نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵، ص. ۲۸۳-۲۷۰

Journal of Plant Protection
Vol. 30, No. 2, Summer 2016, P. 270-283

تأثیر دماهای ثابت و نوسان‌دار، هنگام نگهداری لارو زنبور پارازیتوئید *Lysiphlebus fabarum* (Hym., Braconidae) در دمای پایین

حسین ماهی[۱]- آرش راسخ[۲*]- پرویز شیشه بر[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۹/۲۵

چکیده

نگهداری در سرما یک عامل استرسی بوده و روی پارامترهای مختلف شایستگی حشرات اثر منفی می‌گذارد. طراحی و تکمیل روش‌های نگهداری در سرما برای بیمه کردن مهارکننده‌های زیستی تولید شده از اهمیت زیادی برخوردار است. در این مطالعه جمعیت هم‌سنی از لاروهای سن آخر جمعیت جنسی زنبور (Marshall) *Lysiphlebus fabarum*، پارازیتوئید شته‌های سیاه باقلا (*Aphis fabae* Scopoli)، در دو رژیم دمایی نوسان‌دار (انتقال روزانه به مدت دو ساعت به دمای ۱±۲۱ °C) و یا ثابت (بدون انتقال به دمای بالاتر)، در دمای شش درجه سانتی‌گراد نگهداری و این شته‌های پارازیته در هر رژیم بعد از یک، دو و یا سه هفته از سرما خارج و به اتاق رشد منتقل شدند. با ظهور حشرات کامل، فاصله زمانی تا ظهور، نرخ ظهور، نسبت جنسی، طول ساق پا، بار تخم و اندازه تخمک آنها تعیین شد. مطابق با نتایج، پس از سه هفته نگهداری در سرما، رژیم دمایی ثابت مناسب‌تر از نوسان‌دار بود، چرا که علاوه بر افزایش مدت زمان ظهور (هر دو جنس نر و ماده)، نسبت جنسی، طول ساق پا (حشرات نر و ماده) و بار تخم بالاتری را نسبت به رژیم دمایی نوسان‌دار موجب شد. در هفته سوم نگهداری فقط اندازه تخمک حشرات نگهداری شده در رژیم ثابت کمتر از رژیم نوسان‌دار بود. اما در لاروهایی که به مدت دو هفته در سرما نگهداری شدند، صرف نظر از مدت زمان ظهور، رژیم دمایی نوسان‌دار مناسب‌تر بود چرا که حشرات در این رژیم دمایی نرخ ظهور، نسبت جنسی، طول ساق پا و اندازه تخمک بیشتری نسبت به رژیم دمایی ثابت داشتند.

واژه‌های کلیدی: تولید انبوه، شته سیاه باقلا، نسبت جنسی، نگهداری در سرما

مقدمه

تولید انبوه حشرات و کنه‌ها به منظور مهار آفات کشاورزی، ریشه در چین باستان داشته و در ایالات متحده از ۱۰۰ سال پیش آغاز شده است (۲۶). در آمریکا، حاصل فعالیت ۱۳۲ شرکت، تولید بیشتر از ۱۲۰ گونه مختلف از عوامل مهارکننده‌ی زیستی (حشرات و کنه‌های شکارگر) می‌باشد، به صورتی که تنها تولید یکی از این شرکت‌ها بالغ بر ۱۰۰ میلیون زنبور پارازیتوئید در روز گزارش شده است (۳۸).

اغلب حشرات به کار رفته در برنامه‌های مهار زیستی، زمان ماندگاری نسبتا کوتاهی دارند، بنابراین آنها باید زمان کوتاهی قبل از استفاده، تولید شوند. ذخیره در دمای پایین یک روش ارزشمند برای افزایش ماندگاری دشمنان طبیعی نظیر پارازیتوئیدها بوده و به عنوان پیش نیاز برنامه‌های مهار زیستی، یک ذخیره‌ی ثابت و کافی از حشرات را فراهم می‌کند (۱۸). ذخیره‌سازی در سرما اجازه‌ی رهاسازی دشمنان طبیعی در مزارع همزمان با دوره اوج آفات را فراهم کرده (۱۷ و ۳۸) و همچنین می‌تواند رهاسازی در شرایط آب و هوایی مطلوب (دما، رطوبت و جریان باد مناسب) (۶۵) را تضمین کند. علاوه بر موارد ذکر شده، این روش می‌تواند با توزیع دوره‌ی تولید در سراسر سال، هزینه‌های برنامه‌ی مهار زیستی را کاهش دهد (۱۵).

در مورد پارازیتوئیدهای شته‌ها، دماهای به کار رفته برای ذخیره سازی طولانی در سرما، به گونه زنبور بستگی داشته و عموما بین صفر تا هفت درجه سانتی‌گراد بوده است (۷، ۱۸، ۴۷، ۵۵، ۵۹ و ۶۴). ذخیره در سرما یک عامل استرسی بوده (۳۵) و روی نرخ مرگ و میر طی ذخیره‌سازی (۱۹ و ۳۹) و پارامترهای مختلف شایستگی نظیر زمان رشد و نمو (۶۳)، طول عمر (۳، ۱۸ و ۵۸)، باروری (۴۶)، نسبت جنسی (۳۰ و ۳۹)، تولید اسپرم (۳، ۱۶ و ۳۶) و عقیم شدن نرها و ماده‌ها (۳۹)، مرفوژنزیز (۶۰)، از جمله شکل بال‌ها (۱۶) و شاخک‌ها (۳ و ۱۰)، عدم تقارن شاخک‌ها (۱۰) و توانایی پرواز (۴۰) تاثیرگذار است. با توجه به اهمیت زیاد این پارامترها در کیفیت پارازیتوئیدهای

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش آموخته‌ی کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
(*- نویسنده مسئول: (Email: a.rasekh@scu.ac.ir

تولیدی (۶۷)، طراحی و تکمیل روش‌های ذخیره‌سازی برای بیمه کردن مهارکننده‌های زیستی تولید شده از بیش‌ترین اهمیت برخوردار است (۹، ۳۸ و ۵۱) و می‌توانند در بهبود شاخص کیفیت یک پارازیتوئید بعد از مواجهه با سرما کمک کند (۸، ۳۲ و ۴۰).

تاکنون مطالعات متعددی به منظور کاستن از اثرات منفی ذخیره سازی در سرما انجام شده است، از جمله مطالعات اخیر نشان داده است که کاربرد رژیم دمایی نوسان‌دار طی ذخیره‌سازی (انتقال حشره از دمای ذخیره به شرایط بهینه، به طور روزانه و به مدت کوتاه)، می تواند اثرات نامساعد فیزیولوژیکی را کاهش دهد (۱۱، ۱۶، ۱۹ و ۳۰) و منجر به بهبود میزان ظهور شود (۳۸). این انتقالات دوره‌ای از سرعت و مقدار خسارات کاسته و فرصت اصلاح فیزیولوژیکی را فراهم می کند (۲۰، ۲۱ و ۳۳). علاوه بر اثرات مفید بقا، رژیم دمایی نوسان‌دار همچنین به حفظ توانایی تولیدمثلی و حرکت حشرات در زنبور *Aphidius colemani* Viereck کمک کرده است (۱۵ و ۱۶).

در اغلب مطالعات ذخیره‌سازی در سرما، علاوه بر درجه حرارت، مدت زمان قرار گرفتن در معرض سرما از اهمیت زیادی برخوردار است (۳۴). چنان‌چه وقتی که دوره‌های زمانی متفاوت آزمایش شد، همراه با افزایش دوره زمانی، بقا کاهش یافت (۱۵، ۱۶، ۳۵ و ۳۷). در نتیجه در برنامه‌های مهار زیستی، سرما نگهداری پارازیتوئید وقتی مطلوب می‌باشد که در رژیم دمایی معین، حداکثر مدت زمان ممکن برای ذخیره‌سازی مشخص شده باشد و در آن مدت زمان، زیان‌هایی از جمله مرگ‌ومیر و کاهش شایستگی بقا، به حداقل خود رسیده باشند (۳).

در پارازیتوئیدها به منظور بررسی کیفیت حشرات تولیدی در پرورش انبوه، ویژگی‌های زیستی مانند اندازه بدن، دوره رشد و نمو، نرخ ظهور، نسبت جنسی، میزان باروری، بار تخم و اندازه تخم، بعد از ذخیره‌سازی در سرما (۳۸) مورد بررسی قرار می‌گیرد، چرا که به طور کامل عملکرد این حشرات در مزرعه به این ویژگی‌های زیستی وابسته است (۵۷). از طرفی نبود شاخص‌های مورد نیاز برای ارزیابی کیفیت دشمنان طبیعی تولید شده در انسکتاریوم‌ها، می‌تواند منجر به شکست در مهار آفت شود (۶۷).

اندازه بدن به عنوان یک ویژگی کلیدی در اکولوژی (۵)، روی همه‌ی جنبه‌های فیزیولوژیکی و تاریخ زندگی و در نتیجه شایستگی تاثیر می‌گذارد (۱۳). اندازه بزرگتر بدن به ویژه در نرها با شایستگی بیشتر در گونه‌های مختلف جانوران در ارتباط است (۴ و ۱۳). در پارازیتوئیدها از طول ساق پا به عنوان شاخص مناسبی برای پیشگویی اندازه بدن نام برده شده است (۲۸). بررسی‌های انجام شده روی جمعیت دوجنسی (۴۳) و ماده‌زای (۲) زنبور پارازیتوئید *L. fabarum* نشان داده است که طول ساق پای عقب شاخص مرفومتریک مناسبی برای تخمین طول بدن می‌باشد. بنابراین در تحقیق حاضر نیز از این شاخص استفاده شد. همچنین در مطالعه حاضر از اندازه تخمک برای پیش‌بینی شایستگی نتاج استفاده شد چرا که بر اساس مطالعات قبلی این شاخص همراه با بار تخم تاثیر اساسی بر شایستگی و پویایی جمعیت دارد (۲۷).

در خانواده Braconidae، زنبورهای زیرخانواده‌ی Aphidiinae، نقش مهمی در مهار شته‌ها دارند چرا که این زنبورها به عنوان پارازیتوئیدهایی انفرادی و کوینوبیونت[1]، فقط انگل شته‌ها می‌باشند (۶۱). زنبور *Lysiphlebus fabarum* Marshall با دارا بودن دو جمعیت جنسی (نرزا[2]) و غیرجنسی (ماده‌زا) به عنوان مهم‌ترین پارازیتوئید شته‌ها در شمال ایران و مرکز اروپا نام محسوب می‌شود (۵۰). این زنبور در مهار بیش از ۷۰ گونه شته‌ی خسارت‌زای محصول های کشاورزی و باغی نقش دارد (۶۶ و ۶۹). جمعیت جنسی *L. fabarum* به طور گسترده‌ای در اهواز (۴۲ و ۴۹) گزارش شده است.

هدف از اجرای این پژوهش، تعیین مزایای احتمالی استفاده از رژیم دمای نوسان‌دار در مقایسه با رژیم دمایی ثابت هنگام نگهداری لارو سن آخر جمعیت جنسی زنبور *L. fabarum* در سرما (۶ درجه‌ی سانتی‌گراد) بوده و این موضوع در طی دوره‌های مختلف زمانی (یک، دو و سه هفته) روی هر دو جنس نر و ماده این پارازیتوئید مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری شته و زنبور پارازیتوئید

شته سیاه باقلا *Aphis fabae* Scopoli در بهار ۱۳۹۱ با نمونه برداری از مزارع باقلای اهواز به دست آمد. این شته‌ها روی رقم شامی گیاه باقلا (*Vicia fabae* L.)، کشت شده در گلدان‌های حاوی خاک اره پرورش یافتند. طی نمونه‌برداری شته‌های مومیایی شده جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. حشرات ظاهر شده زنبور پارازیتوئید *L. fabarum* تشخیص داده شد و با انجام آزمایش تکمیلی (تمامی نتاج حاصل از ماده‌های باکره، نر بودند) جمعیت زنبور، جنسی تشخیص داده شد. کلنی این زنبور روی باقلاهای آلوده به شته سیاه باقلا تشکیل شد. پرورش حشرات (شته و زنبور پارازیتوئید) در اتاقک پرورش (شرایط دمایی۱±۲۱ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵±۵۵٪ و دوره روشنایی به تاریکی، ۱۶ به ۸) صورت پذیرفت.

تشکیل جمعیت هم‌سن از شته و زنبور پارازیتوئید

در این مطالعه به منظور افزایش دقت آزمایش‌ها از جمعیت هم سن زنبور پارازیتوئید *L. fabarum* پرورش یافته در پوره سن دوم شته سیاه باقلا استفاده شد. پوره سن دوم شته سیاه باقلا، مناسب‌ترین سن برای زنبور بوده و بزرگترین زنبورهای نتاج در این سن رشدی

1- Koinobiont
2- Arrhenotokous

میزبان پرورش یافتند (۴۳). برای فراهم کردن شته‌های هم‌سن[1]، تعداد ۱۰۰ شته بالغ از کلنی انتخاب شدند و به مدت ۱۰ ساعت (بر اساس آزمایش‌های مقدماتی، مناسب‌ترین مدت برای تولید تعداد کافی پوره با حداقل فاصله سنی) روی یک شاخه جوان باقلا قرار گرفتند. با حذف شته‌های بالغ، پوره‌های جوان روی شاخه پرورش یافتند و پس از ۵۴ ساعت (۶±) به سن رشدی مورد نظر رسیدند. در ادامه به هر شاخه که حاوی ۲۰۰ عدد پوره سن دوم شته بود، ۳۰ زنبور ماده‌ی جفت‌گیری کرده و شش زنبور نر (جهت اطمینان از جفت گیری ماده‌های باکره‌ی احتمالی) تغذیه شده با محلول ۳۰٪ عسل (رول پنبه‌ای) و آب (روزانه دو مرتبه اسپری) که خود حاصل از پوره های هم‌سن سن دوم شته بودند، معرفی شد. پس از ۱۰ ساعت، این زنبورهای دو روزه حذف و شته‌های پارازیته شده تا رسیدن به مرحله رشدی لارو سن آخر (شته پارازیته غیرمتحرک) برای به کارگیری در آزمایش ذخیره در سرما، نگهداری شدند.

مقایسه رژیم دمایی نوسان‌دار و ثابت بر شایستگی نتاج نر و ماده

در این آزمایش، به شرح بالا جمعیت هم‌سن بزرگی (حدود ۱۰۰۰ عدد) از شته‌های پارازیته تشکیل شد و در مرحله‌ی لارو سن آخر زنبور (۶±۱۲۰ ساعت از زمان پارازیتیسم)، این شته‌های پارازیت شده ی غیرمتحرک به دو گروه تقسیم شدند. در گروه اول در دمای شش درجه سانتی‌گراد به صورت رژیم دمایی نوسان‌دار (انتقال روزانه به مدت دو ساعت به دمای ^{o}C ۱±۲۱) و در گروه دوم در این دما به صورت رژیم دمایی ثابت (بدون انتقال به دمای بالاتر) ذخیره شدند. در هر گروه، شته‌های پارازیته خود به سه قسمت تقسیم شدند که به ترتیب بعد از یک هفته، دو هفته و سه هفته از شرایط ذخیره‌ی سرمایی خارج و به شرایط اتاق رشد منتقل شدند. لازم به ذکر است که تیمارهای شاهد به شرایط سرمایی انتقال نیافتند. به منظور جلوگیری از آسیب‌های ناشی از دستکاری، شته‌های پارازیته شده روی شاخه‌ها باقی ماندند و به همین صورت به شرایط سرمایی منتقل شدند. از آن‌جایی در مطالعات متعددی اثرات مثبت کاهش و افزایش پلکانی دما، اثبات شده است (۶۲ و ۶۴)، در این آزمایش در نخستین بار انتقال لاروهای سن آخر از اتاق رشد به شرایط ذخیره و همچنین انتقال مرحله رشدی حشره از شرایط ذخیره به اتاق رشد (با اتمام طول دوره‌ی سرمادهی)، با وقفه‌های دو ساعته به ترتیب از روش کاهش و افزایش پلکانی دما (دو درجه‌ای) استفاده شد.

به منظور القای شرایط دیاپوز که خود منجر به افزایش مقاومت سرمایی خواهد شد (۴۸)، لاروهای سن آخر طی مدت زمان ذخیره سازی در سرما، در شرایط نوری روز کوتاه (۱۰:۱۴ دوره روشنایی به تاریکی) نگهداری شدند. در تمامی تیمارها، همراه با ظهور نتاج نر و ماده، فاصله زمانی خروج لاروهای سن آخر از سرما تا ظهور حشرات کامل (با دو بار بازدید روزانه)، نرخ ظهور، نسبت جنسی (نسبت ماده‌ها به کل بالغین) و طول ساق پای عقب (سمت راست) تعیین شد. علاوه بر این در مورد حشرات ظاهر شده‌ی ماده، تعداد و اندازه تخمک‌های بالغ (مساحت) به دست آمد. به این منظور انجام این اندازه‌گیری‌ها، زنبورهای تازه ظاهر شده (۱۰- ۶ ساعته)، با قرار گرفتن در بخار الکل (به مدت دو دقیقه) کشته شدند. سپس توسط دوربین دیجیتال[2] متصل به بینوکولار، از ساق پای عقب آنها عکس (بزرگنمایی ۱۰۰ برابر) گرفته شد. به منظور شمارش تعداد تخمک‌های بالغ، تخمدان‌های زنبورهای ماده روی یک لام شیشه‌ای (در محلول ۷/۵ گرم بر لیتر NaCl) تشریح و از کل تخمک‌های آنها عکس‌برداری (بزرگنمایی ۱۰۰ برابر) شد. در ادامه به منظور اندازه‌گیری مساحت تخمک‌ها، از ۱۵- ۱۰ تخمک بالغ مجاور هم با بزرگنمایی بالاتر (۲۴۰ برابر) عکس برداری شد. پس از پایان عکس‌برداری، به کمک نرم‌افزار[3] ImageJ، طول ساق پای هر یک از زنبورها برحسب میلی‌متر (با دقت ۰/۰۰۳ میلی‌متر) تعیین و تعداد کل تخمک‌های درون دو تخمدان شمارش شد. در مورد مساحت تخمک‌ها، مساحت یکایک ۱۵- ۱۰ تخمک بالغ به کمک نرم‌افزار ImageJ به دست آمد و میانگین مساحت آنها (برحسب میلی‌متر مربع)، به عنوان مساحت تخمک‌های هر یک از زنبورهای ماده در نظر گرفته شد.

محاسبه‌های آماری

نظر به وجود دو عامل[4] رژیم دمایی (ثابت و نوسان‌دار) و مدت ذخیره‌سازی (صفر، یک، دو و سه هفته) نوع جمعیت زنبور و تراکم های مختلف زنبور، جهت تعیین اختلاف آماری بین تیمارها از آزمون آماری تجزیه واریانس دو طرفه[5] و برای تعیین اختلاف بین گروه‌ها از آزمون تکمیلی بونفرونی[6] (در سطح ۰/۰۵) استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های نسبتی (نرخ ظهور و نسبت جنسی) از مدل‌های خطی تعمیم یافته[7] استفاده شد. در این مدل از توزیع دو جمله‌ای خطا[8] با تابع لوژیت[9] استفاده شد. محاسبات آماری توسط نرم افزار SPSS[10] صورت گرفت.

1- Synchronous cohort

2- Nikon Coolpix S10, Nikon Corporation, Tokyo, Japan
3- National institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA
4- Independent variable
5- Two-way ANOVA
6- Post Hoc-Bonferroni
7- Generalized Linear Models
8- Binomial error distribution
9- Logit link function
10- IBM® SPSS® Statistics (Version 20)

نتایج

مقایسه‌ی بقاء در تیمارهای نگهداری شده در سرما

مطابق با جدول ۱، اثر اصلی رژیم دمایی معنی‌دار نبود، اما اثر مدت ذخیره سازی و اثرات متقابل این دو عامل معنی‌دار بودند. تفاوت در درصد ظهور بین تیمارهایی که به مدت زمان‌های متفاوت در شرایط سرمایی ۶ درجه سانتی‌گراد ذخیره شده بودند، در رژیم دمایی ثابت ($G_{۳,۱۶}$=۶۷/۲۰ ؛ P<۰/۰۰۱) و همچنین رژیم دمایی نوسان‌دار ($G_{۳,۱۶}$=۳۰/۱۳ ؛ P<۰/۰۰۱) معنی‌دار بود (شکل ۱). در رژیم دمایی ثابت بیشترین درصد ظهور در تیمار شاهد مشاهده شد و با گذشت زمان در تیمارهای اول و دوم به طور معنی‌داری از درصد ظهور کاسته شد. در هفته سوم ذخیره، درصد ظهور تفاوتی با هفته اول ذخیره نداشت. در رژیم دمایی نوسان‌دار، در تیمار شاهد به طور معنی‌داری درصد ظهور نسبت به سایر تیمارهای ذخیره شده در سرما، بیشتر بود. در تیمارهای ذخیره شده، درصد ظهور در لاروهای سن آخری که به مدت یک یا دو هفته در شرایط سرمایی ذخیره شده بودند، به طور معنی‌داری نسبت به تیماری که به مدت سه هفته در سرما نگهداری شده بود، بیشتر بود (شکل ۱).

هنگامی‌که در یک بازه‌ی زمانی تیمارهای دو رژیم دمایی ثابت و نوسان‌دار با هم مقایسه شدند، در هفته‌های اول ($G_{۱,۱۸}$=۱۷/۹۸ ؛P<۰/۰۰۱) و دوم ($G_{۱,۱۸}$=۱۳/۸۸ ؛P<۰/۰۰۱) نرخ ظهور در رژیم دمایی نوسان‌دار به طور معنی‌داری بالاتر از رژیم دمایی ثابت بود. پس از سه هفته ذخیره‌سازی، میان رژیم‌های دمایی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($G_{۱,۸}$=۰/۰۱ ؛P<۰/۹۲۵) (شکل ۱).

مقایسه‌ی نسبت جنسی در تیمارهای نگهداری شده در سرما

اثرات اصلی رژیم دمایی و مدت ذخیره‌سازی معنی‌دار نبودند، اما اثرات متقابل این دو عامل معنی‌دار بود (جدول ۱). در رژیم دمایی ثابت، گذشت زمان روی نسبت جنسی تیمارها اثر معنی‌داری داشت ($G_{۳,۱۶}$=۹/۸۱ ؛P=۰/۰۴۹)، اما در رژیم دمایی نوسان‌دار چنین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($G_{۳,۱۶}$=۲/۹۶ ؛P=۰/۴۲۴) (شکل ۲). در رژیم دمایی ثابت، نسبت جنسی در تیمار هفته دوم به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود و بین تیمار شاهد و تیمارهای ذخیره شده به مدت یک و سه هفته اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۲).

در هفته اول میان رژیم‌های دمایی ثابت و نوسان‌دار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($G_{۱,۸}$=۰/۲۹۹ ؛P=۰/۵۹۹). در صورتی‌که نسبت جنسی رژیم دمایی نوسان‌دار در هفته‌ی دوم ($G_{۱,۸}$=۳۷/۳۵ ؛P=۰/۰۰۱) و رژیم دمایی ثابت در هفته سوم ($G_{۱,۸}$=۲۷/۳۷ ؛P=۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری از رژیم دمایی مقابل بیشتر بود (شکل ۲).

مقایسه‌ی طول دوره‌ی رشدی پس از خروج در سرما

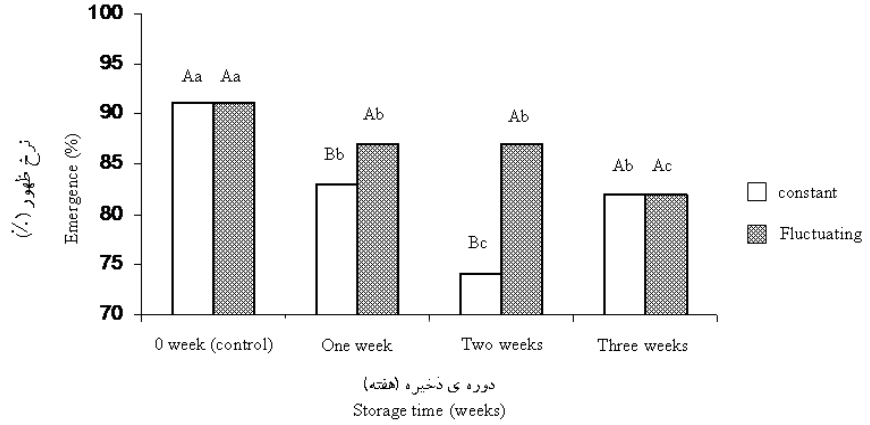
حشرات ماده

مطابق با جدول ۲، اثرات اصلی هر دو عامل رژیم دمایی و مدت زمان و همچنین برهمکنش میان آنها معنی‌دار بود. ذخیره‌سازی، در هر دو رژیم دمایی به طور معنی‌داری منجر به افزایش وقفه زمانی ظهور ماده‌ها شد (ثابت: $F_{۱,۷۴}$=۶۱/۹۳ ؛P<۰/۰۰۱؛ نوسان‌دار: $F_{۱,۸۷}$=۷۵/۸۶ ؛P<۰/۰۰۱).

جدول ۱- رگرسیون لجستیک تاثیرات رژیم دمایی (ثابت و نوسان‌دار) و مدت ذخیره‌سازی (صفر، یک، دو و سه هفته‌ای) بر نرخ ظهور و نسبت جنسی زنبور پارازیتوئید *Lysiphlebus fabarum* که در مرحله لارو سن آخر در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد ذخیره شده بودند

Table 1- Logistic analyses of effects of thermal regimes (constant and fluctuating) and storage period (0, 1, 2, or 3 weeks) on emergence rate and sex ratio of *Lysiphlebus fabarum* when storing as late-instar larvae at 6 °C

منبع تغییرات (Source of variation)	نرخ ظهور (Emergence)			نسبت جنسی (Sex ratio)		
	d.f.	G	P	d.f.	G	P
رژیم دمایی (Thermal regime)	1	0.65	0.42	1	0.82	0.336
دوره‌ی ذخیره (Storage period)	3	17.15	0.001	3	2.30	0.513
اثر متقابل (Interaction)	3	7.53	0.047	3	7.38	0.041
درجه آزادی خطا (d.f. error)	32			32		

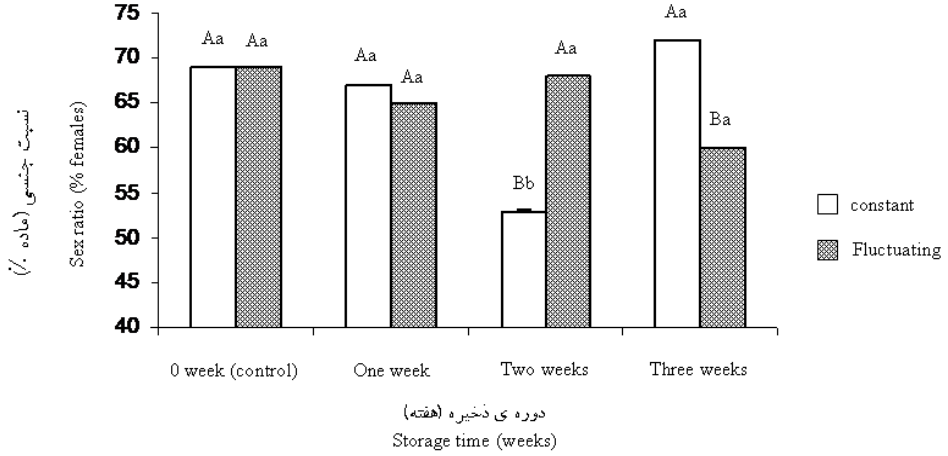


شکل ۱- نرخ ظهور (میانگین± خطای معیار) زنبورهای *Lysiphlebus fabarum* که در رژیم دمایی نوسان‌دار یا ثابت برای ۳-۰ هفته در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. میانگین‌های با حروف بزرگ مشابه در هر دوره‌ی زمانی ذخیره و میانگین‌های با حروف کوچک مشابه در هر رژیم دمایی، اختلاف معنی‌داری (P>۰/۰۵) ندارند

Figure 1- Emergence rate (Mean ± SEM) of *Lysiphlebus fabarum* reared on *Aphis fabae* that were stored as either constant or fluctuating thermal regimes for 0–3 weeks at 6 °C. Means within a storage period bearing the same upper case letter, and means within a thermal regime bearing the same lower case letter, are not significantly different (P>0.05)

در رژیم دمایی ثابت، بیشترین وقفه زمانی پس از سه هفته ذخیره سازی مشاهده شد (در مقایسه با شاهد: ($F_{۱,۹۵}$=۶۷/۴۷؛ P<۰/۰۰۱)) و پس از آن هفته‌های اول و دوم بدون اختلاف معنی‌داری با یکدیگر قرار داشتند و کمترین وقفه زمانی در تیمار شاهد دیده شد.

در رژیم دمایی نوسان‌دار، یک هفته ذخیره‌سازی منجر به افزایش معنی‌دار وقفه زمانی نسبت به تیمار شاهد شد، اما بیش از یک هفته ذخیره‌سازی در رژیم دمایی نوسان‌دار منجر به کاهش معنی‌دار وقفه زمانی گردید (هفته دوم نسبت به شاهد: P<۰/۰۰۱؛ $F_{۱,۹۱}$=۵۱/۶۴؛ هفته سوم نسبت به شاهد: P<۰/۰۰۱ ؛ $F_{۱,۸۹}$=۳۸/۲۷) (شکل ۳ الف).



شکل ۲- نسبت جنسی (میانگین± خطای معیار) زنبورهای *Lysiphlebus fabarum* پرورش یافته روی شته سیاه باقلا که در رژیم دمایی نوسان دار یا ثابت برای ۳-۰ هفته در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد ذخیره شده بودند. میانگین‌های با حروف بزرگ مشابه در هر دوره‌ی زمانی ذخیره و میانگین های با حروف کوچک مشابه در هر رژیم دمایی، اختلاف معنی‌داری (P>۰/۰۵) ندارند

Figure 2- Sex ratio (Mean ± SEM) of *Lysiphlebus fabarum* reared on *Aphis fabae* that were stored as either constant or fluctuating thermal regimes for 0–3 weeks at 6 °C. Means within a storage period bearing the same upper case letter, and means within a thermal regime bearing the same lower case letter, are not significantly different (P>0.05)

هنگامی که در مدت زمان یکسانی از ذخیره، دو رژیم دمایی ثابت و نوسان‌دار با هم مقایسه شدند، در هفته اول، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($F_{1,1.7}$=۰/۶۵۴ ؛P=۰/۴۲۱). از هفته دوم ذخیره‌سازی، زنبورهایی که در مرحله لارو سن آخر در رژیم دمایی نوسان‌دار ذخیره شده بودند، در مقایسه با رژیم دمایی ثابت به طور معنی‌داری وقفه زمانی در آنها کمتر بوده و زودتر ظاهر شدند (هفته دوم: P<۰/۰۰۱؛ $F_{1,94}$=۱۰۶/۳۲؛ هفته سوم: P<۰/۰۰۱؛ $F_{1,13.}$=۲۵۴/۵۵) (شکل ۳ الف).

حشرات نر

مطابق با جدول ۲، اثرات اصلی هر دو عامل رژیم دمایی و مدت زمان و همچنین برهمکنش میان آنها معنی‌دار بود. ذخیره‌سازی، در هر دو رژیم دمایی به طور معنی‌داری منجر به افزایش وقفه زمانی ظهور نرها شد (ثابت: P<۰/۰۰۱؛ $F_{3,98}$=۱۰/۱۳؛ نوسان‌دار: P<۰/۰۰۱؛ $F_{3,128}$=۸۲/۰۶). ذخیره‌سازی یک هفته‌ای (P=۰/۰۰۳؛ $F_{1,46}$=۱۰/۰۲) و دو هفته‌ای (P<۰/۰۰۱؛ $F_{1,51}$=۱۰/۶۵) در رژیم دمایی ثابت، منجر به افزایش معنی‌دار وقفه زمانی ظهور نسبت به تیمار شاهد گردید، ولی هفته اول و دوم با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند (P=۰/۱۳۵؛ $F_{1,49}$=۲/۳۱). در هفته سوم ذخیره‌سازی، بیشترین وقفه زمانی ظهور را نسبت به سایر تیمارها داشتیم (نسبت به شاهد: P=۰/۰۰۲؛ $F_{1,49}$=۱۰/۲۴، نسبت به هفته اول: P=۰/۰۴۷؛ $F_{1,47}$=۳/۲۱ و نسبت به هفته دوم: (P=۰/۰۰۵؛ $F_{1,52}$=۸/۷۱). در رژیم دمایی نوسان‌دار ذخیره‌ی یک هفته‌ای لاروهای سن آخر منجر به تغییر در وقفه زمانی ظهور حشرات نر نشد (نسبت به شاهد: P=۰/۰۵۳؛ $F_{1,56}$=۱۳/۰۷)، اما ذخیره‌ی دو هفته‌ای (نسبت به شاهد: P<۰/۰۰۱؛ $F_{1,54}$=۱۱۰/۰) و سه هفته‌ای (نسبت به شاهد: P<۰/۰۰۱؛ $F_{1,66}$=۸۰/۰۶) به طور معنی‌داری منجر به افزایش وقفه زمانی ظهور حشرات نر شد. بین وقف زمانی هفته دوم و سوم تفاوت معنی داری مشاهده نشد (نسبت به شاهد: P=۰/۱۸۰؛ $F_{1,72}$=۱/۸۳) (شکل ۳ ب).

هنگامی که در مدت زمان یکسانی از ذخیره، دو رژیم دمایی ثابت و نوسان‌دار با هم مقایسه شدند، در هفته اول، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P=۰/۲۷۷؛ $F_{1,54}$=۰/۴۸). در هفته دوم (P<۰/۰۰۱؛ $F_{1,57}$=۶۴/۸۶ ;P<۰/۰۰۱ F=۶۴/۸۵۸;df=۱, ۵۷) و سوم (P<۰/۰۰۱؛ $F_{1,67}$=۱۶۶/۸۸) مقایسه وقفه‌های زمانی نشان داد که رژیم دمایی ثابت به طور معنی‌داری باعث افزایش فاصله‌ی زمانی بین خروج لارو سن آخر از سرما تا ظهور حشره‌ی کامل می‌شود (شکل ۳ ب).

مقایسه‌ی شاخص طول ساق پای عقب در تیمارهای نگهداری شده در سرما

حشرات ماده

مطابق با نتایج به دست آمده، اثرات اصلی هر دو عامل رژیم دمایی و مدت زمان و همچنین برهمکنش میان آنها معنی‌دار بود (جدول ۲). ذخیره‌سازی در رژیم دمایی ثابت منجر به کاهش طول ساق پای حشرات نسبت به تیمار شاهد شد (P<۰/۰۰۱؛ $F_{3,124}$=۴۳/۱۳)، اما بین تیمارهای مختلف نگهداری در سرما تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در رژیم دمایی نوسان‌دار نیز کاهش طول ساق پا نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۰۱ ؛ $F_{3,13.}$=۵۱/۷۷) و کوچک‌ترین زنبورها در این رژیم پس از سه هفته نگهداری مشاهده شدند (شکل ۴ الف).

هنگامی که در مدت زمان یکسانی از ذخیره، دو رژیم دمایی ثابت و نوسان‌دار با هم مقایسه شدند، در هفته اول (P=۰/۱۳۳؛ $F_{1,74}$=۲/۳۱) و سوم (P=۰/۱۲؛ $F_{1,73}$=۱/۹۶) ذخیره‌سازی، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما در هفته دوم ذخیره‌سازی، زنبورهایی که در رژیم دمایی ثابت ذخیره شده بودند در مقایسه با رژیم دمایی نوسان دار به طور معنی‌داری اندازه کوچک‌تری داشتند (P<۰/۰۰۱؛ $F_{1,64}$=۱۵/۴۸) (شکل ۴ الف).

حشرات نر

مطابق با جدول ۲، اثرات اصلی متغیر رژیم دمایی معنی‌دار نبود، در حالی‌که اثر متغیر مدت زمان و و همچنین برهمکنش میان دو متغیر معنی‌دار بود. ذخیره‌سازی، در هر دو رژیم دمایی به طور معنی داری منجر به کاهش طول ساق پای ماده‌ها نسبت به تیمار شاهد شد (ثابت: P=۰/۰۲۱؛ $F_{3,96}$=۳/۳۸؛ نوسان‌دار: P=۰/۰۱۵؛ $F_{3,114}$=۳/۶۴). در رژیم دمایی ثابت گذشت زمان (هفته اول تا هفته سوم) منجر به کاهش بیشتر اندازه‌ی زنبورها نشد، اما در رژیم دمایی نوسان‌دار زنبورهای خروجی پس از سه هفته ذخیره سازی در سرما کوچکترین اندازه را نسبت به سایر تیمارها داشتند (شکل ۴ ب).

هنگامی که در مدت زمان یکسانی از ذخیره، دو رژیم دمایی ثابت و نوسان‌دار با هم مقایسه شدند، در هفته اول (P=۰/۷۸؛ $F_{3,96}$=۰/۰۷۹)، دوم (P=۰/۰۴۸؛ $F_{1,56}$=۰/۵۱۶) و سوم (P=۰/۱۷۶؛ $F_{1,54}$=۱/۸۸) ذخیره سازی تفاوت معنی‌داری در اندازه‌ی زنبورهای ظاهر شده، مشاهده نشد (شکل ۴ ب).

جدول ۲- تجزیه واریانس دو طرفه‌ی اثرات رژیم دمایی (ثابت و نوسان‌دار) و مدت ذخیره‌سازی (صفر، یک، دو و سه هفته‌ای) بر طول دوره‌ی رشدی پس از خروج از سرما (روز) و طول ساق پای عقب (میلی‌متر) در زنبورهای ماده و نر *Lysiphlebus fabarum* رشد یافته در شته سیاه باقلا *Aphis fabae*، که در مرحله لارو سن آخر در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد ذخیره شده بودند

Table 2- Two-way ANOVA of effects of thermal regimes (constant and fluctuating) and storage period (0, 1, 2, or 3 weeks) on post-storage development time and hind tibia length of female and male *Lysiphlebus fabarum* when storing as late-instar larvae at 6 °C

منبع تغییرات (Source of variation)	طول دوره‌ی رشدی پس از خروج از سرما Post-storage development time			طول ساق پای عقب Hind tibia length		
	حشرات ماده Female wasps					
	d.f.	F	P	d.f.	F	P
رژیم دمایی Thermal regime	1	191.37	< 0.001	1	120.24	< 0.001
دوره‌ی ذخیره Storage period	3	188.05	< 0.001	3	32.53	< 0.001
اثر متقابل Interaction	3	25.45	< 0.001	3	11.50	< 0.001
درجه آزادی خطا d.f. error	432			250		
	حشرات نر Male wasps					
	d.f.	F	P	d.f.	F	P
رژیم دمایی Thermal regime	1	106.61	< 0.001	1	< 0.001	0.757
دوره‌ی ذخیره Storage period	3	52.96	< 0.001	3	0.14	< 0.001
اثر متقابل Interaction	3	104.07	< 0.001	3	0.02	< 0.001
درجه آزادی خطا d.f. error	233			217		

مقایسه‌ی بار تخم و سطح تخمک در تیمارهای نگهداری شده در سرما

بار تخم

اثرات اصلی هر دو عامل رژیم دمایی و مدت زمان و همچنین برهمکنش میان آنها معنی‌دار بود (جدول ۳). ذخیره‌سازی، در هر دو رژیم دمایی به طور معنی‌داری روی بار تخم تاثیر داشت (ثابت: $F_{۳,۱۱۹}$=۲۴/۳۴ ؛P<۰/۰۰۱؛ نوسان‌دار: $F_{۳,۱۲۹}$=۷۵/۴۴ ؛P<۰/۰۰۱). در رژیم دمایی ثابت یک هفته ذخیره سازی منجر به کاهش معنی‌دار بار تخم نسبت به تیمار شاهد شد ($F_{۱,۵۷}$=۲۱/۶۳ ؛P<۰/۰۰۱). علی رغم عدم تفاوت در بار تخم زنبورهای هفته دوم و سوم (P=۰/۷۵۲؛ $F_{۱,۶۲}$=۰/۱)، زنبورهای این تیمارها به طور معنی‌داری بار تخم کمتری نسبت به هفته اول داشتند (هفته اول و دوم: P=۰/۰۰۶؛ $F_{۱,۵۸}$=۸/۱۷؛ هفته اول و سوم: P=۰/۰۰۱؛ $F_{۱,۶۴}$=۱۲/۲۶). همراه با افزایش مدت زمان ذخیره‌در رژیم دمایی نوسان‌دار، بار تخم به صورت پلکانی کاهش یافت (شاهد و هفته اول: P<۰/۰۰۱؛ $F_{۱,۵۹}$=۵۶/۴۵؛ هفته اول و دوم: P<۰/۰۰۱؛ $F_{۱,۶۸}$=۳۴/۹۴؛ هفته دوم و سوم: P<۰/۰۰۱؛ $F_{۱,۷۰}$=۱۳/۸۲) (شکل ۵ الف).

هنگامی که در مدت زمان یکسانی از ذخیره، دو رژیم دمایی ثابت و نوسان‌دار با هم مقایسه شدند، تنها در هفته سوم، میان بار تخم رژیم‌های دمایی اختلاف معنی‌داری دیده شد (P<۰/۰۰۱؛ $F_{۱,۶۸}$=۱۸/۱۰) به صورتی که بار تخم در زنبورهای ذخیره شده در رژیم دمایی ثابت از رژیم دمایی نوسان‌دار پیشی گرفت (شکل ۵ الف).

سطح تخمک

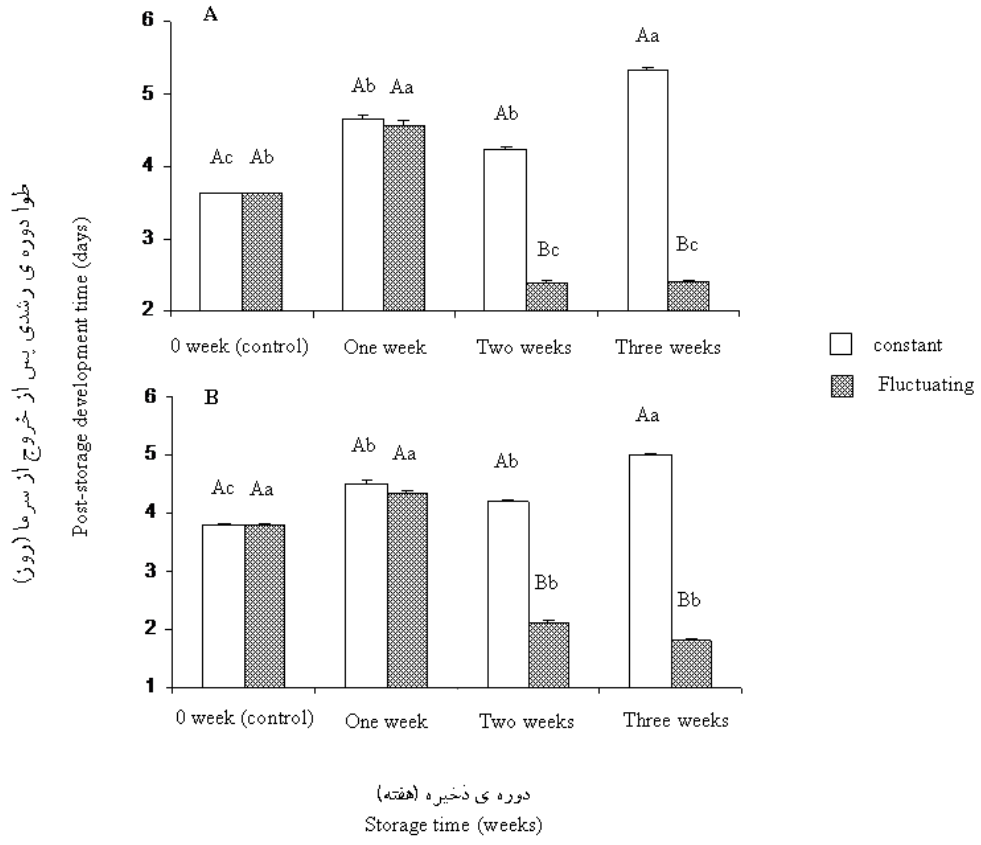
مطابق با جدول ۳، اثرات اصلی عامل مدت زمان و همچنین برهمکنش میان رژیم دمایی و مدت زمان ذخیره معنی‌دار بود. ذخیره سازی، در هر دو رژیم دمایی به طور معنی‌داری روی مساحت تخمک تاثیر گذاشت (ثابت: P<۰/۰۰۱؛ $F_{۳,۱۱۳}$=۴۴/۸۶؛ نوسان‌دار:

$F_{3,119}$=۹/۶۹ ؛P<۰/۰۰۱). در رژیم دمایی ثابت همراه با افزایش مدت زمان ذخیره در سرما، مساحت تخمک به طور معنی‌داری به صورت پلکانی کاهش یافت (هفته اول و دوم: P=۰/۰۱۷؛ $F_{1,57}$=۶/۰؛ هفته دوم و سوم: P=۰/۰۰۸؛ $F_{1,56}$=۷/۶۰). در رژیم دمایی نوسان‌دار ذخیره سازی به طور معنی‌داری منجر به کاهش مساحت تخمک در مقایسه با تیمار شاهد شد، اما افزایش مدت زمان ذخیره تاثیری روی مساحت تخمک نداشت (هفته اول و دوم: P=۰/۱۷۳؛ $F_{1,66}$=۱/۹۰؛ هفته دوم و سوم: P=۰/۳۵؛ $F_{1,6}$.=۰/۸۸۶؛ هفته اول و سوم: P=۰/۳۳؛ $F_{1,66}$=۰/۹۹) (شکل ۵ ب).

هنگامی که در مدت زمان یکسانی از ذخیره، مساحت تخمک در دو رژیم دمایی ثابت و نوسان‌دار مقایسه شد، در همگی هفته‌های ذخیره، مساحت تخمک در رژیم نوسان‌دار بیشتر از رژیم ثابت بود (هفته اول: P=۰/۰۳۷؛ $F_{1,62}$=۴/۵۷؛ هفته دوم: P=۰/۰۰۳؛ $F_{1,59}$=۹/۳۲؛ هفته سوم: P<۰/۰۰۱ ؛ $F_{1,57}$=۱۴/۲۹) (شکل ۵ ب).

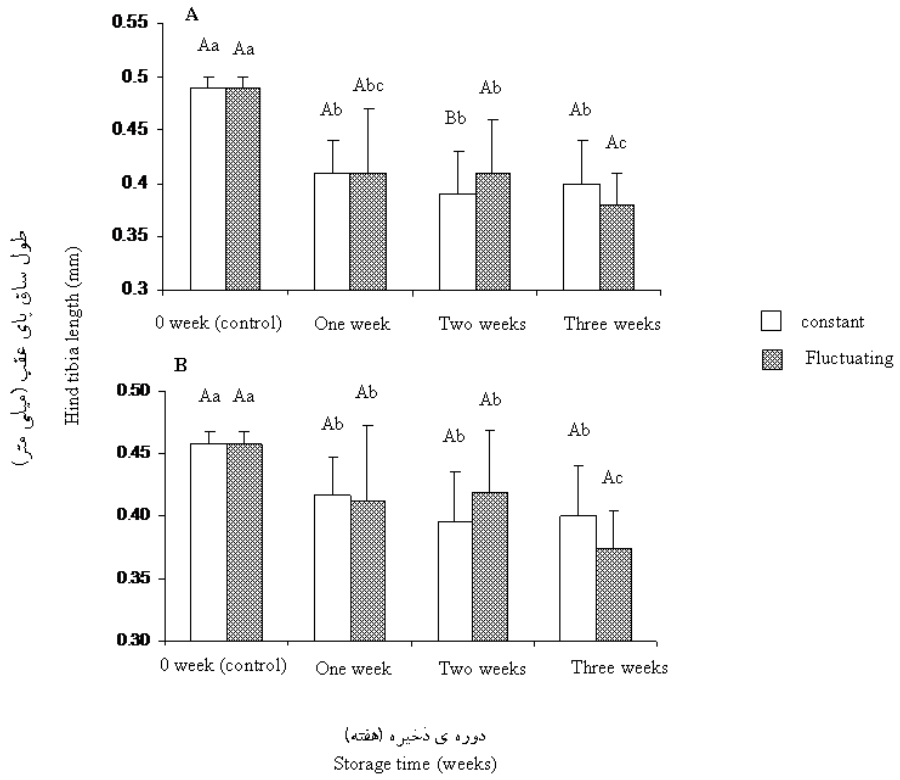
بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر روی جمعیت جنسی *L. fabarum*، ذخیره سازی لاروهای سن آخر در هر دو رژیم دمایی نوسان‌دار و ثابت، منجر به کاهش نرخ ظهور شد. با مقایسه‌ی نرخ بقاء در دو رژیم دمایی مشخص شد که در هفته‌های اول و دوم نرخ بقاء در رژیم دمایی نوسان‌دار به طور معنی‌داری بیشتر از رژیم دمایی ثابت بود. البته در هفته سوم، تفاوت معنی‌داری در بقای زنبورهای ذخیره شده در دو رژیم دمایی دیده نشد.



شکل ۳- طول دوره‌ی رشدی (میانگین± خطای معیار) پس از خروج لارو سن آخر از سرما در حشرات کامل زنبورهای ماده (A) و نر (B) *Lysiphlebus fabarum* که در رژیم دمایی نوسان‌دار یا ثابت برای ۳-۰ هفته در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد ذخیره شده بودند. میانگین‌های با حروف بزرگ مشابه در هر دوره‌ی زمانی ذخیره و میانگین‌های با حروف کوچک مشابه در هر رژیم دمایی، اختلاف معنی‌داری (P>۰/۰۵) ندارند

Figure 3- Post-storage developmental time (Mean ± SE) of female (A) and male (B) *Lysiphlebus fabarum* that were stored as late-instar larvae for 0–3 weeks at 6 °C. Means within a storage period bearing the same upper case letter, and means within a thermal regime bearing the same lower case letter, are not significantly different (P>0.05)



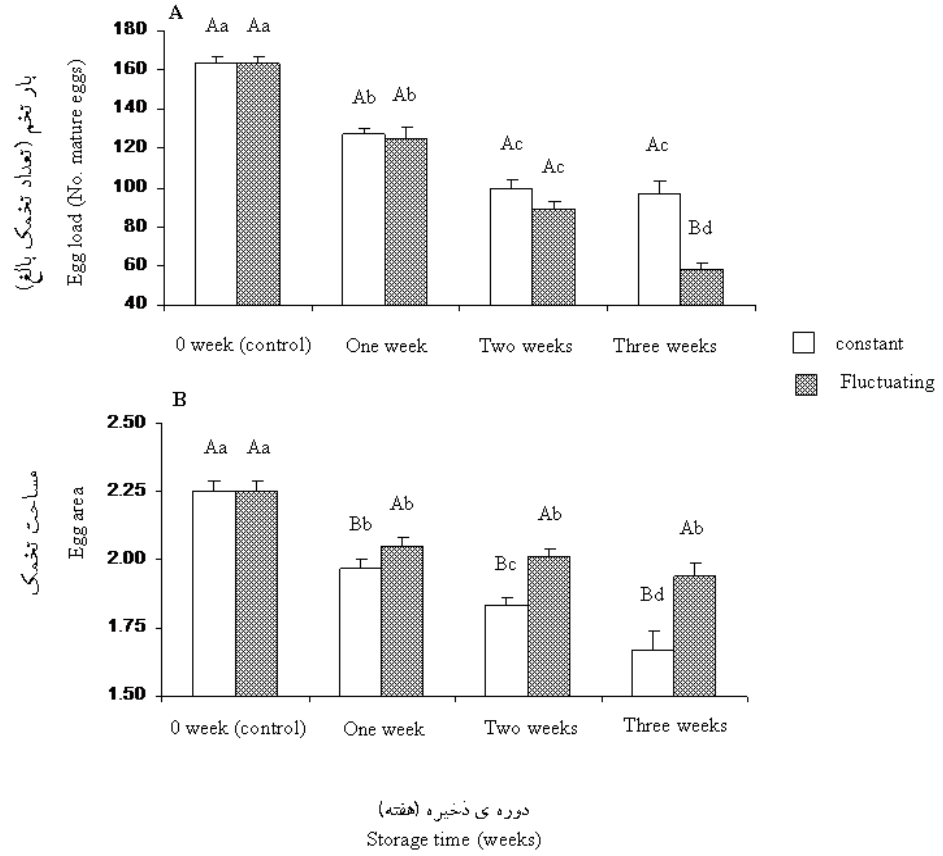
شکل ٤- طول ساق پای عقب (میانگین± خطای معیار) زنبورهای ماده (A) و نر (B) *Lysiphlebus fabarum* که در رژیم دمایی نوسان‌دار یا ثابت برای ۳-۰ هفته در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد ذخیره شده بودند. میانگین‌های با حروف بزرگ مشابه در هر دوره‌ی زمانی ذخیره و میانگین‌های با حروف کوچک مشابه در هر رژیم دمایی، اختلاف معنی‌داری (P>۰/۰۵) ندارند

Figure 4- Hind tibia length (Mean ± SE) of female (A) and male (B) *Lysiphlebus fabarum* that were stored as late-instar larvae for 0–3 weeks at 6 °C. Means within a storage period bearing the same upper case letter, and means within a thermal regime bearing the same lower case letter, are not significantly different (P>0.05)

جدول ۳- تجزیه واریانس دو طرفه‌ی اثرات رژیم دمایی (ثابت و نوسان‌دار) و مدت ذخیره‌سازی (صفر، یک، دو و سه هفته‌ای) بر بار تخم و مساحت تخمک (μm^2) زنبور پارازیتوئید *Lysiphlebus fabarum* که در مرحله لارو سن آخر در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد ذخیره شده بودند

Table 3- Two-way ANOVA of effects of thermal regimes (constant and fluctuating) and storage period (0, 1, 2, or 3 weeks) on egg load and egg size of *Lysiphlebus fabarum* when storing as late-instar larvae at 6 °C

منبع تغییرات Source of variation	بار تخم Egg load			مساحت تخمک Egg size		
	d.f.	F	P	d.f.	F	P
رژیم دمایی Thermal regime	1	30.22	< 0.001	1	0.68	0.41
دوره‌ی ذخیره Storage period	3	125.43	< 0.001	3	55.73	< 0.001
اثر متقابل Interaction	3	4.15	< 0.001	3	21.45	< 0.001
درجه آزادی خطا d.f. error	248			228		



شکل ۵- بار تخم و مساحت تخمک (میکرو متر مربع) (میانگین± خطای معیار) زنبورهای ماده‌ی *Lysiphlebus fabarum* که در مرحله‌ی لارو سن آخر در رژیم دمایی نوسان‌دار یا ثابت برای ۳-۰ هفته در دمای ٦ درجه سانتی‌گراد ذخیره شده بودند. میانگین‌های با حروف بزرگ مشابه در هر دوره‌ی زمانی ذخیره و میانگین‌های با حروف کوچک مشابه در هر رژیم دمایی، نشان‌دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار (P>۰/۰۵) می‌باشد

Figure 5- Egg load and egg size (μm^2) (Mean ± SE) of female *Lysiphlebus fabarum* that were stored as late-instar larvae for 0–3 weeks at 6 °C. Means within a storage period bearing the same upper case letter, and means within a thermal regime bearing the same lower case letter, were not significantly different (P>0.05)

در چندین مطالعه تاکید شده است که مواجهه حشرات با رژیم دمایی نوسان‌دار در مقابل رژیم دمایی ثابت، به طور معنی‌داری مرگ و میر را کاهش می‌دهد (۱۲، ۳۳، ۴۴ و ۵۳). همچنین وقتی که شفیره های زنبورهای پارازیتوئید زیرخانواده‌ی Aphidiinae (۱۹) و زنبور *Aphidius ervi* (Haliday) (۲۷) با رژیم دمایی نوسان‌دار مواجه شدند، کاهش چشمگیری از خسارات ذخیره در سرما مشاهده شد. به اعتقاد این محققین، طی دوره‌های کوتاه گرمایی برگشت به دمای محیط، فرصت اصلاح فیزیولوژیکی از طریق برگشت مجدد تعادل یونی (۳۳)، تنظیم پروتئین‌های در ارتباط با متابولیسم انرژی (۳۳)، بازیابی انرژی از دست رفته (۱۲) و کاهش تجمع تولیدات سمی ناشی از ذخیره سازی (۳۸) فراهم می‌شود.

مطابق با نتایج مطالعه حاضر، در رژیم دمایی نوسان‌دار افزایش مدت زمان ذخیره منجر به کاهش نرخ ظهور شد. چنان‌چه تیمارهای ذخیره‌شده به مدت یک و دو هفته، بدون تفاوت معنی‌داری با یکدیگر، به طور معنی‌داری نرخ ظهور بیشتری نسبت به هفته سوم ذخیره داشتند. در رژیم دمایی ثابت کاهش معنی‌دار در نرخ ظهور بین هفته های اول و دوم ذخیره وجود داشت، اما در هفته سوم این روند کاهشی دیده نشد و حتی حشرات ذخیره شده، نرخ ظهور برابری را با هفته اول به نمایش گذاشتند. در سایر مطالعات نیز کاهش نرخ بقاء همراه با افزایش دوره مواجهه با سرما، گزارش شده است (۱۷، ۳۵، ۳۷ و ۴۵). کاهش ذخایر انرژی به ویژه تخلیه ذخایر چربی، به واسطه ی استمرار مدت زمان ذخیره را علت اصلی این موضوع دانسته‌اند (۱۹، ۲۲، ۵۲ و ۵۳).

نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده‌ی نقش مدت زمان نگهداری در

دو نوع رژیم دمایی روی نسبت جنسی می‌باشد. چنانچه در هفته دوم ذخیره‌سازی نسبت جنسی در رژیم دمایی نوسان‌دار بیشتر از رژیم دمایی ثابت بود، در حالی‌که در هفته سوم نتیجه معکوس به دست آمد. در چندین مطالعه نشان داده شده است که نرها و ماده‌ها تحمل متفاوتی را به استرس دمایی نشان می‌دهند (۱)، چنانچه در پارازیتوئید *Lysiphlebus testaceipes* (۷)، *Aphelinus asychis* (۶)، *Aphidius rhopalosiphi* (۱۱)، *A. ervi* (۳۰) و *A. colemani* (۱۹) نرها نسبت به ماده‌ها در مواجهه با سرما حساس‌تر بودند. علت این تفاوت می‌تواند منابع بیشتر انرژی در ماده‌ها باشد (۱۹). در نتیجه نرها طی مرحله‌ی تنش سرمایی ذخیره انرژی خود را زودتر از ماده‌ها تهی می‌کنند (۵۴). هاپلودیپلوئیدی می‌تواند یک دلیل مهم دیگر در توضیح علت تفاوت مقاومت بین نرها و ماده‌ها باشد (۱۴ و ۱۷).

مطابق با نتایج به دست آمده روی هر دو جنس نر و ماده‌ی زنبور *L. fabarum*، فاصله زمانی تا ظهور در رژیم دمایی ثابت به طور معنی‌داری بیشتر از رژیم دمایی نوسان‌دار بود. از آن‌جایی‌که تجمع روز درجه‌ها در رژیم دمایی نوسان‌دار بیشتر از ثابت است قابل انتظار است که افراد در تیمار نوسان‌دار زودتر ظاهر شوند (۳۰ و ۳۲). نتایج همچنین نشان داد که بیشترین وقفه زمانی در ظهور (ماده: ۰/۰۴ ± ۵/۳۲؛ نر: ۰/۰۴ ± ۵/۰ روز)، هنگام سه هفته ذخیره‌سازی در رژیم دمایی ثابت به وقوع پیوست. افزایش این دوره‌ی زمانی یک پدیده‌ی بسیار ارزشمند در پرورش انبوه می‌باشد، چرا که فرصت بیشتری را در اختیار تولیدکنندگان عوامل بیولوژیک برای عرضه به بازار فراهم کرده و پدیده‌ی نامطلوب ظهور حشرات قبل از معرفی آنها به مزارع و یا گل‌خانه‌ها را به حداقل می‌رساند. از شفیره زنبور (مومیایی) به عنوان مفیدترین مرحله برای ذخیره‌سازی پارازیتوئیدهای aphidiid در سرما نام برده شده است (۶۸). نتایج استفاده از شفیره زنبور *L. fabarum* در سرما نشان داد که علی‌رغم مناسب بودن این مرحله رشدی از نظر کسب شایستگی برای حشرات ذخیره شده و نتاج آنها، نقطه ضعف عمده‌ی کوتاه بودن وقفه زمانی ظهور (حدود یک روز) وجود دارد (۴۱). بنابراین در این مطالعه به منظور افزایش این فاصله زمانی، از مرحله رشدی لارو سن آخر زنبور استفاده شد.

اندازه بدن یک ویژگی کلیدی در اکولوژی و تئوری تکامل بوده (۵)، و همراه با تغذیه به عنوان مهمترین عامل تاثیرگذار روی تغییرات اندازه فنوتیپی (۱۳ و ۳۱)، جنبه‌های فیزیولوژی و در نتیجه شایستگی (۱۳) محسوب می‌شود. مقدار چربی در دسترس به عنوان مهمترین عامل در خصوص ارتباط بین شایستگی و اندازه می‌باشد (۵۶) و محتوای لیپید همبستگی مثبتی با پارامترهای شایستگی و اندازه بدن طی زندگی بالغین دارد (۲۴ و ۲۵). این نکته در پارازیتوئیدها از این نظر از اهمیت بیشتری برخوردار است که کمیت لیپید در پارازیتوئیدها محدود است، زیرا اغلب گونه‌های پارازیتوئید قادر به سنتز لیپید طی مرحله بلوغ نمی‌باشند (۶۸)، این موضوع نشاندهنده‌ی یک موازنه‌ی بین طول عمر و باروری می‌باشد (۲۴). در پارازیتوئیدها اندازه بدن به عنوان شاخصی از کیفیت یک فرد در نظر گرفته می‌شود (۵۶ و ۷۰). در واقع قابل انتظار است که ماده‌های بزرگتر بیشتر زندگی کنند، باروری بیشتری داشته باشند، موفقیت جفتگیری بیشتری داشته باشند و ظرفیت پراکنش بیشتری در مقایسه با افراد کوچکتر داشته باشند (۲۳). در خصوص نرها نیز نرهای بزرگتر اندام‌های تولیدمثلی بزرگتری داشته و محتوی اسپرم بیشتری نیز می‌باشند (۳۱). مطابق با نتایج به دست آمده نگهداری لاروهای سن آخر *L. fabarum*، در هر دو رژیم دمایی ثابت و نوسان‌دار، در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی‌داری منجر به کاهش اندازه‌ی حشرات کامل نر و ماده شد. در حشرات نر نوع رژیم دمایی تاثیری در اندازه ساق پا نداشت، در حالی که در حشرات ماده در هفته‌ی دوم نگهداری در سرما، رژیم دمایی نوسان‌دار منجر به ظهور حشرات بزرگتر در مقایسه با رژیم دمایی ثابت شد. در سایر مطالعات یک کاهش در اندازه زنبور با افزایش زمان ذخیره‌سازی گزارش شده است (۵۸).

مطابق با نتایج به دست آمده، هر دو رژیم سرمایی تاثیر معنی داری روی بار تخم و سایز تخمک داشتند و افزایش مدت زمان ذخیره، منجر به تشدید این اثرات منفی شد. هر چند در هفته اول و دوم ذخیره‌سازی در دو رژیم متفاوت، میزان بار تخم یکسانی دیده شد، اما در هفته سوم بار تخم در رژیم دمایی نوسان‌دار به طور معنی داری کمتر از رژیم دمایی ثابت بود. در خصوص سایز تخمک، در تمامی هفته‌های ذخیره‌سازی سایز تخمک در رژیم دمایی نوسان‌دار بیشتر از رژیم دمایی ثابت بود. اثرات منفی مواجهه با رژیم دمایی ثابت روی پتانسیل تولیدمثلی پارازیتوئیدها گزارش شده است (۲۹)، البته در مطالعه‌ی انجام شده روی *A. ervi* مواجهه با سرما روی بار تخم هنگام ظهور تاثیر نگذاشت (۳۲). در مطالعه حاضر همراه با افزایش مدت زمان ذخیره‌سازی، افزایش اثرات منفی روی بار تخم و سایز تخمک مشاهده شده است، موضوعی که پیش از این توسط Colinet و همکاران (۱۹)، در خصوص کاهش بار تخم همراه با افزایش مدت زمان ذخیره‌سازی مورد تاکید قرار گرفته است. اندازه تخمک به عنوان یک شاخص شایستگی (۲۷)، کمتر در مطالعات روی حشرات ذخیره شده در سرما مورد توجه قرار گرفته است و نتایج حاضر نشان می‌دهد که استناد محض به اندازه‌ی حشرات ظاهر شده، بدون توجه به بار تخم و سایز تخمک، نمی‌تواند کافی باشد.

در یک جمع‌بندی می‌توان گفت چنان‌چه حشرات نگهداری شده در هفته‌ی سوم، مورد استفاده قرار گیرند رژیم دمایی ثابت مناسب‌تر می‌باشد چرا که علاوه بر افزایش قابل ملاحظه در فاصله زمانی تا ظهور حشرات کامل (در هر دو جنس نر و ماده) نسبت جنسی، طول ساق پا (حشرات نر و ماده) و بار تخم بالاتری را نسبت به رژیم دمایی نوسان‌دار موجب می‌شود. در هفته سوم نگهداری فقط اندازه تخمک حشرات نگهداری شده در رژیم ثابت کمتر از رژیم نوسان‌دار بود. اما

در خصوص لاروهای سن آخری که بـه مـدت دو هفتـه در دمـای ۶ درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند، چنانچه فاصله زمـانی کوتـاه ظهـور بـر اساس شرایط کاری محدود کننده نباشد (حدود دو روز)، رژیم دمـایی نوسان‌دار مناسب‌تر می‌باشد چرا که حشـرات ایـن رژیـم نـرخ ظهـور، نسبت جنسی، طول ساق پا و سایز تخمک بالاتری نسـبت بـه رژیـم دمایی ثابت داشتند.

سپاسگزاری

بدینوسیله از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشـی دانشـگاه شـهید چمران اهواز تشکر می‌گردد.

منابع

1- Ali M.F., Abdel-Reheem E.F.M. and Abdel-Rahman H.A. 1997. Effect of temperature extremes on the survival and biology of the carpet beetle, *Attagenus fasciatus* (Thunberg) (Coleoptera: Dermestidae). Journal of Stored Product Research, 33: 147-156.

2- Ameri M., Rasekh A., Michaud J.P., and Allahyari H. 2013. Morphometric indicators for quality assessment in the aphid parasitoid, *Lysiphlebus fabarum* (Braconidae: Aphidiinae). European Journal of Entomology, 110: 519-525.

3- Amice G., Vernon P., Outreman Y., Van Alphen J.J.M., and Van Baaren J. 2008. Variability in responses to thermal stress in parasitoids. Ecological Entomology, 33: 701-708.

4- Andersson M. 1994. Sexual selection. Princeton Univ. Press. 624 pp.

5- Angilletta M.J., and Dunham A.E. 2003. The temperature size rule in ectotherms: simple evolutionary explanations may not be general. American Naturalist, 162: 332-342.

6- Archer T.L., and Eikenbary R.D. 1973. Cold storage of *Aphelinus asychis*, a parasitoid of the greenbug. Environmental Entomology, 2: 489-490.

7- Archer T.L., Murray C.L., Eikenbary R.D., Starks K.J., and Morrison R.D. 1973. Cold storage of *Lysiphlebus testaceipes* mummies. Environmental Entomology, 2: 1104-1108.

8- Bernardo U., Iodice L., Sasso R., and Pedata P.A. 2008. Effects of cold storage on *Thripobius javae* (=*T. semiluteus*) (Hymenoptera: Eulophidae). Biocontrol Science and Technology, 18: 921-933.

9- Bigler F. 1994. Quality control in *Trichogramma* production. In: Wajnberg, E., Hassan, S.A. (Eds.), Biological Control with Egg Parasitoids. CAB International, Wallingford, UK, pp. 93-111.

10- Bourdais D., Vernon P., Krespi L., Le Lannic J., and Van Baaren J. 2006. Antennal structure of male and female *Aphidius rhopalosiphi* DeStefani-Peres (Hymenoptera: Braconidae): description and morphological alterations after cold storage or heat exposure. Microscopy Research and Technique, 69: 1005-1013.

11- Bourdais D., Vernon P., Krespi L., and Van Baaren J. 2012. Behavioural consequences of cold exposure on males and females of *Aphidius rhopalosiphi* De Stephani Perez (Hymenoptera: Braconidae). Bio Control, 57: 349–360.

12- Chen C.P., and Denlinger D.L. 1992. Reduction of cold injury in flies using an intermittent pulse of high temperature. Cryobiology, 29: 138-143.

13- Chown S.L., and Gaston K. J. 2010. Body size variation in insects: a macroecological perspective. Biological Reviews, 85: 139-169.

14- Clarke G.M., Brand G.W., and Whitten M.J. 1986. Fluctuating asymmetry: a technique for measuring developmental stress caused by inbreeding. Australian Journal of Biological Science, 39: 145-154.

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

16- Colinet H., and Hance T. 2009. Male reproductive potential of *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae) exposed to constant or fluctuating thermal regimens. Environmental Entomology, 38: 242-249.

17- 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.

18- Colinet H., Hance T., and Vernon P. 2006a. Water relations, fat reserves, survival, and longevity of a cold-exposed parasitic wasp *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae). Environmental Entomology, 35: 228-236.

19- Colinet H., Renault D., Hance T., and Vernon P. 2006b. The impact of fluctuating thermal regimes on the survival of a cold exposed parasitic wasp, *Aphidius colemani*. Physiological Entomology, 31: 234-240.

20- Colinet H., Hance T., Vernon P., Bouchereau A., and Renault D. 2007a. Does fluctuating thermal regime trigger free amino acid production in the parasitic wasp *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae)? Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular and Integrative Physiology, 147:484-492.

21- Colinet H., Nguyen T.T.A., Cloutier C., Michaud D., and Hance T. 2007b. Proteomic profiling of a parasitic wasp exposed to constant and fluctuating cold exposure. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 37: 1177-1188.

22- David J.F., and Vannier G. 1996. Changes in the supercooling with body size, sex and season in the long-lived millipede *Polyzonium germanicum* (Diplopoda: Polyzoniidae). Journal of Zoology, 240: 599-608.

23- Doyon J., and Boivin G. 2005. The effect of development time on the fitness of female *Trichogramma evanescens*. Journal of Insect Science. 5:4.
24- Ellers J. 1996. Fat and eggs: An alternative method to measure the trade off between survival and reproduction in insect parasitoids. Netherlands Journal of Zoology, 46: 227-235.
25- Ellers J., and van Alphen J.J.M. 1997. Life history evolution in *Asobara tabida*: plasticity in allocation of fat reserves to survival and reproduction. Journal of Evolutionary Biology, 10: 771-785.
26- Ferguson J. 1990. Better good bugs. Agricultural Consultant, 46: 3-4.
27- Giron D., and Casas J. 2003. Mothers reduce egg provisioning with age. Ecology Letters, 6: 273-277.
28- Godfray H.C.J. 1994. Parasitoids, Behavioral and Evolutionary Ecology. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 473 pp.
29- Hance T., van Baaren J., Vernon P., and Boivin G. 2007. Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. Annual Review of Entomology, 52: 107-126.
30- Ismail M., Vernon P., Hance T., and Van Baaren J. 2010. Physiological costs of cold exposure on the parasitoid *Aphidius ervi*, without selection pressure and under constant or fluctuating temperatures. Bio Control, 55: 729-740.
31- Ismail M., Vernon P., Hance T., Pierre J.S., and Van Baaren J. 2012. What are the possible benefits of small size for energy-constrained ectotherms in cold stress conditions? Oikos, 121(12): 2072-2080.
32- Ismail M., Van Baaren J., Hance T., Pierre J.S., and Vernon P. 2013. Stress intensity and fitness in the parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae): temperature below the development threshold combined with a fluctuating thermal regime is a must. Ecological Entomology, 38: 355–363.
33- Kostal V., Renault D., Mehrabianova A., and Bastl J. 2007. Insect cold tolerance and repair of chill-injury at fluctuating thermal regimes: role of ion homeostasis. Comparative Biochemistry and Physiology A. Molecular and Integrative Physiology, 147: 231-238.
34- Kostal V., Yanagimoto M., and Bastl J. 2006. Chilling-injury and disturbance of ion homeostasis in the coxal muscle of the tropical cockroach (*Nauphoeta cinerea*). Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular and Integrative Physiology, 143: 171-179.
35- Krishnamoorthy A. 1989. Effect of cold-storage on the emergence and survival of the adult exotic parasitoid, *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). Entomon, 14: 313-318.
36- Lacoume S., Bressac C., and Chevrier C. 2007. Sperm production and mating potential of males after a cold shock on pupae of the parasitoid wasp *Dinarmus basalis* (Hymenoptera : Pteromalidae). Journal of Insect Physiology, 53: 1008-1015.
37- Langer A., and Hance T. 2000. Overwintering strategies and cold hardiness of two aphid parasitoid species (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). Journal of Insect Physiology, 46: 671-676.
38- Leopold R.A. 1998. Cold storage of insects for integrated pest management. In temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management, pp. 235–267. Eds G.J. Hallman and D.L. Denlinger. Boulder, CO, USA: Westview Press.Levitt J. 1980. Responses of plants to environmental stresses, 2nd end. New York: Academic Press, Inc.
39- Levie A., Vernon P., and Hance T. 2005. Consequences of acclimation on survival and reproductive capacities of cold stored mummies of *Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera: Aphidiinae). Journal of Economic Entomology, 98: 704-708.
40- Luczynski A., Nyrop J.P., and Shi A. 2007. Influence of cold storage on pupal development and mortality during storage and on post-storage performance of *Encarsia formosa* and *Eretmocerus eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae). Biological Control, 40: 107-117.
41- Mahi H. 2014. Cold storage feasibility of *Lysiphlebus fabarum* (Hym., Aphidiidae) for mass rearing usage. M.Sc. dissertation. Shahid Chamran University of Ahvaz. (in Persian with English abstract).
42- Mohammadi Z. 2014. Impact of host developmental stage on offspring fitness and investigation of foraging behavior in *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Aphidiidae). M.Sc. dissertation. Shahid Chamran University of Ahvaz. (in Persian with English abstract).
43- Mohammadi Z., Rasekh A., Kocheli F., and Habibpour B. 1393. Determining the best morphometric indices for quality control in a sexual population of *Lysiphlebus fabarum* (Braconidae: Aphidiinae). Plant Pests Research, (in Press).
44- Nedved O., Lavy D., and Verhoef H.A. 1998. Modelling the time-temperature relationship in cold injury and effect of high-temperature interruptions on survival in a chill-sensitive collembolan. Functional Ecology, 12: 816-824.
45- Okine J.S., Mitchell E.R., and Hu G.Y. 1996. Low temperature effect on viability of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) pupae and effect on this parasitoid on feeding rate of Diamondback moth larvae (Lepidoptera: Plutellidae). The Florida Entomologist, 79: 503-509.
46- Pitcher S.A., Hoffmann M.P., Gardner J., Wright M.G., and Kuhar T.P. 2002. Cold storage of *Trichogramma ostriniae* reared on *Sitotroga cerealella* eggs. BioControl, 47: 525-535.

47- Polgar L. 1986. Effect of cold storage on the emergence, sex-ratio and fecundity of *Aphidius matricariae*, pp. 255-260. In I. Hodek (ed.), Ecology of Aphidophaga. Academia, Prague & Dr. Junk, Dordrecht, Germany.
48- Polgar L.A., and Hardie J. 2000. Diapause induction in aphid parasitoids. Entomologica Expermentalis et Applicata, 97: 21-27.
49- Rakhshani E., Talebi A.A., Manzari S., Rezwani, A., and Rakhshani H. 2006. An investigation on alfalfa aphids and their parasitoids in different parts of Iran, with a key to the parasitoids (Hemiptera: Aphididae; Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). Journal of Entomological Society of Iran, 25(2): 1-14.
50- Rasekh A., Michaud J.P., Kharazi-Pakdel A., and Allahyari H. 2010. Ant mimicry by an aphid parasitoid, *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Aphidiidae). Journal of Insect Science, 10: 126.
51- Ravensberg W.J. 1992. Production and utilization of natural enemies in western European glasshouse crops. In: Anderson, T.E., Leppla, N.C. (Eds.), Advances in Insect Rearing for Research and Pest Management. Westview, Boulder, CO, pp. 465-487.
52- Renault D., Hance T., Vannier G., and Vernon P. 2003. Is body size an influential parameter in determining the duration of survival at low temperatures in *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae)? Journal of Zoology, 259:381-388.
53- Renault D., Nedved O., Hervannty F., and Vernon P. 2004. The importance of fluctuating thermal regimes for repairing chill injuries in the tropical beetle *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) during exposure to low temperature. Physiological Entomology, 29: 139-145.
54- Renault D., Salin C., Vannier G., and Vernon P. 2002. Survival at low temperatures in insects: what is the ecological significance of the supercooling point? Cryo-Lett 23: 217-228.
55- Rigaux M., Vernon P., and Hance T. 2000. Relationship between acclimation of *Aphidius rhopalosiphi* (De Stefani-Peres) in autumn and its cold tolerance (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent. 65: 253-263.
56- Rivero A., and West S.A. 2002. The physiological costs of being small in a parasitic wasp. Evolutionary Ecology Research, 4: 407-420.
57- Roitberg B.D., Boivin G., and Vet L. 2001. Fitness, parasitoids, and biological control: An opinion. The Canadian Entomologist, 133: 429-438.
58- Rundle B.J., Thomson L.J., and Hoffmann A.A. 2004. Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three *Trichogramma* spp. (*T. carverae*, *T.* nr. *brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold. Journal of Economic Entomology, 97: 213-221.
59- Scopes N.E.A., Biggerstaff S.M., and Goodall D. E. 1973. Cold storage of some parasites used for pest control in glasshouse. Plant Pathology, 22: 189-193.
60- Sehnal F. 1991. Effects of cold on morphogenesis. In: Lee RE Jr, Denlinger DL (eds) Insects at low temperature. Chapman and Hall, London and New York, pp 149-171.
61- Sequeira R., and Mackauer M. 1993. Seasonal variation in body size and offspring sex ratio in field populations of the parasitoid wasp, *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Aphidiidae). Oikos, 68: 340-346.
62- Shalaby F.F., and Rabasse J.M. 1979. Effect of conservation of the aphid parasite *Aphidius matricariae* Hald. (Hymenoptera: Aphidiidae) on adult longevity, mortality and emergence. Annals of Agriculture Science, 2: 59-71.
63- Sigsgaard L. 2000. The temperature-dependent duration of development and parasitism of three cereal aphid parasitoids, *Aphidius ervi*, *A. rhopalosiphi*, and *Praon volucre*. Entomologica Expermentalis et Applicata, 95:173-184.
64- Singh R., and Srivastava M. 1988. Effect of cold storage of mummies of *Aphis craccivora* Koch subjected to different pre-storage temperature on percent emergence of *Trioxys indicus* Subba Rao and Sharma. Insect Science and its Application, 9: 655-657.
65- Stary P. 1970. Methods of mass rearing, collection and release of *Aphidius smithi* in Czechoslovakia. Acta Entomologica Bohemoslovaca, 67: 339-346.
66- Stary P. 1986. Creeping thistle, *Cersium arvense*, as a reservoir of aphid parasitoid (Aphidiidae) in agroecosystem. Acta Entomologica Bohemoslovaca, 97: 339-346.
67- Van Lenteren J.C. 2003. Need for quality control of mass-produced biological control agents. Quality control and production of biological control agents: Theory and Testing Procedures (ed. by J. C. van Lenteren), pp. 1-18. CABI Publishing, Wallingford, U.K.
68- Visser B., Le Lann C., Den Blanken F.J., Harvey J.A., Van Alphen J.J.M., and Ellers J. 2010. Loss of lipid synthesis as an evolutionary consequence of a parasitic lifestyle. Proceeding of the National Academy of Sciences, USA, 107: 8677-8682.
69- Volkl W. 1992. Aphids or their parasitoids: who actually benefits from ant attendance? Journal of Animal Ecology, 61: 273-281.
70- West A., Flanagan K.E., and Godfray H.C.J. 1996. The relationship between parasitoid size and fitness in the field, a study of *Achrysocharoides zwoelferi* (Hymenoptera: Eulophidae). Journal of Animal Ecology, 65: 631-639.