نتایج مقایسه‌های اُرتوگنالِ تاثیر تیمارهای مختلف بر تلفات زنبورهای نر تا حد زیادی شبیه زنبورهای ماده بود با این تفاوت که بر خلاف زنبورهای ماده، تاثیر مدت زمان ذخیره‌سازی در یخچال بر درصد تلفات زنبورهای نر در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (۱۷/۲۸ و ۱۹/۸ درصد به ترتیب در یک هفته و دو هفته ذخیره‌سازی).

طول عمر زنبورهای ماده و نر

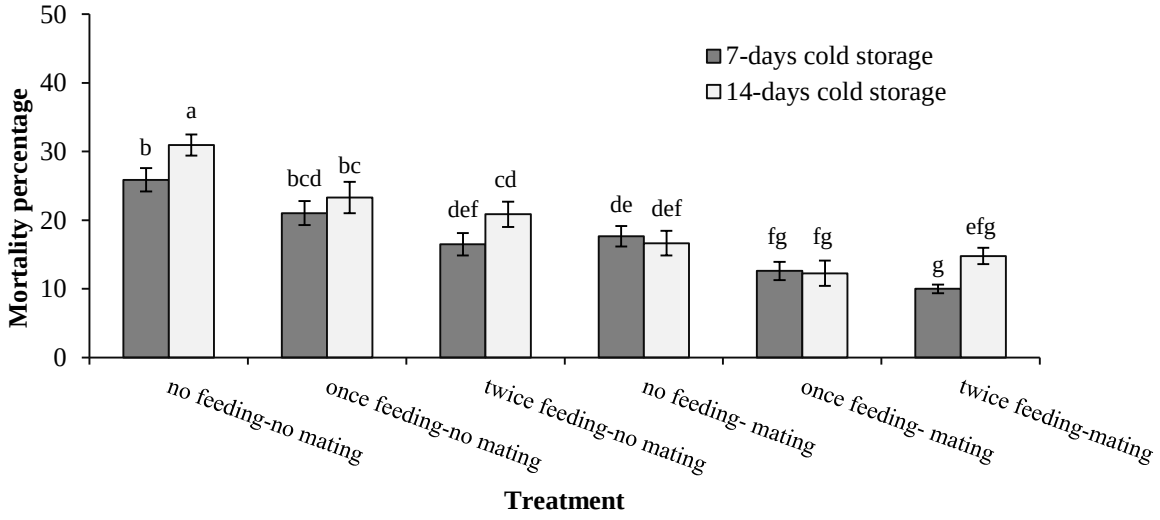
بر اساس نتایج این پژوهش، تعداد دفعات تغذیه از ماده قندی بر طول عمر زنبورهای ماده ذخیره‌سازی شده در یخچال تاثیر معنی‌داری نداشت ($F_{2,288}$=1.76, P=0.17)



* Means followed by same letters are not statistically different (LSD-test, $P < 0.05$).

شکل ۱- تاثیر تعداد دفعات تغذیه از ماده‌ی قندی و وضعیت جفتگیری بر مرگ و میر زنبورهای ماده‌ی *B. hebetor* پس از ذخیره‌سازی آن‌ها در دمای ۵ درجه سلسیوس

Figure 1. Effect of sugar feeding frequency and mating status on mortality of *B. hebetor* females after their cold storage in 5 ºC



* Means followed by same letters are not statistically different (LSD-test, $P < 0.05$).

شکل ۲- تاثیر تعداد دفعات تغذیه از ماده‌ی قندی و وضعیت جفتگیری بر مرگ و میر زنبورهای نر *B. hebetor* پس از ذخیره‌سازی آن‌ها در دمای ۵ درجه سلسیوس

Figure 2. Effect of sugar feeding frequency and mating status on mortality of *B. hebetor* males after their cold storage in 5 ºC

اما تاثیر آن بر طول عمر زنبورهای نر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($F_{2,288}$=5.62, P=0.004). تاثیر مدت زمان سرمادهی بر طول عمر زنبورهای ماده همانند تعداد دفعات تغذیه معنی‌دار نبود ($F_{1,288}$=45.63, P=0.22) اما طول عمر زنبورهای نر را در سطح احتمال پنج درصد به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار داد ($F_{1,288}$=58.1, P=0.03). در مقابل، تاثیر وضعیت جفتگیری بر طول عمر هر دو جنس ماده و نر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (به ترتیب، $F_{1,288}$= 48.7, P<0.0001 و $F_{1,288}$= 94.5, P<0.0001). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲)، بیش‌ترین طول عمر زنبورهای ماده (۱۴/۶ روز) به پارازیتوییدهای جفتگیری کرده‌ای تعلق داشت که پس از دو نوبت تغذیه به مدت یک هفته در یخچال ذخیره‌سازی شده بودند. در مقابل، کم‌ترین طول عمر زنبورهای ماده (۷/۰۸ روز) به پارازیتوییدهایی تعلق داشت که بدون انجام تغذیه و جفتگیری به مدت دو هفته در دمای یخچال ذخیره‌سازی شدند. بیش‌ترین طول عمر زنبورهای نر (۱۰/۱۶ روز) در جمعیت‌هایی مشاهده شد که بدون انجام جفتگیری و با دو نوبت تغذیه به مدت یک هفته درون یخچال ذخیره‌سازی شدند. در مقابل، کم‌ترین طول عمر زنبورهای نر (۳/۲۸ روز) به زنبورهای جفتگیری کرده و بدون تغذیه‌ای تعلق داشت که به مدت یک هفته درون یخچال ذخیره شده بودند (جدول ۲).

نتایج مقایسه‌ی گروهی (اُرتوگنال) تیمارها نشان داد که بین میانگین طول عمر زنبورهای ماده یک و دو نوبت تغذیه شده با ماده‌ی قندی (به ترتیب، ۱۱/۲۳ و ۱۱/۳۴ روز) و طول عمر زنبورهای فاقد تغذیه (۹/۹۷ روز)، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. میانگین طول عمر زنبورهای ماده‌ای که به مدت یک هفته درون یخچال ذخیره‌سازی شده بودند (۱۰/۴۲ روز) با طول عمر زنبورهای ماده‌ی ذخیره شده به مدت دو هفته (۱۱/۲۷ روز) اختلاف معنی‌داری نداشت. در مقابل، میانگین کلی طول عمر زنبورهای ماده‌ی جفتگیری کرده (۱۳/۰۹ روز)

جدول ۱- مقایسه گروهی (اُرتوگنال) ویژگی‌های مهم زنبورهای نسل مادری *B. hebetor* در گروه‌های مختلف تیماری، پس از ذخیره‌سازی آن‌ها در دمای ۵ درجه سلسیوس

Table 1- Orthogonal comparisons of the main characteristics of maternal generation of *B. hebetor* in different groups of treatment, after their cold storage in 5 ºC

Orthogonal comparisons	Means				
	Female mortality (percent)	Male mortality (percent)	Female longevity (days)	Male longevity (days)	Fecundity (Eggs/female/day)
no-feeding *vs.* feeding	23.54 *vs* 15.11**	22.78 *vs* 16.42**	9.97 *vs* 11.28^{ns}	6.15 *vs* 6.99*	5.47 *vs* 6.86**
no-feeding *vs.* twice feeding	23.54 *vs* 14.81**	22.78 *vs* 15.53**	9.97 *vs* 11.34^{ns}	6.15 *vs*7.66**	5.47 *vs*7.39**
no-feeding *vs.* once feeding	23.54 *vs* 15.42**	22.78 *vs* 17.30**	9.97 *vs* 11.23^{ns}	6.15 *vs*6.33^{ns}	5.47 *vs*6.33**
twice feeding *vs.* once feeding	14.81 *vs* 15.42^{ns}	15.53 *vs* 17.30^{ns}	11.34 *vs* 11.23^{ns}	7.66 *vs* 6.33**	7.39 *vs* 6.33**
mated *vs.* non-mated	11.86 *vs* 23.99**	14.00 *vs* 23.08**	13.09 *vs* 8.60**	4.76 *vs* 8.66**	8.12 *vs* 4.67**
7-days *vs.*14-days cold storage	17.06 *vs* 18.79^{ns}	17.28 *vs* 19.80*	10.42 *vs* 11.27^{ns}	6.27 *vs* 7.15*	6.82 *vs* 5.98**

ns, * and ** mean non-significant, and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

به طور معنی‌داری از زنبورهای جفتگیری نکرده (۸/۶ روز) بیش‌تر بود. نتایج مقایسه‌ی گروهی تاثیر تیمارهای مختلف بر طول عمر زنبورهای نر تا حدودی با زنبورهای ماده متفاوت بود؛ بر خلاف زنبورهای ماده، میانگین طول عمر زنبورهای نر جفتگیری کرده (۴/۷۶ روز) به طور معنی‌داری از زنبورهای جفتگیری نکرده (۸/۶۶ روز) کم‌تر بود. به علاوه، میانگین کلی طول عمر زنبورهای نری که دو نوبت با ماده‌ی قندی تغذیه شده بودند (۷/۶۶ روز) به طور معنی‌داری از طول عمر زنبورهای فاقد تغذیه (۶/۱۵ روز) بیش‌تر بود. همچنین، میانگین طول عمر زنبورهای نری که به مدت یک هفته در یخچال ذخیره‌سازی شده بودند (۶/۲۷ روز) به طور معنی‌داری (در سطح احتمال پنج درصد) از طول عمر زنبورهای نر ذخیره شده به مدت دو هفته (۷/۱۵ روز) کم‌تر بود (جدول ۱).

زادآوری زنبورهای ماده

بر اساس نتایج این پژوهش، تاثیر هر سه عامل تعداد دفعات تغذیه، وضعیت جفتگیری و طول مدت سرمادهی بر میانگین تخمگذاری روزانه‌ی زنبورهای ماده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (به ترتیب، $F_{2,288}$=24.7, P<0.0001، $F_{1,288}$= 236.8, P<0.0001 و $F_{1,288}$= 10.23, P<0.0015). بر اساس نتایج مقایسه‌ی میانگین‌ها، بیش‌ترین زادآوری زنبورهای ماده (۹/۳۳ عدد تخم در روز) به ترکیب تیماری دو نوبت تغذیه- جفتگیری - یک هفته سرمادهی و کم‌ترین میانگین زادآوری (۳/۵۹ عدد تخم در روز) به ترکیب تیماری عدم تغذیه- عدم جفتگیری- دو هفته سرمادهی تعلق داشت (جدول ۲).

نتایج مقایسه‌ی اُرتوگنال نشان داد که میانگین تخمگذاری زنبورهای ماده‌ی یک و دو نوبت تغذیه شده با ماده‌ی قندی (به ترتیب، ۶/۳۳ و ۷/۳۹ عدد تخم در روز) در مقایسه با زادآوری زنبورهای ماده‌ی بدون تغذیه (۵/۴۷ عدد تخم در روز) به طور معنی‌داری بیش‌تر بود. همچنین، زادآوری زنبورهای ماده‌ی جفتگیری کرده (۸/۱۲ عدد تخم در روز) به طور معنی‌داری از زادآوری زنبورهای ماده‌ی جفتگیری نکرده (۴/۶۷ عدد تخم در روز) بیش‌تر بود. همچنین، میانگین تخمگذاری زنبورهای ماده با ذخیره‌سازی یک هفته (۶/۸۲ عدد تخم در روز) در مقایسه با زادآوری زنبورهای ذخیره‌سازی شده به مدت دو هفته (۵/۹۸ عدد تخم در روز)، بیش‌تر بود (جدول ۱).

جدول ۲- تاثیر تعداد دفعات تغذیه از ماده‌ی قندی و وضعیت جفتگیری بر طول عمر و زادآوری زنبورهای نسل مادری *B. hebetor* پس از ذخیره‌سازی آن‌ها در دمای ۵ درجه سلسیوس

Table 2- Effect of sugar feeding frequency and mating status on longevity and fecundity of the maternal *B. hebetor* after their cold storage in 5 ºC

Treatments	Male longevity (days)	Female longevity (days)	Fecundity (Eggs/female/day)
7-days cold storage			
no feeding-no mating	7.20±0.86bc	8.40±1.05c	3.83±0.28g
once feeding-no mating	4.84±0.55ef	9.28±1.15bc	5.05±0.32f
twice feeding-no mating	10.16±0.75a	9.36±0.97bc	8.97±0.41ab
no feeding- mating	3.28±0.21f	12.16±0.95ab	7.95±0.35bc
once feeding- mating	6.96±0.75bcd	13.84±1.20a	8.47±0.43abc
twice feeding-mating	5.20±0.73efd	14.60±1.32a	9.33±0.60a
14-days cold storage			
no feeding-no mating	9.16±0.92a	7.08±0.78c	3.59±0.31g
once feeding-no mating	8.76±0.83ab	8.76±1.10c	4.29±0.29fg
twice feeding-no mating	9.76±0.73a	8.72±1.02c	5.06±0.38f
no feeding- mating	4.96±0.46ef	12.24±1.2ab	6.51±0.34de
once feeding- mating	4.76±0.61ef	13.04±1.20a	6.61±0.49de
twice feeding-mating	5.52±0.63cde	12.68±1.24a	7.54±0.32cd

* Means followed by same letters are not statistically different (LSD-test, $P < 0.05$).

تاثیر تیمارها بر نتاج نسل اول (F_1)

درصد تلفات و طول دوره‌ی نشوونمای مراحل نارس

نتایج این پژوهش نشان داد که تعداد دفعات تغذیه‌ی زنبورهای مادریِ ذخیره‌سازی شده در یخچال بر میزان تلفات مراحل نارس نتاج نسل بعد تاثیر معنی‌دار داشت ($F_{2,288}$= 7.81, P=0.0005)، اما اثر وضعیت جفتگیری و مدت زمان سرمادهی معنی‌دار نبودند (به ترتیب، $F_{1,288}$= 0.65, P=0.42 و $F_{1,288}$= 1.58, P=0.21). در مقابل، هر سه عامل تعداد دفعات تغذیه، وضعیت جفتگیری و مدت‌زمان سرمادهی زنبورهای مادری، بر طول دوره‌ی نشوونمای مراحل نارس (فاصله‌ی زمانی بین گذاشته شدن تخم تا ظهور حشرات کامل) نتاج نسل بعد تاثیر معنی‌دار داشتند (به ترتیب، $F_{2,288}$= 10.44, P<0.0001، $F_{1,288}$= 40.97, P<0.0001 و $F_{1,288}$= 28.23, P<0.0001). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیش‌ترین تلفات (۴۱/۲ درصد) و طولانی‌ترین دوره‌ی نشوونما (۱۲/۹۲ روز) در مراحل نارسِ نتاج نسل بعد در زنبورهایی مشاهده شد که بدون تغذیه و بدون جفتگیری به مدت دو هفته درون یخچال ذخیره‌سازی شده بودند. در مقابل، کوتاه‌ترین دوره‌ی نشوونمای مراحل نارس نتاج نسل بعد (۱۰/۲۸ روز) به زنبورهایی تعلق داشت که پس از جفتگیری و با دو نوبت تغذیه به مدت یک هفته درون یخچال ذخیره‌سازی شده بودند (جدول ۳).

نتایج مقایسه‌های ارتوگنال نشان داد که میانگین تلفات مراحل نارس در نتاج زنبورهای بدون تغذیه (۳۰/۶۴ درصد) در مقایسه با زنبورهای یک نوبت تغذیه شده (۲۲/۰۷ درصد) و دو نوبت تغذیه شده (۲۳/۵۷ درصد) به طور معنی‌داری بیش‌تر بود اما بین تلفات مراحل نارس در زنبورهای یک نوبت و دو نوبت تغذیه شده، اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت. همچنین، میانگین طول دوره‌ی نشوونمای مراحل نارس در نتاج زنبورهای بدون تغذیه (۱۱/۷۷ روز) در مقایسه با نتاج زنبورهای یک نوبت تغذیه شده (۱۱/۳۲ روز) و دو نوبت تغذیه شده (۱۱/۰۲ روز) به طور معنی‌داری بیش‌تر بود اما بین زنبورهای یک نوبت و دو نوبت تغذیه شده از این نظر اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت. میانگین طول دوره‌ی نشوونمای مراحل نارس در زنبورهای جفتگیری کرده (۱۰/۸۸ روز) در مقایسه با زنبورهای جفتگیری نکرده (۱۱/۸ روز) و زنبورهای ذخیره‌سازی شده به مدت یک هفته (۱۱/۰۱ روز) در مقایسه با زنبورهای ذخیره‌سازی شده به مدت دو هفته (۱۱/۷۲ روز) به طور معنی‌داری بیش‌تر بود (جدول ۴).

درصد ظهور و نسبت جنسی حشرات کامل

نتایج این پژوهش نشان داد که تاثیر تعداد دفعات تغذیه و وضعیت جفتگیری زنبورهای مادریِ ذخیره‌سازی شده در یخچال بر درصد ظهور حشرات کامل (به ترتیب، $F_{2,288}$= 6.09, P=0.003 و $F_{1,288}$= 8.57, P=0.004) و نسبت جنسی نتاج نسل بعد (به ترتیب، $F_{2,288}$= 6.06, P=0.0026 و $F_{1,288}$= 11.76, P=0.0007) معنی‌دار بود. در مقابل، اثر مدت زمان سرمادهی بر درصد ظهور حشرات کامل و نسبت جنسی زنبورهای خارج شده در نتاج نسل بعد معنی‌دار نبود (به ترتیب، $F_{1,288}$= 0.75, P=0.387 و $F_{1,288}$= 0.88, P=0.348). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیش‌ترین درصد ظهور حشرات کامل (۹۲/۹ درصد) در نتاج نسل بعد به زنبورهایی تعلق داشت که پس از انجام جفتگیری و دو نوبت تغذیه به مدت یک هفته درون یخچال ذخیره‌سازی شده بودند. در مقابل، کم‌ترین درصد ظهور حشرات کامل (۷۳/۳۵ درصد) در زنبورهایی مشاهده گردید که بدون جفتگیری و تغذیه به مدت دو هفته درون یخچال ذخیره شده بودند. همچنین، بیش‌ترین درصد افراد ماده در نتاج نسل بعد (۸۱/۴۲ درصد) به زنبورهایی تعلق داشت که پس از جفتگیری و دو نوبت تغذیه به مدت دو هفته درون یخچال ذخیره‌سازی شده بودند در حالی که کم‌ترین درصد زنبورهای ماده (۴۸/۴ درصد) در زنبورهایی مشاهده گردید که بدون جفتگیری و تغذیه به مدت دو هفته درون یخچال ذخیره شده بودند (جدول ۳).

جدول ۳- تاثیر تعداد دفعات تغذیه از ماده قندی و وضعیت جفتگیری زنبور *B. hebetor* بر چند ویژگی زیستی نتاج نسل اول (F_1)، پس از ذخیره‌سازی حشرات کامل مادری در دمای ۵ درجه سلسیوس

Table 3- Effect of sugar feeding frequency and mating status on some biological characteristics of F_1 offspring of *B. hebetor* after cold storage of maternal adult wasps in 5 ºC

Treatments	Immauters mortality (percent)	Immatures developmental time (days)	Adult emergence (percent)	Sex ratio (female%)
7-days cold storage				
no feeding-no mating	30.5±5.1bc	11.92±0.16bc	79.8±4.1cd	50.4±5.5de
once feeding-no mating	20.6±2.9de	10.88±0.23def	86.7±2.6abc	71.1±4.8abc
twice feeding-no mating	22.4±2.8cde	11.48±0.24cd	83.4±2.9bc	68.7±5.8abc
no feeding- mating	33.4±4.1ab	10.84±0.27def	84.9±3.4bc	76.7±3.4ab
once feeding- mating	28.8±4.6bcd	10.70±0.19ef	87.3±3.2abc	70.5±2.9abc
twice feeding-mating	23.8±2.8cde	10.28±0.28f	92.9±2.5a	62.6±4.6acd
14-days cold storage				
no feeding-no mating	41.2±3.7a	12.92±0.20a	73.3±3.3d	48.4±6.2e
once feeding-no mating	17.9±2.1e	12.26±0.22b	84.3±3.4bc	59.7±5.4cde
twice feeding-no mating	24.4±3.3bcde	11.38±0.28cd	89.7±2.8ab	66.7±3.7bc
no feeding- mating	17.4±2.16e	11.42±0.21cd	86.9±1.9abc	61.4±4.8cde
once feeding- mating	20.8±2.7de	11.46±0.25cd	87.1±2.3abc	68.2±3.8bc
twice feeding-mating	23.6±2.5cde	10.96±0.22de	86.1±2.4abc	81.4±3.2a

*Means followed by same letters are not statistically different (LSD-test, $P < 0.05$).

بر اساس نتایج مقایسه‌های اُرتوگنال، میانگین درصد ظهور حشرات کامل در زنبورهای یک نوبت (۸۶/۱۴ درصد) و دو نوبت تغذیه شده (۸۸/۰۵ درصد) به طور معنی‌داری از زنبورهای بدون تغذیه (۸۱/۲۴ درصد) بیش‌تر بودند اما بین زنبورهای یک نوبت و دو نوبت تغذیه شده، اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت. درصد زنبورهای ماده در نتاج نسل بعد نیز شرایط مشابهی داشت و میانگین آن در زنبورهای یک نوبت تغذیه شده (۶۷/۳۶ درصد) و دو نوبت تغذیه شده (۶۹/۸۵ درصد) به طور معنی‌داری از زنبورهای بدون تغذیه (۵۸/۹۸ درصد) بیش‌تر بود اما بین زنبورهای یک و دو نوبت تغذیه شده از این نظر، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. میانگین درصد ظهور حشرات کامل در نتاج بعدی زنبورهای جفتگیری کرده (۸۷/۵۴ درصد) در مقایسه با زنبورهای جفتگیری نکرده (۸۲/۷۴ درصد) بیش‌تر بود اما میانگین این صفت در زنبورهای یک هفته و دو هفته سرمادهی شده با همدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. نسبت جنسی نتاج نسل بعد نیز شرایط مشابهی داشت و میانگین آن در زنبورهای جفتگیری کرده (۶۹/۹۸ درصد) از زنبورهای جفتگیری نکرده (۶۰/۸۲ درصد) بیش‌تر بود اما بین زنبورهای یک هفته سرمادهی شده (۶۶/۶۵ درصد) و دو هفته سرمادهی شده (۶۴/۱۴ درصد)، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴).

بحث

ذخیره‌سازی مناسب زنبور *B. hebetor* در دماهای پایین یک ضرورت در فرایند پرورش انبوه این زنبور در انسکتاریوم‌ها و رهاسازی آن در مزارع می‌باشد. با وجود گزارش‌های متعدد در خصوص تاثیر مثبت تغذیه از ماده قندی بر تخمگذاری، طول عمر و سایر ویژگی‌های زیستی زنبور *B. hebetor* (Gündüz et al., 2010; Yazdanian et al., 2014; Ashraf et al., 2017)، در بحث ذخیره‌سازی این زنبور و زنبورهای دیگر خانواده‌ی Braconidae در سرما بیش‌تر نقش عواملی مانند دمای ذخیره‌سازی، مدت زمان ذخیره‌سازی و مرحله‌ی نشوونمایی زنبور بررسی شده (Carillo et al., 2005; Chen et al., 2011; Chen et al., 2013; Hamzehpour Chenari, 2013; Mahi et al., 2014 a,b; Mousapour et al., 2015) و نقش عوامل درونی مانند تغذیه و جفتگیری چندان مورد توجه قرار نگرفته است.

نتایج این پژوهش نشان داد که تغذیه حشرات کامل زنبور *B. hebetor* با ماده‌ی قندی (آب‌عسل) پیش از ذخیره‌سازی در یخچال، موجب افزایش مقاومت به سرما، کاهش تلفات در حین ذخیره‌سازی و افزایش میزان تخمگذاری آن‌ها پس از خروج از یخچال در مقایسه با زنبورهای بدون تغذیه شد. اما، انجام تغذیه نوبت دوم در طول ذخیره‌سازی، بر کاهش تلفات ناشی از سرما تاثیر مثبتی نداشت و فقط تخمگذاری روزانه‌ی زنبورهای ماده را افزایش داد. این نتیجه با یافته‌های محققان دیگر در مورد تاثیر تغذیه بر مقاومت به سرما در گونه‌های دیگر خانواده‌ی Braconidae مانند *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Riddick, 2001) و *Apanteles galleriae* Wilkinson) (Uçkan and Ergin, 2003 انطباق نسبی داشت. نتایج مطالعه Riddick (2001) نشان داد که تغذیه‌ی دوره‌ای حشرات کامل زنبور *C. marginiventris* از محلول آب‌عسل در طول ذخیره‌سازی در سرما باعث افزایش دو برابری درصد زنده‌مانی در مقایسه با زنبورهای بدون تغذیه شد. به اعتقاد Riddick (2001)، در دماهای زیر ۱۰ درجه سلسیوس، متابولیسم زنبورهای پارازیتویید به طور کامل متوقف می‌شود و بنابراین، انجام تغذیه در حین ذخیره‌سازی بر زنده‌مانی حشرات کامل ذخیره‌سازی شده تاثیر مثبت چندانی نخواهد گذاشت. با توجه به این که دمای ذخیره‌سازی در پژوهش حاضر پنج درجه‌ی سلسیوس بود، بنابراین عدم تاثیر مثبت تغذیه‌ی نوبت دوم در طول ذخیره‌سازی بر زنده‌مانی حشرات کامل زنبور *B. hebetor* در این دما قابل توجیه می‌باشد.

تاثیر مثبت تغذیه و کیفیت بالای رژیم غذایی بر مقاومت چند گونه شکارگر به سرما از جمله کنه شکارگر *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Ghazi et al., 2014) و سن‌های شکارگر *Podisus maculiventris* (Say) (Coudron et al., 2007) و *Perillus bioculatus* (Fabricius) (Coudron et al., 2009) نیز گزارش شده است. با این حال، در

جدول ٤ – مقایسه گروهی (اُرتوگنال) ویژگی‌های مهم زنبور *B. hebetor* در نتاج نسل اول (F_1) در گروه‌های مختلف تیماری، پس از ذخیره‌سازی حشرات کامل مادری در دمای ٥ درجه سلسیوس

Table 4 - Orthogonal comparisons of the main characteristics of F_1 generation of *B. hebetor* in different groups of treatment, after cold storage of maternal adults in 5 ºC

Orthogonal comparisons	Means			
	Immauters mortality (percent)	Immatures developmental time (days)	Adult emergence (percent)	Sex ratio (female%)
no-feeding *vs.* feeding	30.64 *vs* 22.82**	11.77 *vs* 11.17***	81.24 *vs* 87.09***	58.98 *vs* 68.61***
no-feeding *vs.* twice feeding	30.64 *vs* 23.57**	11.77 *vs* 11.02***	81.24 *vs* 88.04***	58.98 *vs* 69.85***
no-feeding *vs.* once feeding	30.64 *vs* 22.07**	11.77 *vs* 11.32***	81.24 *vs* 86.14*	58.98 *vs* 67.36***
twice feeding *vs.* once feeding	23.57 *vs* 22.07^{ns}	11.02 *vs* 11.32^{ns}	88.04 *vs* 86.14^{ns}	69.85 *vs* 67.36^{ns}
mated *vs.* non-mated	24.66 *vs* 26.19^{ns}	10.88 *vs* 11.80***	87.54 *vs* 82.74***	69.98 *vs* 60.82***
7-days *vs.*14-days cold storage	30.55 *vs* 24.24^{ns}	11.01 *vs* 11.72***	85.85 *vs* 84.43^{ns}	66.65 *vs* 64.14^{ns}

ns, * and ** mean non- significant, and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

برخی از حشرات شکارگر بین میزان گرسنگی و تحمل به سرما ارتباط معنی‌داری مشاهده نشده است (Scharf et al., 2017). که این موضوع نشان می‌دهد تاثیر تغذیه بر شرایط فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و به دنبال آن، مقاومت به سرما ممکن است بر حسب گونه‌ی حشره متفاوت باشد.

به طور کلی در پارازیتوییدهایی که به شکل حشره‌ی کامل ذخیره می‌شوند (مانند *B. hebetor*)، تغذیه حشرات کامل از مواد قندی پیش، در حین یا پس از ذخیره‌سازی می‌تواند موجب افزایش مقاومت به سرما و کاهش تلفات ناشی از آن شود (Colinet and Boivin, 2011). عدم دسترسی به مواد قندی و گرسنگی ناشی از آن موجب کاهش چشمگیر و سریع ذخایر لیپید و گلیکوژن در بافت‌های بدن زنبور *B. hebetor* می‌شود (Gündüz et al., 2010; Gündüz et al., 2011). بررسی تاثیر تغذیه از مواد قندی بر متابولیسم کربوهیدرات‌ها و لیپیدها در زنبور پارازیتویید *Macrocentrus grandii* Goidanich (Braconidae) نیز نشان داد که گرسنگی موجب کاهش سطح گلیکوژن و تریهالوز گردیده است (Olson et al., 2000). اگر چه در پژوهش حاضر مقادیر کربوهیدرات‌ها و لیپیدها در بافت‌های بدن زنبور *B. hebetor* اندازه‌گیری نشد اما گرسنگی احتمالاً موجب کاهش سطح این ترکیبات در بافت‌های بدن زنبور و در نتیجه، افزایش میزان مرگ و میر و کاهش طول عمر و زادآوری آن بویژه پس از قرار گرفتن در معرض سرما شده است.

در پژوهش حاضر، علاوه بر تعداد دفعات تغذیه از ماده‌ی قندی، تاثیر وضعیت جفتگیری بر میزان مقاومت حشرات کامل زنبور *B. hebetor* به سرما نیز بررسی شد. نتایج نشان داد که زنبورهای جفتگیری کرده در مقایسه با زنبورهای جفتگیری نکرده به سرما مقاوم‌تر بودند و پس از ذخیره‌سازی در یخچال، مرگ‌ومیر کم‌تری را تجربه کردند و زنبورهای ماده پس از خروج از یخچال از طول عمر و میانگین تخمگذاری بیش‌تری برخوردار بودند. اگر چه وجود ارتباط بین جفتگیری و برخی ویژگی‌های زنبور *B. hebetor* از جمله زنده‌مانی، زادآوری و قدرت پارازیتیسم گزارش شده است (Askari Seyahooei et al., 2018)، اما تاثیر جفتگیری بر کارایی ذخیره‌سازی پارازیتوییدها در یخچال در مقایسه با سایر عوامل بسیار کم‌تر مورد مطالعه قرار گرفته است. در برخی از زنبورهای پارازیتویید استرین‌های ساکن در یک منطقه از نظر تولیدمثل متفاوت می‌باشند به طوری که برخی استرین‌ها دارای تولیدمثل دوجنسی و برخی دیگر دارای تولیدمثل بکرزایی (تلی‌توکی) می‌باشند (Colinet and Boivin, 2011). وجود یک ارتباط معنی‌دار بین شیوه تولیدمثل استرین‌های یک پارازیتویید با برخی ویژگی‌های زیستی مانند طول عمر، نشوونما و زادآوری (Barke et al., 2005) گزارش شده است. Rössler and DeBach (1972) نشان دادند که افراد حاصل از تولیدمثل تلی‌توکی (تولیدمثل بکرزاییِ ماده‌زایی و بدون جفتگیری) در زنبور *Aphytis mytilaspidis* (Le Baron) در مقایسه با افراد حاصل از تولیدمثل آرنوتوکی (بکرزایی نرزایی) به دماهای بالا سازگارتر بودند. همچنین، در زنبور *Trichogramma minutum* Riley جمعیت‌های دارای تولیدمثل تلی‌توکی در مقایسه با جمعیت‌های دارای تولیدمثل آرنوتوکی ذخیره‌سازی در سرما را بهتر تحمل کردند (Wang and Smith, 1996). دلایل فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این تفاوت‌ها هنوز به خوبی روشن نشده است اما ممکن است با نوع و مقدار ترکیباتی که هنگام جفتگیری مبادله می‌شوند (به عنوان مثال، اسپرم و ترکیبات همراه آن) در ارتباط باشد. به علاوه، این احتمال وجود دارد که همولنف یا کوتیکول افراد جفتگیری کرده و جفتگیری نکرده (باکره) از نظر نوع و مقدار ترکیبات شیمیایی متفاوت باشند و این تفاوت‌های بیوشیمیایی بر میزان مقاومت

آن‌ها به سرما موثر باشد. در یکی از معدود مطالعات انجام شده روی بیوشیمی کوتیکول زنبور *B. hebetor*، متفاوت بودن مقدار هیدروکربن‌ها در کوتیکول افراد جفتگیری کرده و باکره تایید شده است (Howard and Baker, 2003).

با وجود گزارش اثر مثبت تغذیه‌ی از ماده قندی بر طول عمر و زادآوری زنبور *B. hebetor* در اغلب مطالعات، بررسی‌های میدانی در انسکتاریوم‌های استان گلستان (محل انجام این تحقیق) نشان داد که پرورش‌دهندگان این پارازیتویید معمولاً از ماده‌ی قندی برای تغذیه‌ی زنبور استفاده نمی‌کنند. بنابراین، اسپری کردن یک ماده قندی مانند محلول آب‌عسل بر روی کابین‌های پرورش این زنبور در انسکتاریوم‌ها بویژه اگر تولیدکننده قصد ذخیره‌سازی پارازیتویید در یخچال را داشته باشد، توصیه می‌شود. همچنین، با توجه به مقاوم‌تر بودن زنبورهای جفتگیری کرده به سرما، توصیه می‌شود در صورت نیاز به ذخیره‌سازی این زنبور در یخچال، علاوه بر اسپری کردن ماده‌ی قندی بر روی کابین‌های پرورش، زنبورهای خارج شده در کابین‌ها بلافاصله جمع‌آوری نشوند بلکه مدتی (حداقل ۲۴ ساعت) به آن‌ها فرصت داده شود تا علاوه بر تغذیه، شانس جفتگیری آن‌ها نیز بیش‌تر شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به خاطر تامین هزینه‌های این پژوهش قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

Al-Tememi, N.K., and Ashfaq, M., 2005. Effect of low temperature storage on the fecundity and parasitizing efficacy of Bracon hebetor (Say). Journal of Agricultural Research, 43 (2):155-160.

Ashraf, S., Zain ul Abedin, Abbas S.K., Ahmad Khan, R.S., Tahir, M., Rasool, S., Anwar, M., and Hussain, F. 2017. Effect of different diet concentrations on longevity and fecundity of parasitic wasp *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera:Braconidae). Pakistan Journal of Zoology, 49(3): 761-767.

Askari Seyahooei, M., Bagheri, A., Bavaghar, M., Doust, A., and Parichehreh, Sh. 2018. Mating and carbohydrate feeding impacts on life-history traits of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). Journal of Economic Entomology, doi: 10.1093/jee/toy253.

Barke, J., Leach, I.M., and Beukeboom, L.W. 2005. Fitness of arrhenotokous and thelytokous *Venturia canescens*. Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting, 16: 27-35.

Bayram, A., Ozcan, H., and 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.

Carrillo, M.A., Heimpel, G.E., Moon, R.D., Cannon, C.A., and Hutchison, W.D. 2005. Cold hardiness of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of pyralid moths. Journal of Insect Physiology, 51: 759-768.

Chen, H., Opit, G.P., Sheng, P., and Zhang, H. 2011. Maternal and progeny quality of *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) after cold storage. Biological Control, 58: 255-261.

Chen, H., Zhang, H., Zhu, K.Y., and Throne, J. 2013. Performance of diapausing parasitoid wasps, *Habrobracon hebetor*, after cold storage. Biological Control, 64: 186-194.

Colinet, H., and Boivin, G. 2011. Insect parasitoids cold storage: a comprehensive review of factors of variability and consequences. Biological Control, 58: 83-95.

Colinet, H., and Hance, T. 2010. Interspecific variation in the response to low temperature storage in different aphid parasitoids. Annals of Applied Biology, 156: 147-156.

Coudron, T.A., Ellersieck, M.R., and Shelby, K.S., 2007. Influence of diet on long-term cold storage of the predator *Podisus maculiventris* (Say) (Heteroptera: Pentatomidae). Biological Control, 42: 186-195.

Coudron, T.A., Popham, H.J.R., and Ellersieck, M.R. 2009. Influence of diet on cold storage of the predator *Perillus bioculatus* (F.). BioControl, 45(6): 773-783.

Ghazy, N.A., Ohyama, K., Amano, H., and Suzuki, H. 2014. Cold storage of the predatory mite, *Neoseiulus californicus* is improved by pre-storage feeding on the diapausing spider mite *Tetranychus urticae*. BioControl, 59(2): 185-194.

Gündüz, E.A., Gulel, A., Işitan, O.V., Boz, A., and Cesur, O. 2010. Effects of sugar feeding on lipid, glycogen, and total sugar levels of a female parasitoid, *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae).Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 34: 343-347.

Gündüz, E.A., Gulel, A., Işitan, O.V., Gülel, A., Boz, A., and Polat, P. 2011. Lipid, total sugar and glycogen composition in the parasitoid, *Bracon hebetor* Say, 1836 (Hymenoptera: Braconidae) during starvation. Turkish Bulletin of Entomology, 1(4): 221-227.

Hamzehpour Chenari, E. 2013. Effect of cold storage on development and reproduction of *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) under laboratory conditions. M.Sc. Thesis. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (In Farsi with English abstract).

Hanna, A.D. 1935. Fertility and tolerance of low temperature in *Euchalcidia carybori* Hanna (Hymenoptera: Chalcidinae). Bulletin of Entomological Research, 26: 315-322.

Howard, R.W., and Baker, J.E. 2003. Cuticular hydrocarbons and wax esters of the ectoparasitoid *Habrobracon hebetor*: Ontogenetic, reproductive, and nutritional effects. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 53:1-18.

Huang, X.F. 1986. Use of *Habrobracon hebetor* Say in granary pest control. Chinese Journal of Biological Control, 2: 78-80.

Johnson, J.A., Valero, K.A., Hannel, M.M., and Gill, R.F., 2000. Seasonal occurrence of postharvested dried fruit insects and their parasitoids in a culled fig house. Journal of Economic Entomology, 93: 1380-1390.

Leopold, R.A., 2007. Colony maintenance and mass-rearing: using cold storage technology for extending shelf-life of insects. In: Vreysen, M.J.B., Robinson, A.S., and Hendrichs, J. (Eds.). Area-Wide Control of Insect Pests. Springer, Netherlands. pp. 149-162.

Leopold, R.A. and Chen, W. 2007. Cold storage of the adult stage of *Gonatocerus ashmeadi* Girault: The impact on maternal and progeny quality. In: Esser, T., Blincoe, P., West, D., Mochel, M., and Veling, S. (Eds.), Proceedings of the 2007 Pierce's Disease Research Symposium, San Diego, CA. pp. 42-46.

Mahi, H., Rasekh, A., Shishebor, P. 2014a. Chill storage of bisexual population of *Lysiphlebus fabarum* (Braconidae: Aphidiinae). Plant Protection, 37(2): 65-78 (In Farsi with English abstract).

Mahi, H., Rasekh, A., Michaud, J.P., Shishebor, P. 2014b. Biology of *Lysiphlebus fabarum* following cold storage of larvae and pupae. Entomologia Experimentalis et Applicata, 153(1): 10-19.

Mousapour, Z., Askarianzadeh, A., and Abbasipour, H. 2015. Cold storage of adult parasitoid wasp, *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) and the flour moth larvae, *Anagasta kuehniella* (Zeller) at 12°C. Plant Pests Research, 5(3): 17-29 (In Farsi with English abstract).

Mousapour, Z., Askarianzadeh, A., and Abbasipour, H. 2014. Effect of cold storage of pupae parasitoid wasp, *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae), on its efficiency. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 47(8): 966-972.

Najafi Navaei, I., Taghizadeh, M., Javanmoghaddam, H., Oskoo, T. and Attaran, M.R. 2002. Efficiency of parasitoid wasps, *Trichogramma pintoii* and *Habrobracon hebetor* against *Ostrinia nubilalis* and *Helicoverpa* sp. on maize in Moghan. Proceedings of the 15th Iranian Plant Protection Congress. Razi University of Kermanshah, Iran. P. 327.

Okine, J.S., Mitchell, E.R., and Hu, G.Y. 1996. Low temperature effect on viability of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) pupae and effect of this parasitoid on feeding rate of diamondback moth larvae (Lepidoptera: Plutellidae). Florida Entomologist, 79(4): 503-509.

Olson, D. M., Fadamiro, H., Lundgren, J.G., and Heimpel, G.E. 2000. Effects of sugar feeding on carbohydrate and lipid metabolism in a parasitoid wasp. Physiological Entomology, 25: 17-26.

Riddick, E.W. 2001. Effect of cold storage on emergence, longevity, fertility, and survival of *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). Journal of Entomological Science, 36, 366-379.

Rivers, D.B., Jr Lee, R.E., and Denlinger, D.L. 2000. Cold hardiness of the fly pupal parasitoid *Nasonia vitripennis* is enhanced by its host *Sarcophaga crassipalpis*. Journal of Insect Physiology, 46: 99-106.

Rössler, Y., and DeBach, P., 1972. The biosystematic relations between a thelytokous and an arrhenotokous form of *Aphytis mytilaspidis* (Le Baron) [Hymenoptera: Aphelinidae] I. The reproductive relations. BioControl, 17: 391-423.

SAS Institute Inc. 2002. SAS System for Windows Version 9.0, Cary, NC, USA.

Scharf, I., Daniel, A., Macmillan, H.A., and Katz, N. 2017. The effect of fasting and body reserves on cold tolerance in 2 pit-building insect predators. Current Zoology, 63(3): 287-294.

Tunca, H., Yeşil, A.N., and Çalişkan, T.F. 2014. Cold storage possibilities of a larval parasitoid, *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae). Turkish Journal of Entomology, 38 (1): 19-29.

Uçkan, F. and Ergin, E. 2003. Temperature and food source effects on adult longevity of *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae). Environmental Entomology, 32: 441-446.

Wang, Z., and Smith, S.M. 1996. Phenotypic differences between thelytokous and arrhenotokous *Trichogramma minutum* from *Zeiraphera canadensis.* Entomologia Experimentalis et Applicata, 78(3): 315-323.

Yazdanian, M., Khabbaz Saber, H. and Afshari, A. 2014. Effect of sugar concentration and feeding frequency on adult's longevity and progeny production of the parasitoid wasp, *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). Plant Pests Research, 3(4): 1-16 (In Farsi with English abstract).

Yazdanian, M., Haddad Irani Nejad, K. and Mashhadi Jafarloo, M. 2005. Determining the number of larval instars of the Mediterranean flour moth, *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera, Phycitidae) in laboratory conditions. Agricultural Science, 15: 45-54 (In Farsi with English abstract).

© 2019 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Effect of sugar feeding frequency and mating status on the cold storage efficacy of adult *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae)

A. Aliabadi[1], A. Afshari[2*] and M. Yazdanian[3]

1. Former M.Sc. student of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2. ***Corresponding author:** Associate Professor of Entomology, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran (Afshari@gau.ac.ir)
3. Assistant Professor of Entomology, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

(DOI): 10.22055/ppr.2019.14744

Received: 5 March 2019 Accepted: 11 June 2019

Abstract

Background and Objectives

Bracon hebetor Say is a well-known cosmopolitan ectoparasitoid that attacks the larvae of various lepidopteran pests, especially cotton boll worm, *Helicoverpa armigera*. Cold storage is a general technique for long-term preservation of this parasitoid in insectaries. Most parasitoids require sugar supplemental sources as a source of energy in adult stage. Because of the need to enhance cold storage efficacy in commercial insectaries, this study was carried out to assess effects of feeding frequencies and mating status on biological and reproductive characteristics of maternal wasps and their progeny (F_1) stored in refrigerator (5±1˚C) for two durations of 7 and 14 days.

Materials and Methods

B. hebetor reared on the 4-5 instars larvae of *Anagasta kuehniella* in a climate-controlled room, at 26 ± 2˚C, 50±5% RH, and a 16:8 (L:D)h. photoperiod. The effect of feeding frequency was studied in three levels of "without feeding" (starved wasps), "one-time feeding" before cold storage, and "two-time feedings" (before and during cold storage). Mating status was investigated in two "mated" and "unmated" levels. After each treatment, adult parasitoids were stored inside a refrigerator (5±1˚C) for two periods of 7 and 14 days, and mortality, longevity and fecundity of maternal parasitoids were subsequently assessed. Immature's developmental time and mortality, percentage of adult emergence and sex ratio were also investigated for progenies in next generation. The experiment was carried out using a factorial experimental design and obtained data were analyzed using SAS software, and LSD mean comparison test.

Results

Results showed that sugar feeding and mating of parasitoid before beginning of cold storage decreased mortality during storage and increased fecundity compared to starved and unmated wasps. The highest mortality of females (33.2%) was observed in starved and unmated wasps that were stored in refrigerator for 14 days. In contrast, the lowest mortality of females (7.71%) belonged to mated parasitoids that fed twice (before and during cold storage) on honey solution and stored for 7 days. Feeding on honey solution by maternal adult parasitoids reduced immature's mortality and their developmental time in progenies of next generation. Means of immature's mortality and developmental time in fed wasps (22.82 percent and 11.17 days, respectively) were significantly lower than starved ones (30.64 percent and 11.77 days, respectively).

Discussion

According to our results, feeding on honey solution increased cold-tolerance of both male and female *B. hebetor* adults. So that, honey-fed adult parasitoids had lower mortality and higher fecundity than starved ones. Similar to feeding, our results showed that mated parasitoids had higher survival and fecundity than unmated ones. Also, feeding and mating of cold-stored maternal parasitoids had a positive effect on the survival and development of progenies in next generation. In conclusion, spraying honey solution on the rearing cages of *B. hebetor* and providing sufficient time for mating before storing in refrigerator, are recommended to improved cold-storage efficacy of this parasitoid in insectaries.

Keywords: Bracon hebetor, Cold storage, Feeding, Mating