

مقاله کوتاه

اولین گزارش طغیان و شناسایی لارو زنبور برگخوار بلوط *Periclista* sp. (Hymenoptera: Tenthredinidae) با استفاده از ژن COI در ایران

مجید توکلی^۱، اسداله حسینی چگنی^{۲*} و صمد خاقانی نیا^۳

۱- دانشجوی دکتری حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران

پست الکترونیک: Hosseinichegeni@gmail.com

۳- دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۰

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۷/۲۴

چکیده

زنبور برگخوار بلوط *Periclista* sp. (Hymenoptera: Tenthredinidae) آفت مهم درخت بلوط در سراسر دنیا است. طی چند سال گذشته در جنگل‌های بلوط منطقه قلابی شهرستان الشتر استان لرستان، منحصراً روی گونه بلوط *Quercus infectoria*. یک گونه حشره آفت برگخوار طی اردیبهشت و خرداد ضمن برگخواری شدید خسارات جدی به این درختان تحمیل می‌کند. پس از جمع‌آوری و شناسایی مقدماتی نمونه‌های لارو، با استفاده از تکثیر و توالی‌یابی قسمتی از ژن I cytochrome oxidase subunit I هویت آنها تأیید شد که این آفت یک نوع زنبور از خانواده Tenthredinidae متعلق به جنس *Periclista* است. تنها میزبان شناخته شده آن در منطقه گونه *Q. infectoria* است. خسارات وارده توسط این آفت بسیار زیاد و جدی است زیرا لاروهای آن به شدت برگخوار بوده و درختان بلوط را به طور کامل فاقد برگ می‌کنند. به منظور شناسایی دقیق گونه در آینده دستیابی به حشره بالغ ضروری است.

واژه‌های کلیدی: زنبور برگخوار بلوط، لرستان، تشخیص مولکولی، COI

زنبور برگخوار بلوط *Periclista* sp. (Hymenoptera: Tenthredinidae)

زنبورهای برگخوار جنس *Periclista* متعلق به قبیله Blennocampini. زیرخانواده Blennocampinae، از خانواده Tenthredinidae می‌باشند، در منطقه غرب پالتارکتیک ۱۶ گونه از آنها شناخته شده که اغلب در منطقه مدیترانه حضور دارند و دارای پراکنش وسیعی هستند.

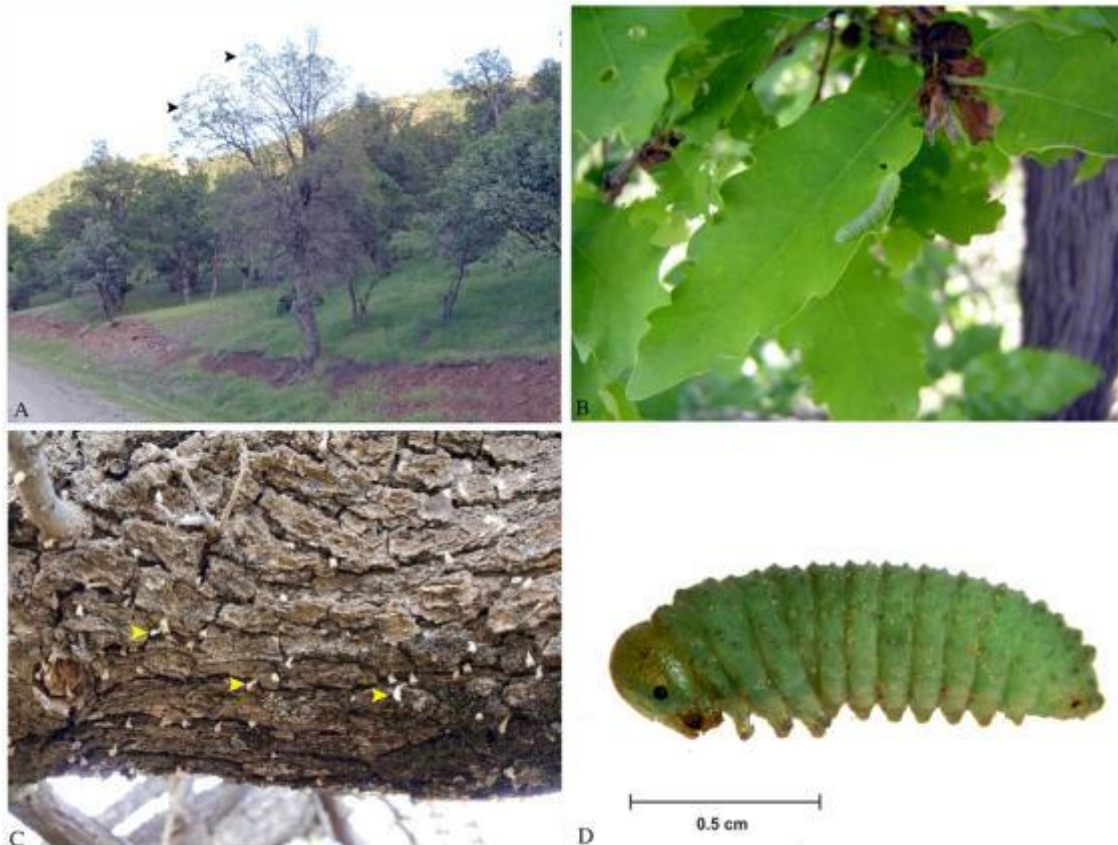
میزبان انحصاری آنها درختان بلوط *Quercus* spp. است، که طی مراحل لاروی از برگ درختان تغذیه می‌کنند (Pesarini & Turrisi, 2002). در برخی مناطق برگخواری شدید از درختان توسط لارو این زنبورها گزارش شده است (dos Santos Ceia, 2016). طی چند سال گذشته در جنگل‌های بلوط منطقه قلابی استان لرستان، منحصراً روی گونه بلوط *Q. infectoria* یک گونه حشره آفت برگخوار

و شناسایی حشرات به خصوص مراحل نابالغ ایجاد کرده‌اند کار شناسایی این زنبور با استخراج DNA از لاروها با روش فنل کلروفرم، تکثیر قسمتی از ژن COI با استفاده از پرایمرهای رفت (GGA GGA TTT - 3' C1-J-1718 و برگشت (-5' GGA AAT TGA TTA G C1-N-) و (ACT TC -5' Simon et al., 1994) و همکاران (۱۹۹۴) کمی تغییرات (Simon et al., 1994) انجام گرفت. چرخه دمایی بهینه برای تکثیر قطعه COI براساس الگوی دمایی تاج داون (touchdown) انجام شد. توالی‌یابی به صورت یک‌طرفه از طرف پرایمر رفت به انجام رسید. درخت تبارشناسی مبتنی بر روش بیزین (Bayesian Inference) با استفاده از نرم‌افزار BEAST (Bayesian Evolutionary Analysis by Sampling Trees) ترسیم شد. به طور کلی لاروهای زنبورهای خانواده Tenthredinidae را از روی شمارش پای کاذب سطح شکمی‌شان که بیش از پنج جفت هستند به راحتی می‌توان از سایر حشرات جدا کرد (شکل ۱ قسمت D). مهم‌ترین ویژگی‌های ریخت‌شناسی لاروهای جنس *Periclista* به شرح ذیل است. لاروهای سنین پایین به رنگ سبز درخشان و سنین بالا به رنگ زرد مایل به سبز بوده، طول بین ۲/۶ - ۱۳/۵ میلی‌متر دارند. سطح بدن آنها واجد چند ردیف زواید خارمانند که قسمت راسی آنها دوشاخه و تیره رنگ است، می‌باشد. کیسول سر در آنها به خوبی رشد کرده و شاخک کوتاه مخروطی شکل ۳-۵ بندی است، شکم لارو شامل ده بند است، لاروها این حشره دارای هفت جفت پای کاذب بر روی بندهای ۲-۸ شکمی هستند. از لحاظ رفتاری اغلب لاروهای سنین پایین در سطح زیرین برگ‌ها قرار می‌گیرند. لاروهای سنین آخر به سمت تنه درختان و شاخه‌های بزرگ و زمین تمایل دارند (شکل ۱ قسمت B) و به منظور خواب، زمستان‌گذرانی و تبدیل به شفیره در لایه‌های خاک نفوذ می‌کنند. آثار پوستک‌های لاروی روی تنه درخت بلوط به وضوح قابل مشاهده است (شکل ۱ قسمت C). این زنبور برگخوار بلوط برای اولین بار به عنوان یک آفت مهم روی درختان بلوط از ایران گزارش

طی اردیبهشت و خرداد هر ساله ضمن برگخواری شدید خسارات جدی به این درختان تحمیل می‌کند (Tavakoli & Sepahvand, 2017). این آفت یک زنبور برگخوار از خانواده Tenthredinidae و از جنس *Periclista* است که از گذشته در منطقه وجود داشته و دلیل ناشناخته باقی‌مانده این حشره زیست‌شناسی خاص آن است به طوری که براساس تجربیات ۵ ساله ما پرورش آن در شرایط آزمایشگاهی و امکان طی شدن مراحل دیپوز و تبدیل لارو به بالغ میسر تاکنون میسر نبوده و شاید تنها در شرایط طبیعی کنترل شده و آن هم عرصه‌های جنگلی خاص (حاشیه رودخانه‌ها و آبراه‌ها) و یا انسکتاریوم‌های ویژه این کار قابل انجام باشد. در برخی منابع هم به چرخه زندگی طولانی و پیچیده این آفت اشاره شده است (González Alonso, 2009). بر اساس منابع موجود دوره دیپوز شفیره برخی از گونه‌های این زنبور برگخوار در داخل خاک طولانی و حتی تا سه سال هم طول می‌کشد (dos Santos González Alonso, 2009; Ceia, 2016). طی سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۶ کار نمونه‌برداری از لاروهای این زنبور از روی درختان بلوط دارمازو و جمع‌آوری کلوخه‌های خاک حاوی شفیره از پیرامون طوقه درختان آلوده واقع در کانون طغیان این آفت در حاشیه مسیر رودخانه کشکان از روستای چم‌تکله با موقعیت عرض جغرافیایی ۳۳° ۴۵' ۰۶" و طول جغرافیایی ۴۸° ۰۱' ۰۹" تا تنگ گاوشار با موقعیت عرض جغرافیایی ۳۳° ۴۸' ۳۲" و طول جغرافیایی ۴۷° ۵۰' از منطقه قلابی واقع در استان لرستان انجام گرفت. طی عملیات پرورش آزمایشگاهی ضمن جمع‌آوری توده (کلوخه) خاک بستر جنگل حاوی لاروها به همراه پیله‌های گلی و شفیره‌ها از اطراف طوقه درختان آلوده متأسفانه در شرایط دما و رطوبت آزمایشگاه حشره بالغ تفریخ نشد. لذا لازم است در مطالعات تکمیلی با بهینه‌سازی شرایط کار پرورش این کار در یک انسکتاریوم مجهزتر صورت گیرد. در آزمایشگاه نمونه‌های لارو از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناسی افتراقی بررسی شدند. با توجه به اینکه امروزه روش‌های مولکولی انقلابی در سیستماتیک

گروهی روی برگ‌ها، شاخه‌ها و تنه درختان میزبان دیده می‌شوند و از طرفی هم به دلیل داشتن دوره دیاپوز طولانی درون خاک کنترل آن بسیار مشکل است (González Alonso, 2009). لاروها و شفیره‌های این آفت به خشکی و رطوبت زیاد حساس بوده به همین دلیل در منطقه مورد مطالعه فقط در مجاور رودخانه دائمی کشکان دیده شدند.

می‌شود. به منظور شناسایی دقیق گونه آن دستیابی به حشره بالغ ضروری است. تنها میزبان شناخته شده آن در منطقه *Q. infectoria* است. خسارات وارده توسط این آفت بسیار زیاد و جدی است زیرا لاروهای آن به شدت برگ‌خوار بوده و درختان بلوط را به طور کامل فاقد برگ می‌کنند (شکل ۱ قسمت A). لاروهای آن با جمعیت زیاد و به صورت



شکل ۱- میزان، آثار خسارت و ریخت شناسی لارو زنبور برگ‌خوار بلوط؛ A: نمای درخت بلوط که مورد حمله لاروها قرار گرفته است (فلش-های سیاه)، B: لارو زنبور برگ‌خوار بلوط در حال تغذیه، C: آثار پوستک‌های لاروی روی تنه درخت بلوط (فلش‌های زرد)، D: منظره لارو زنبور برگ‌خوار بلوط در مرحله پیش‌شفیرگی از نمای جانبی. (اصلی)

نظر مورفولوژیک شباهت بسیار زیادی به یکدیگر داشته باشند و بنابراین به خوبی از یکدیگر تفکیک نمی‌شوند؛ جدول بلاست هم این مطلب را تأیید می‌کند از آنجا که شباهت جنس‌های *Ametastegia*، *Blennocampa* و *Perineura* به عنوان گروه خارجی با جنس *Periclista* از ۹۱ تا ۹۹ درصد متغیر است هر چند میزان هم‌پوشانی به

درخت تبارشناسی (شکل ۲) حاصل از گونه‌های مختلف جنس *Periclista* و مقایسه آن با جنس‌های به عنوان گروه خارجی نشان داد که گرچه جنس *Periclista* در روی درخت تبارشناسی به خوبی از سه جنس دیگر جدا می‌شود اما میزان صحت قابل قبولی در محل گره انشقاق به دست نیامد (۰/۳۸). تفسیر محتمل این است که این جنس‌ها از

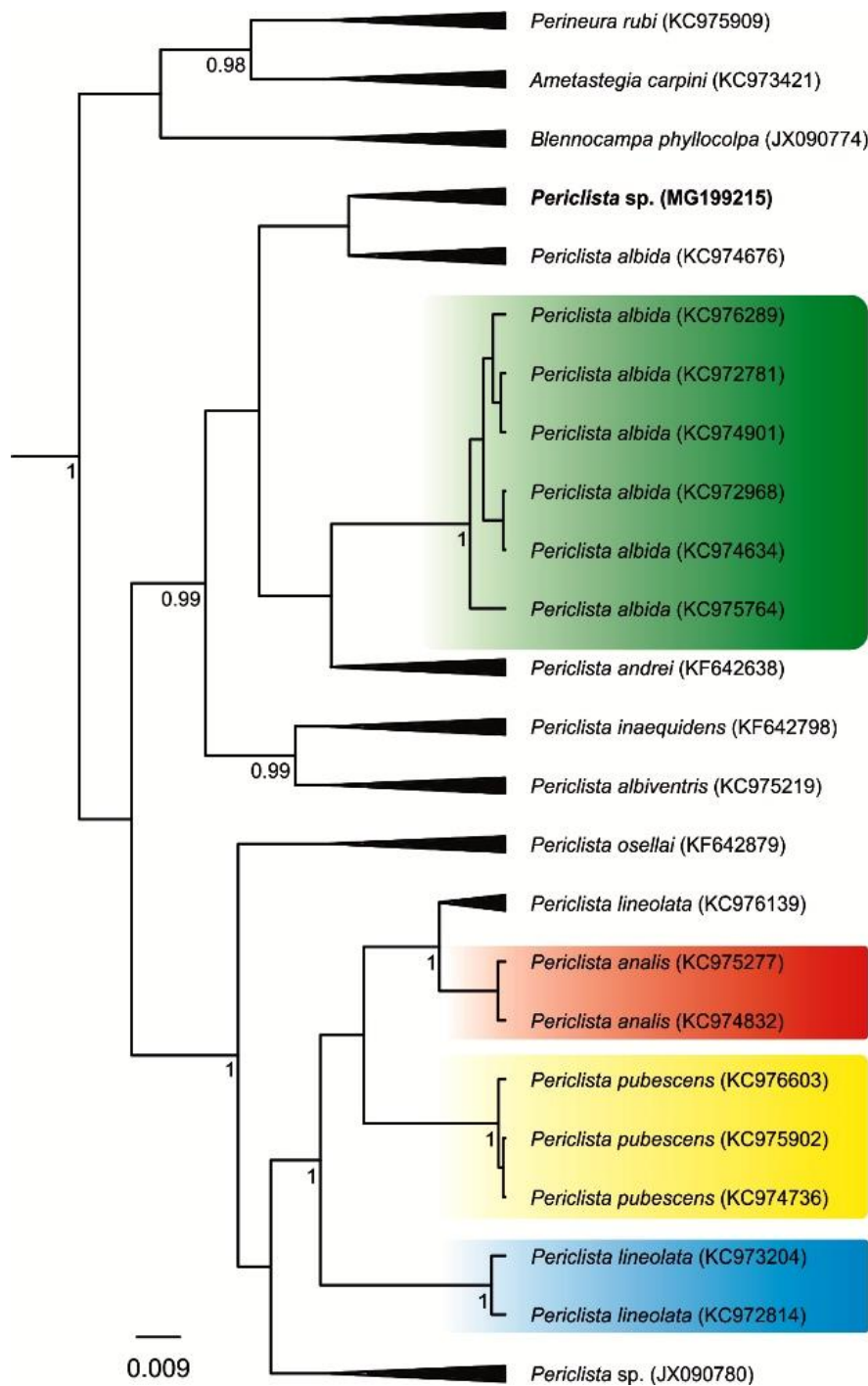
شامل *Peric. analis*, *Peric. lineolata*, *Peric. osellai* درون کلاد (اعضای جنس *Periclista*) به وضوح دو کلاد با میزان صحت بالا و کامل به وجود آمد؛ یک کلاد شامل گونه مطالعه حاضر، *Peric. albida*، *Peric. andrei*، *Peric. albiventris* و *Peric. inaequidens* تبارشناختی مورد نیاز است که در مطالعات بعدی باید به انجام برسد.

اندازه گونه‌های جنس *Periclista* نمی‌باشد (جدول ۱). در درون کلاد (اعضای جنس *Periclista*) به وضوح دو کلاد با میزان صحت بالا و کامل به وجود آمد؛ یک کلاد شامل گونه مطالعه حاضر، *Peric. albida*، *Peric. andrei*، *Peric. albiventris* و *Peric. inaequidens*

جدول ۱- مقایسه توالی بخشی از ژن COI مطالعه حاضر و توالی‌های بانک ژن به صورت جدول بلاست

نمره کلی	میزان هم‌پوشانی (%)	میزان شباهت (%)	شماره دسترسی	گونه
۶۲۸	۹۱	۹۳.۹	KC974676.1	<i>Periclista albida</i>
۵۹۰	۹۱	۹۲.۲	KC976289.1	<i>Periclista albida</i>
۵۸۴	۹۱	۹۲	KC974901.1	<i>Periclista albida</i>
۵۸۴	۹۱	۹۲	KC972781.1	<i>Periclista albida</i>
۵۷۹	۹۱	۹۱.۸	KF642798.1	<i>Periclista inaequidens</i>
۵۶۸	۹۱	۹۱.۳	KC974634.1	<i>Periclista albida</i>
۵۶۸	۹۱	۹۱.۳	KC972968.1	<i>Periclista albida</i>
۵۵۶	۸۸	۹۱.۵	KC975764.1	<i>Periclista albida</i>
۵۴۰	۹۱	۹۰.۱	KF642638.1	<i>Periclista andrei</i>
۵۳۸	۹۱	۹۰	KF642879.1	<i>Periclista osellai</i>
۵۲۹	۹۹	۸۷.۸	JX090780.1	<i>Periclista</i> sp.
۵۱۲	۹۱	۸۸.۹	KC974832.1	<i>Periclista analis</i>
۵۰۷	۹۱	۸۸.۶	KC975277.1	<i>Periclista analis</i>
۵۰۷	۹۱	۸۸.۶	KC976603.1	<i>Periclista pubescens</i>
۵۰۷	۹۱	۸۸.۶	KC975902.1	<i>Periclista pubescens</i>
۵۰۷	۹۱	۸۸.۶	KC974736.1	<i>Periclista pubescens</i>
۵۰۱	۹۱	۸۸.۴	KC976139.1	<i>Periclista lineolata</i>
۵۰۱	۹۱	۸۸.۴	KC972814.1	<i>Periclista lineolata</i>
۴۹۶	۹۱	۸۸.۱	KC973204.1	<i>Periclista lineolata</i>
۴۸۴	۹۱	۸۷.۷	KC975219.1	<i>Periclista albiventris</i>
۵۴۰	۹۹	۸۸.۳	JX090774.1	* <i>Blennocampa phyllocolpa</i>
۴۸۴	۹۱	۸۷.۷	KC973421.1	* <i>Ametastegia carpini</i>
۴۷۹	۹۱	۸۷.۴	KC975909.1	* <i>Perineura rubi</i>

* گروه خارجی



شکل ۲- درخت تبارشناسی استنباط شده از توالی‌های قسمتی از ژن COI مطالعه حاضر و توالی‌های بانک ژن، ایجاد شده با روش استنباط بی‌زیان (Bayesian Inference)؛ کلادهای مربوط به گونه‌های مختلف جنس *Periclista* با رنگ‌های مختلف در سمت راست درخت مشخص شده است. توالی مطالعه حاضر با فونت درشت به صورت یک شاخه مجزا قرار دارد. ترتیب همه توالی‌ها به صورت جنس، گونه و شماره دسترسی بانک ژن (درون پرانتز) قرار داده شده است. اعداد مربوط به میزان‌های صحت (آزمون احتمال ثانویه) در محل گره‌ها قرار گرفته است. طول شاخه‌ها متناسب با میزان تغییرات تکاملی گونه‌های مورد مطالعه است. جنس‌های *Perineura* و *Ametastegia* *Blennocampa* به عنوان گروه خارجی مد نظر بوده است.

References

- dos Santos Ceia, R.R. 2016. Insect predation by birds in Mediterranean oak woodlands and its importance in the control of defoliator pests. University of Coimbra, Coimbra, Portugal.
- González Alonso, C. 2009. Analysis of the oak decline in Spain-La Seca .Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala Sweden.
- Pesarini, F. and Turrisi, G.F. 2002. Studies on *Periclista* Konow, 1886, with description of two new species from Italy (Hymenoptera, Symphyta, Tenthredinidae, Blennocampinae). *Annali del Museo civico di storia naturale*, 5: 105-117.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. and Flook, P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers .*Annals of Entomological Society of America*, 87: 651–701.
- Tavakoli, M. and Sepahvand, K. 2017. Report on the outbreak of pests and diseases in the forest and rangeland areas of northern and central Zagros during the spring of 2017, Lorestan, Iran. *Agricultural and Natural Resources Research Center of Lorestan*, 32p (In Persian).

The first report of outbreak and identification of the larvae of Oak defoliator wasp, *Periclista* sp. (Hymenoptera: Tenthredinidae) using COI gene from Iran

M. Tavakoli¹, A. Hosseini-Chegeni^{2*} and S. Khaghaninia¹

1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

2*- Corresponding author, Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Lorestan, Lorestan, Iran. E-mail: Hosseinichegeni@gmail.com

Received: 16.10.2017

Accepted: 30.01.2018

Abstract

The oak defoliator wasp, *Periclista* sp. (Hymenoptera: Tenthredinidae) is a major pest of oak tree around the world. During the last years an outbreak due to an exclusive re-emergent pest defoliator of the oak *Quercus infectoria* in Ghelaii rural district, Lorestan province was occurred. This pest imposing severe loss to the oak trees during April to June. After insect collection and preliminary identification of specimens, the identifying the larva was confirmed using sequencing of a COI gene fragment as a tenthredinid wasp species belonging to the genus *Periclista*. The oak tree *Q. infectoria* is the exclusive host of pest wasp species in this region. The loss caused by this pest is serious since that the larvae are highly phytophagous and can completely defoliate the oak trees. As a further study, adult stage is needed to specific identification of this wasp pest species.

Key words: Oak defoliator wasp, Lorestan, molecular identification, COI.