

## یادگیری بویایی و دوام حافظه در زنبور *Venturia canescens*

(Hym.: Ichneumonidae)

حسین کیشانی فراهانی، یاسمن مقدسی، پوریا آبرون و احمد عاشوری\*

گروه گیاهپزشکی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

\*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Ashouri@ut.ac.ir

### چکیده

یادگیری نشانه‌های جدید در تمامی شاخه‌های زیستی جانوران از موجودات تک‌سلولی تا پستانداران به صورت‌های مختلف رخ می‌دهد. حشرات برخلاف جثه کوچک و طول عمر کوتاه، توانایی خارق‌العاده‌ای را در یادگیری، به خاطر سپردن و بکارگیری نشانه‌های مختلف محیطی مرتبط با حضور میزبان و منابع غذایی دارا می‌باشند. این توانایی از عوامل موثر در افزایش کارایی و قدرت جستجوگری دشمنان طبیعی همچون زنبورهای پارازیتوئید مانند زنبور *Venturia canescens* می‌باشد. زنبور *V. canescens* از مهمترین پارازیتوئیدهای شب‌پره‌های خانواده Pyralidae می‌باشد. در این پژوهش توانایی یادگیری بویایی زنبور *V. canescens* نسبت به دو رایحه بویایی نعناع و لیمو با استفاده از دستگاه بویایی سنج دو راهی Y شکل بررسی شد. نتایج نشان داد که زنبور *V. canescens* نسبت به رایحه‌های بویایی نعناع و لیمو ترجیح ذاتی نداشت. اما بعد از شرطی‌سازی زنبورهای ماده، بین پاسخ‌های بویایی به رایحه بویایی شرطی (رایحه نعناع) و غیرشرطی (رایحه لیمو) تفاوت معنی‌داری وجود داشت. همچنین دوام حافظه زنبور *V. canescens* تا ۲۷ ساعت بعد از شرطی‌سازی و در غیاب تجربه برخورد با رایحه فراگرفته شده، ادامه یافت. شناخت توانایی یادگیری و دوام حافظه در دشمنان طبیعی از جمله زنبور *V. canescens* می‌تواند باعث کاربرد موفق‌تر پارازیتوئیدها در برنامه‌های کنترل بیولوژیک آفات گیاهی گردد.

کلمات کلیدی: دوام حافظه، تجربه، قدرت جستجوگری، یادگیری بویایی، *Venturia canescens*

## Olfactory learning and memory retention in *Venturia canescens*

(Hym.: Ichneumonidae)

Hossein Kishani Farahani, Yasaman Moghaddasi, Pouria Abrun & Ahmad Ashouri\*

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

\*Corresponding author, E-mail: Ashouri@ut.ac.ir

### Abstract

Learning new cues in all branches of biological organisms, ranging from unicellular organisms to mammals, occurs in different ways. In spite of their small size and short life span, insects have an extraordinary ability to learn, memorize and use environmental cues associated with the hosts and their food sources. Having the ability to learn and recalling the cues associated with the presence of prey / host is a key factor that increases the performance and foraging capacity of biocontrol agents including the ichneumonid parasitoid wasp *Venturia canescens* which is one of the most important parasitoids of the family Pyralidae in the world. In this research the learning ability of *V. canescens* in presence of peppermint and lemon odors was investigated by Y- Olfactometer. Results showed that the wasp had no significant preference towards peppermint or lemon, but after conditioning the female wasp, a meaningful difference was observed between her response to the conditioned odor (peppermint) and unconditioned odors (lemon). Her memory's lasting period continued for 27 hours after conditioning in the absence of the learned cues. Recognizing the learning ability and memory retention of the biocontrol agent *V. canescens* helps improve the efficiency of its application in biological control programs.

**Keywords:** memory retention, performance, experience, searching capacity, olfactory learning

Received: 30 June 2016, Accepted: 14 January 2017

## مقدمه

برخلاف تصور عموم قدرت یادگیری تنها منحصر به جانوران پیشرفته مخصوصاً پستانداران نیست بلکه این پدیده در تمامی شاخه‌های زیستی از موجودات تک سلولی (پارامسی‌ها) تا پستانداران و بی‌مهرگان مانند نماتدها، حلزون‌ها، ایزوپودها و به صورت‌های مختلف رخ می‌دهد (Drickamer *et al.*, 2002; Smid & Vet, 2006; Segura *et al.*, 2007). بررسی یادگیری در راسته بال غشاییان (Hymenoptera) روی تعداد زیادی از گونه‌ها انجام گرفته‌است و تاکنون برای قریب به ۳۶ گونه از پارازیتوئیدها مستند شده است (Begum *et al.*, 2004). یادگیری در حشرات گسترده است و به نظر می‌رسد که تا حدی در افزایش کارایی رفتارهای مرتبط با یافتن غذا و مکان‌های جفت‌گیری موثر باشد (van Baaren & Boivin, 1998). زنبورهای پارازیتوئید مدل‌های مناسبی برای بررسی این ویژگی رفتاری‌اند چرا که تغییرات رفتاری در آن‌ها به راحتی توسط مشاهدات بینایی در شرایط کنترل شده قابل ثبت است. یادگیری می‌تواند منجر به ایجاد تغییرات زیادی در رفتارهای فردی شامل افزایش پاسخ به یک محرک، تکامل ترجیح و کاهش در پراکنش پاسخ پارازیتوئید به یک محرک می‌شود (Langley & Timlon, 2006; Kishani Farahani *et al.*, 2012b).

تعاریف مختلفی از یادگیری وجود دارد که در تمام آن‌ها تجربه و تکرار نقش مهمی در تغییرات رفتاری دارد. تجربه از مهمترین عوامل در تغییر رفتارهای یک فرد می‌باشد که باعث بروز رفتارهای جدید و یا حذف برخی از رفتارها در طول زندگی یک فرد خواهد شد (Kishani Farahani *et al.*, 2013). یادگیری تغییر رفتار فرد در نتیجه تجربه است که با ادامه تجربه ادامه یافته و در غیاب تجربه فراموش خواهد شد (Vet *et al.*, 1995). یادگیری نشانه‌های شیمیایی ممکن است در مراحل مختلف رشدی حشره (مرحله نابالغ (Pre-imaginal Learning) و بعد از بلوغ (Adult Learning)) رخ دهد در حالیکه ممکن است یک مرحله خاص از زندگی حشره وجود داشته باشد که پارازیتوئید در آن مرحله قدرت یادگیری بیشتری داشته باشد (Gandolfi *et al.*, 2003). علاوه بر عوامل محیطی، عوامل زنده و ذاتی دیگری نیز در یافتن میزبان و میزان توقف پارازیتوئید در لکه اکولوژیک (Patch) و بهره‌برداری از آن تاثیر دارند (van Alphen *et al.*, 2003). وضعیت فیزیولوژیکی جنس ماده مانند سن، کیفیت تغذیه، جفت‌گیری، و حضور رقیب در پیچ از این عوامل تاثیر گذار در مدت زمان ماندن در پیچ می‌باشند (Goubault *et al.*, 2004; Corley *et al.*, 2010; Louapre *et al.*, 2011). تجربه قبلی برخورد با میزبان و وقوع پارازیتیسیم توسط زنبورهای ماده نیز از عوامل مهم و تاثیرگذار روی زمان بهره‌برداری از پیچ می‌باشد. یادگیری و بکارگیری نشانه‌های بویایی مرتبط با حضور مناسب در پیچ‌های مورد بازدید توسط ماده‌ها باعث تغییر مدت‌زمان ماندن و بهره‌گیری از پیچ می‌شود، که این امر در نهایت باعث افزایش کارایی موجود زنده در طبیعت می‌شود (Keasar *et al.*, 2001; Outreman *et al.*, 2005).

یادگیری نشانه‌های مختلف نمی‌تواند جدا از حافظه در نظر گرفته شود. اطلاعات آموخته شده که در حافظه ذخیره می‌شوند روی رفتارهای مختلف فرد تاثیر دارند. نوع حافظه تشکیل شده در مغز جانور تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار دارد. انواع مختلف حافظه در جانوران از نظر مصرف انرژی، ثبات و طول مدت متفاوت است (Huigens *et al.*, 2010). دوام یادگیری و به یاد آوردن آموخته‌ها در حشرات بسته به گونه حشره و مرحله‌ای از زندگی فرد (سن فیزیولوژیک) متفاوت است و می‌تواند از چند دقیقه تا چند روز و هفته متغیر باشد (Huigens *et al.*, 2010). انواع حافظه در حشرات بر اساس مطالعات انجام شده روی زنبور عسل و مگس سرکه طبقه بندی شده است (Eisenhardt, 2006; Margulies *et al.*, 2005). تشکیل و تثبیت حافظه نقش مهمی در افزایش کارایی جانور در طول زندگی فرد خواهد داشت. توانایی یادگیری و دوام حافظه پارازیتوئید را قادر می‌سازد تا در طبیعت بعد از برخورد با میزبان، نشانه‌های مربوط به حضور میزبان مانند بوی میزبان گیاهی، فرمون‌های جنسی میزبان و نشانه‌های دیگر مربوط

به حضور میزبان را در محیط فراگرفته و با توجه به این نشانه‌ها میزبان خود را در مدت زمان کمتر، با سرعت و دقت بیشتر و با صرف انرژی کمتر پیدا کند (Kishani Farahani et al., 2013).

زنبور *Venturia canescens* Gravenhorst (Hym.: Ichneumonidae) از گونه‌های انفرادی، پارازیتوئید داخلی و Koinobiont می‌باشد. این گونه یکی از مهمترین پارازیتوئیدهای شب‌پره‌های خانواده Pyralidae می‌باشد و از روی بسیاری از آفات انباری و محصولات باغی مهم نیز گزارش شده‌است (Kishani Farahani et al., 2012b; Reinke et al., 2006; Salt, 1975). دو جمعیت تک جنسی و دوجنسی از این پارازیتوئید از ایران و جهان گزارش شده‌است (Kishani Farahani et al., 2012b) ولی در اغلب مواقع به صورت تک جنسی تولید مثل کرده و تولید نتاج ماده می‌کند. طول دوره رشدی مراحل نابالغ تا حدودی کوتاه، تولید جنس ماده و عدم نیاز به جنس نر، نرخ پارازیتسم مناسب و زنده‌مانی بلند مدت بالغین، ویژگی‌های منحصر به فرد این گونه است که این امکان را فراهم می‌سازد تا در کنار پرورش آسان، ویژگی‌های مورد نظر یک گونه مناسب برای پرورش و رهاسازی انبوه را داشته باشد (Kishani Farahani et al., 2012a). هدف از انجام این تحقیق بررسی توانایی یادگیری و دوام حافظه به عنوان یکی از مهمترین ویژگی‌های رفتاری افزایش دهنده کارایی افراد تک جنسی بومی زنبور *V. canescens* می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### پرورش بید آرد (*Ephestia kuehniella* (Lep.: Pyralidae))

به منظور پرورش بید آرد *E. kuehniella* یک کیلو آرد سبوس‌دار در ظرف‌های مستطیلی شکل شفاف به ابعاد  $10 \times 16 \times 23$  سانتی‌متر که به منظور تهیه روی درپوش آن‌ها منقذی به ابعاد  $7 \times 14$  سانتی‌متر ایجاد و با توری مسدود بود، ریخته و به مدت دو ساعت آن را در آون در دمای  $80^\circ\text{C}$  درجه‌ی سلسیوس قرار داده شد. پس از خنک شدن سه گرم مخمر (خمیر مایه پودری فریمان، شرکت ایران ملاس، ایران) به آن اضافه و خوب مخلوط شدند. سپس  $0.3$  گرم تخم بید آرد به ظروف محتوی آرد اضافه شد. تخم‌های بید آرد مورد استفاده از آزمایشگاه اکولوژی و کنترل بیولوژیک حشره‌شناسی دانشگاه تهران تامین گردید. پرورش در دمای  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $50 \pm 10$  و دوره‌ی نوری  $16$  ساعت روشنایی و  $8$  ساعت تاریکی انجام شد.

### پرورش زنبور *V. canescens*

زنبورهای مورد استفاده در این تحقیق از کلنی موجود در آزمایشگاه اکولوژی و رفتارشناسی بخش حشره‌شناسی دانشگاه تهران تهیه شد. برای پرورش زنبورهای همسان، زنبورهای بالغ ماده که حداکثر  $24$  ساعت از عمرشان می‌گذشت انتخاب شدند. تعداد  $30$  عدد لارو سن پنجم شب پره آرد به مدت  $24$  ساعت در داخل ظروف استوانه‌ای شفاف به ابعاد  $8 \times 20$  سانتی‌متر در اختیار آنها قرار گرفت. زنبورها توسط عسل و آب که به طور جداگانه در اختیار آنها قرار گرفت، تغذیه شدند. بعد از  $24$  ساعت لاروهای میزبان جدا شده و به ظرفی با ابعاد  $3 \times 3 \times 10$  سانتی‌متر و با رنگ شفاف منتقل شدند.

### ترجیح ذاتی

به منظور بررسی ترجیح ذاتی (Innate Preference) زنبورهای مورد آزمایش نسبت به نشانه‌های بویایی بکار رفته در این تحقیق تعداد ۴۰ عدد زنبور ماده با طول عمر یک روز که هیچ گونه تجربه برخوردی با میزبان نداشتند انتخاب شدند. این زنبورها در دستگاه بویایی سنج Y شکل و در شرایط محیطی دمای  $1 \pm 25$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $5 \pm 70$  درصد در معرض دو رایحه لیمو و نعناع (۹۷٪ خلوص، شرکت باریج اسانس، ایران) با سرعت ۰/۵ متر بر ثانیه به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. زنبورهایی که در هر بازوی تونل به مدت ۴۵ ثانیه توقف می‌کردند، عمل توقف به عنوان پاسخ مثبت این زنبورها نسبت به هریک از آن رایحه‌ها ثبت شد. در این آزمایش دو رایحه بطور جداگانه در مقایسه با هوا در دستگاه بویایی سنج که در یکی از بازوها بوی نعناع و در بازوی دیگر هوا و در آزمایش دیگر در یک بازو بوی لیمو و در بازوی دیگر هوا جریان داشت مورد مطالعه قرار گرفت.

### شرطی سازی

برای جلوگیری از القا فرایندهای خوگرفتن و حساس شدن در طول آزمایش‌های یادگیری، ابتدا مدت زمان لازم برای پارازیتیسیم تعداد ۳۰ عدد لارو سن پنجم بید آرد توسط ۴۰ عدد زنبور ماده *V. canescens* با طول عمر یک روز، ثبت و اندازه‌گیری شد. بر این اساس زنبورها در طی مدت زمان ۴-۵ ساعت اقدام به پارازیتیزه کردن این تعداد لارو کردند و به همین دلیل مدت زمان ۵ ساعت برای قرارگیری زنبورها در تانک‌های یادگیری تعیین شد. برای آزمایش‌های فراگیری تعداد ۴۰ عدد زنبور بالغ با حداکثر طول عمر ۲۴ ساعت که تجربه برخورد با میزبان را نداشتند انتخاب شد. این زنبورها در این مدت با تیمار غذایی آب و عسل تغذیه می‌شدند. تعداد ۳۰ عدد لارو سن پنجم که مناسب‌ترین سن میزبان برای پرورش این زنبور است (Kishani Farahani et al., 2012a)، درون تانک‌های بویایی به مدت ۵ ساعت در اختیار هریک از زنبورها قرار گرفت. در این مدت بوی نعناع با سرعت ۶ متر در ثانیه به داخل تانک‌های شرطی‌سازی (۲۵×۲۵×۲۵ سانتی‌متر) توسط پمپ باد تزریق می‌شد. پاسخ زنبورها بعد از شرطی‌سازی در دستگاه بویایی سنج Y شکل بررسی شد. پاسخ زنبورها بعد از شرطی‌سازی در دستگاه بویایی سنج Y شکل در شرایط محیطی دمای  $1 \pm 25$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $5 \pm 70$  درصد و در طول روز با شدت نور ۵۰۰ لوکس بررسی شد. به این منظور ۲ رایحه بویایی نعنا به عنوان بوی فراگرفته شده و بوی لیمو به عنوان بوی جدید (غیر شرطی) در داخل دستگاه بویایی سنجی قرار گرفت. مدت زمان آزمایش ۱۵ دقیقه بود و هنگامی که زنبورها در هر بازو به مدت ۴۵ ثانیه توقف می‌کردند، جلب شدن به هر یک از رایحه‌ها ثبت می‌شد. بعد از هر ۴ مرتبه رهاسازی زنبور در دستگاه بویایی سنج، مکان رایحه‌ها در داخل دستگاه تعویض می‌شد تا احتمال هرگونه خطای ناشی از عدم تقارن احتمالی به حداقل برسد.

برای مطالعه دوام حافظه، ابتدا زنبورها به شیوه گفته شده در بالا با بوی نعناع آشنا شده سپس از تانک‌ها خارج و بعد از مدت زمان ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۷۲ ساعت پاسخ آن‌ها در دستگاه بویایی سنج به شیوه آزمایش قبلی ثبت شد. بدین ترتیب که زنبورها بعد از خروج از تانک‌ها درون ظرف‌هایی که در آن‌ها آب و عسل به طور جداگانه در اختیار آن‌ها قرار می‌گرفت در شرایط آزمایشگاهی دمای  $1 \pm 25$  درجه سلسیوس، رطوبت  $10 \pm 70$  درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در مدت زمان‌های مورد نظر نگهداری شدند، در این مدت زنبورها هیچگونه تماسی با میزبان نداشتند.

## تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل پاسخ‌های ذاتی ثبت شده، و همچنین پاسخ‌های بویایی زنبورها بعد از شرطی‌سازی توسط آزمون Chi-Square با استفاده از نرم افزار SAS (ver. 9.1) انجام شد (SAS Institute, 2003). هنگامی که تفاوت معنی‌داری در آنالیز نتایج مشاهده شد، توانایی یادگیری اثبات‌شده تلقی شد. برآورد فراموشی (مدت زمان دوام حافظه) متکی بر یک سری از مشاهدات ثبت شده در زمان‌های مختلف  $t_1, t_2, \dots, t_n$  پس از شرطی‌سازی می‌باشد. در هر زمان، تعداد  $nt$  به عنوان پاسخ یک آزمون جهت‌گیری در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند به سه نوع پاسخ (واکنش) منتهی شود:  $a, b$  و  $c$  که به ترتیب انتخاب مثبت (انتخاب نشانه شرطی شده)، انتخاب‌های منفی (نشانه شرطی نشده)، و بدون پاسخ (عدم جهت‌گیری) در نظر گرفته می‌شوند. زمان فراموشی بعد از شرطی‌سازی ناشی از تغییر سطوح بالای (تعداد زیاد) پاسخ‌های مثبت به سطوح پایین (تعداد کم)، و یا تغییر به سطوح پایین به سطح بالایی از پاسخ‌های خنثی، تغییر پاسخ‌های منفی از سطوح بسیار پایین به سطح متوسط می‌باشد که این تغییرات بطور همزمان رخ می‌دهند (Kishani Farahani et al., 2016).

این پدیده هر سه پاسخ را این ترتیب به یکدیگر مرتبط می‌سازد:  $na + nb + nc = nt$ . روند این سه نوع پاسخ در طول زمان می‌تواند توسط ۲ معادله لجستیک نوشته شده براساس احتمال نقطه برخورد هر سه پاسخ توضیح داده شود:

مجموع احتمال رخداد  $pa, pb, pc$  توسط  $pa + pb + pc = 1$  نشان داده می‌شود:

$$(1) \quad p_a = k_a - \frac{k_a - a_a}{1 + e^{(-b_a(t-t_0))}} + a_a$$

$$(2) \quad p_c = \frac{k_c - a_c}{1 + e^{(-b_c(t-t_0))}} + a_c$$

$$(3) \quad p_b = 1 - b_a - b_c$$

$K$ : آستانه بالایی پاسخ‌های ثبت شده

$a$ : آستانه پایینی پاسخ‌های ثبت شده

$t$ : زمان کل

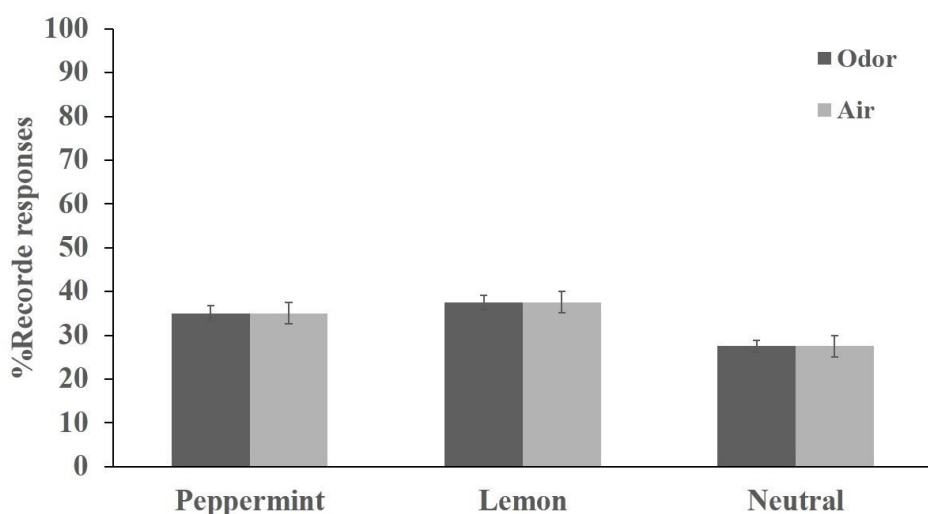
$t_0$ : زمان فراموشی

نقطه  $t_0$  که به عنوان زمان فراموشی در نظر گرفته می‌شود، نقطه عطف توابع لجستیک ذکر شده، در هر سه معادله باید یکسان باشد. داده‌ها در یک خط سیر شامل تعداد ۳ احتمال تشکیل شده‌اند:  $nt = nat, nbt, nct$  تعداد افرادی که پاسخ‌های  $a, b$  و  $c$  را در زمان  $t$  از خود نشان داده‌اند (Kishani Farahani et al., 2016). برای تخمین زمان فراموشی این معادلات در نرم‌افزار R (ver. 3.2.1) نوشته شده است.

## نتایج

## بررسی ترجیح ذاتی زنبور به رایحه بوی نعناع و لیمو

نتایج بدست آمده نشان داد که زنبورها نسبت به هیچ یک از رایحه‌های بکار رفته در آزمایش ترجیح ذاتی نداشتند. بین پاسخ‌های بویایی زنبورها نسبت به تیمارهای هوا و نعناع تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $\chi^2=0.168$ ,  $P=0.683$ ). همچنین بین پاسخ‌های بویایی زنبورها در تیمارهای هوا و رایحه لیمو نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $\chi^2=0.421$ ,  $P=0.51$ ). همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود در هنگام مقایسه پاسخ ذاتی زنبورها نسبت به بوهای لیمو و نعناع نیز تفاوت معنی‌داری بین میزان جلب شدن به هر یک از بوهای مورد آزمایش ثبت نشد ( $\chi^2=0.334$ ,  $P=0.8469$ ).



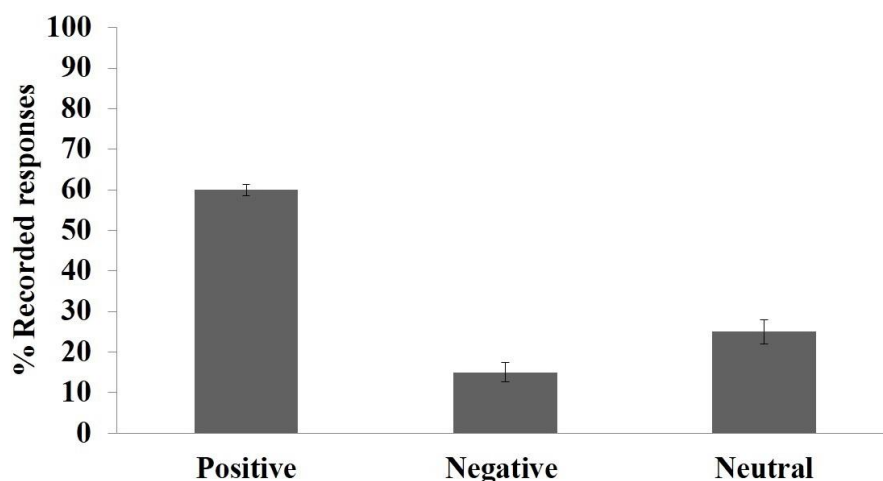
شکل ۱- پاسخ‌های ذاتی زنبور پارازیوتیید *Venturia canescens* نسبت به رایحه‌های بویایی مختلف مورد آزمایش

Fig. 1. Innate responses by *Venturia canescens* to tested odors

بررسی پاسخ‌های بویایی زنبور *V. canescens* به بوهای شرطی و غیرشرطی

نتایج تجزیه آماری نشان داد که پاسخ‌های بویایی زنبور *V. canescens* نسبت به بوهای شرطی (رایحه نعناع) و غیرشرطی شده (رایحه لیمو)، تفاوت معنی‌داری وجود دارد (شکل ۲) که این امر نشان دهنده وجود توانایی یادگیری در بوهای شرطی شده در زنبور *V. canescens* است ( $\chi^2=9.098$ ,  $P=0.0026$ ). همچنین نتایج بدست آمده نشان داد که دوام حافظه زنبورهای شرطی شده با گذشت زمان، نیز ادامه می‌یابد.

حداکثر دوام حافظه در زنبور *V. canescens* در این تحقیق، ۲۷ ساعت ثبت گردید ( $\chi^2=8.696$ ,  $P=0.0129$ ) و بعد از ۲۷ ساعت پس از شرطی‌سازی تفاوت معنی‌داری بین پاسخ‌های بویایی زنبورهای شرطی شده نسبت به رایحه‌های مورد آزمایش، مشاهده نگردید. نمودار روند پاسخ‌های ثبت شده در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۲- پاسخ‌های ثبت شده زنبور پارازیتوئید *Venturia canescens* نسبت به رایحه های بویایی مختلف مورد آزمایش شامل بوی شرطی (رایحه نعناع) و غیرشرطی (رایحه لیمو) بلافاصله بعد از شرطی سازی

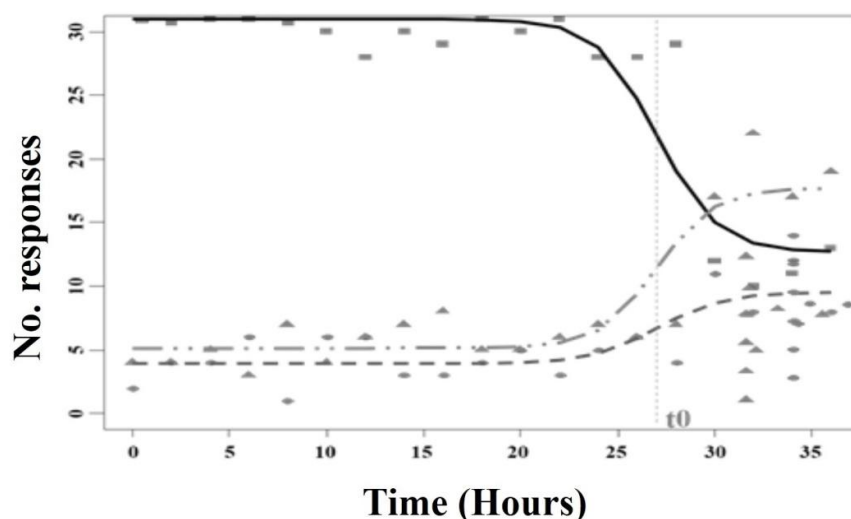
**Fig. 2.** Recorded responses by *Venturia canescens* to tested odors, peppermint (CS) and lemon (US), after conditioning

## بحث

نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد که زنبور *V. canescens* توانایی یادگیری نشانه‌های بویایی جدید را دارد. این گونه قادر به یادگیری نشانه‌های بویایی مرتبط با حضور میزبان است و می‌تواند این نشانه‌های فراگرفته شده را تا مدت زمان ۲۷ ساعت نیز ذخیره نماید. با احتساب طول عمر ۱۵ روز در زنبورهای بالغ گونه *V. canescens* (Kishani Farahani et al., 2012a) و احتمال تنها یک بار تجربه برخورد با این نشانه جدید، این مدت زمان حافظه را می‌توان به عنوان حافظه طولانی مدت برای این گونه منظور کرد.

بسیاری از فاکتورهای فیزیکی، شیمیایی، فیزیولوژیکی و رفتاری در انتخاب میزبان توسط پارازیتوئیدها دخیل هستند (Doutt, 1959; Vinson, 1976). یادگیری ارتباطی (Associative Learning) به وسیله ماده‌های پارازیتوئید یکی از این فاکتورها است. نشان داده شده است که زنبور *Itopectis conquisitor* (Say) از خانواده Ichneumonidae توانایی یادگیری رنگ، اندازه و شکل زیستگاه در حضور میزبان را دارد (Arthur, 1966; 1967). یادگیری ارتباطی نقش مهمی را در انتخاب میزبان توسط زنبور الیگوفاز *Nemeristis canescens* (Gravenhorst) دارد (Taylor, 1974). در زنبورهای دیگر از خانواده Ichneumonidae نیز یادگیری بویایی گزارش شده است. به عنوان مثال نشان داده شده است که زنبور *Pimple luctuosa* (Smith) (پارازیتوئید داخلی شفیره بال پولکداران) تنها پس از چندین تجربه تخم‌گذاری در حضور بوهای جدید از جمله وانیل و توت فرنگی به این بوها واکنش نشان می‌دهد (lizuka & Takasu, 1998). در حشرات جستجوی میزبان با بکارگیری علائم بینایی و شیمیایی مترشحه از منابع مختلف انجام می‌شود که در بیشتر موارد موفقیت جستجوی می‌تواند تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند سن فیزیولوژیکی، تجربه و فاکتورهای

محیطی قرار گیرد (Geervleit et al., 1998). تجربه می‌تواند باعث تغییر در حساسیت گیرنده‌های بویایی در شاخک‌های حشرات شود (Papaj & Lewis, 1993; Wajnberg & Colazza, 2013). مواجه شدن با یک نشانه دارای پاداش (حضور میزبان) و یک نشانه بدون پاداش (بدون میزبان) به پارازیتوئید اجازه می‌دهد که بین اهمیت نشانه‌ها، تفاوت قائل شود (Meinere et al., 2003; Kruidhof et al., 2012). بکارگیری Associative Learning توسط پارازیتوئیدها باعث به حداکثر رسیدن کارایی جستجوگری آن‌ها می‌شود (Smid et al., 2007). براساس نتایج بدست آمده مشخص گردید که زنبور *V. canescens* قادر به برقراری ارتباط با حضور میزبان و نشانه جدید بوده و نسبت به نشانه جدید مرتبط با حضور میزبان پاسخ مثبت دهد. این توانایی زنبور ماده را قادر می‌سازد تا در طبیعت بعد از برخورد با میزبان، نشانه‌های مرتبط با حضور میزبان مانند بوی گیاه میزبان، فرمون‌های جنسی میزبان را در محیط فراگرفته و با توجه به این نشانه‌ها میزبان خود را در مدت زمان کمتر، با سرعت و دقت بیشتر و با صرف انرژی کمتر پیدا کند.



شکل ۳- زمان فراموشی ( $t_0$ ) برآورد شده پس از شرطی‌سازی زنبور *V. canescens*، خط سیاه رنگ نشان دهنده پاسخ‌های مثبت، خط نقطه چین-منقطع نشان دهنده پاسخ‌های منفی و خط منقطع نشان دهنده پاسخ‌های خنثی می‌باشد.

**Fig. 3.** Calculated time forgot after conditioning parasitoid wasp *V. canescens*. The dotted line indicates positive responses, the gray line negative responses, and the dot-dashed line the neutral responses over time.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد دوام حافظه زنبورهای تک جنسی‌زای *V. canescens* بعد از یک مرتبه شرطی‌سازی ۲۷ ساعت طول کشید. اما براساس مطالعات قبلی، دوام حافظه زنبورهای دوجنسی‌زای این گونه ۲۴ ساعت بعد از شرطی‌سازی ادامه می‌یابد و این حافظه می‌تواند در پاسخ به کیفیت پاداش‌های مواجه شده در خلال تجربه یا پیچیده‌گی‌های محیطی افزایش یابد (Theil et al., 2013). در حشرات مختلف نیز دوام حافظه بعد از یک بار تجربه نشانه‌ها می‌تواند طولانی باشد. حافظه بویایی در زنبور *Pholetesor bicolor* (Hym.: Braconidae) پارازیتوئید لارو *Phyllonorycter* spp. تا ۱۴ روز در غیاب تجربه ادامه خواهد یافت (Dutton et al., 2000). در زنبور *P. luctuosa*



۶۰ درصد افراد ماده که تجربه مواجهه با بوی وانیل به همراه میزبان را دارند تا ۷ روز پس از شرطی‌سازی و نیمی از افراد ماده پس از ۱۵ روز به بوی وانیل واکنش نشان دادند (Dutton et al., 2000). دوام حافظه طولانی باعث باقی ماندن بیشتر موجود در محیط و افزایش احتمال برخورد با نشانه‌های محیطی مرتبط با حضور میزبان می‌شود که در نهایت باعث بالاتر رفتن کارایی و کاهش جستجوهای تصادفی و جلوگیری از صرف زمان و انرژی می‌شود. مدت زمان حافظه پارازیتوئید می‌تواند به عنوان یکی از پارامترهای مهم در ارزیابی پتانسیل و کارایی این عوامل کنترل بیولوژیک مد نظر قرار گیرد.

یادگیری می‌تواند کارایی پارازیتوئید را با چند تجربه قبل از رهاسازی افزایش دهد که این امر در زمینه تنظیم جمعیت میزبان‌های پارازیتوئیدها مهم است (Hatings & godfray, 1999; Meiners et al., 2003; Stireman, 2002). از طرفی یادگیری باعث تطبیق بهتر زنبورهای پارازیتوئید نسبت به شرایط محیطی می‌شود (van Baaren & Boivin, 1998). مکانیسم یادگیری جایگاه مهمی را در تئوری حداکثر کاوشگری پارازیتوئیدها به خود اختصاص داده است چرا که تغییرات رفتاری، روی روش‌های میزبان‌یابی موجود تأثیر می‌گذارد. وجود نظریه‌های یادگیری باعث درک بهتر چگونگی تغییرات رفتارهای میزبان‌یابی و اثرات ناشی از این رفتارها در پراکنش فردی و همچنین جستجوگری منابع مختلف مانند منابع غذایی می‌شود (van Baaren & Boivin, 1998). یادگیری می‌تواند جستجوی تصادفی را تبدیل به جستجوی هدفمند کند که این به نوبه خود باعث افزایش نرخ برخورد با میزبان می‌شود (Muller et al., 2006; Dutton et al., 2000). وقوع پدیده یادگیری می‌تواند مانند یک مسیر میان بر عمل کند که منجر به یافتن منابع مناسب بیشتر با صرف زمان کمتر شود. نشانه‌های فراگرفته شده باعث هدایت زنبورهای ماده به سمت میزبان می‌شوند که این امر منجر به افزایش نرخ تخم‌گذاری و بالا رفتن موفقیت تولیدمثلی مادر خواهد گردید (Turlings et al., 1993). جستجوی هدفمند به پارازیتوئید کمک می‌کند تا میزبان‌هایی را با کیفیت بالاتر و با صرف انرژی و زمان کمتر پیدا کرده و مورد بهره‌برداری قرار دهد. باقی ماندن جنس ماده در پیچ میزبان بستگی به عوامل مختلفی دارد. زنبورهای ماده با استفاده از نشانه‌های مختلف محیطی زمان ماندن خود را در پیچ تنظیم می‌کنند (Theil & Hoffmeister, 2009). تجربه برخورد زنبورهای پارازیتوئید با پیچ‌های مطلوب، باعث تغییر زمان بهره‌برداری از پیچ می‌شود و زنبورهای ماده تمایل به صرف زمان بیشتری در این پیچ‌ها دارند (Wajnberg et al., 1999). شناخت بهتر از مکانیسم‌های یادگیری برای به حداکثر رساندن قدرت کاوشگری شکارگرها و پارازیتوئیدها می‌تواند ما را در هدایت رفتار میزبان‌یابی عامل کنترل بیولوژیک در هدف قرار دادن آفت مورد نظر کمک کند. با توجه به موارد ذکر شده می‌توان توانایی یادگیری و هیمنطور دوام حافظه یک پارازیتوئید را در کنار دیگر پارامترهای تعیین کیفیت آن‌ها در نظر گرفت چرا که این دو ویژگی نقش مهم و غیر قابل انکاری را در افزایش موفقیت جستجوگری، پارازیتسیم موفق و وفق‌پذیری با شرایط غیر قابل پیش‌بینی محیط دارند.

## سپاسگزاری

این پژوهش با استفاده از امکانات پژوهشی گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی کرج - دانشگاه تهران و با استفاده از حمایت‌های مالی قطب علمی کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌ها و همچنین موسسه پژوهشی کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های دانشگاه تهران انجام شده است. همچنین از آقای دکتر رستم عبدالهی بخاطر مساعدت‌هایشان در آنالیز داده‌ها و نظرات ارزشمندشان سپاسگزاری می‌گردد.

## References

- Arthur, A. P. (1966) Associative learning in *Itoplectis conquisitor* (Say) (Hymenoptera : Ichneumonidae). *Canadian Entomologist* 98, 213-220.
- Arthur, A. P. (1967) Influence of position and size of host shelter on host-searching by *Itoplectis conquisitor* (Hymenoptera : Ichneumonidae). *Canadian Entomologist* 99, 877-886.
- Begum, M., Gurr, G. M., Wraten, D. S. & Nicol, H. I. (2004) Flower color affects tri-trophic-level biocontrol interaction. *Biological Control* 30, 584-590.
- Corley, C., Villacide, J. M. & Van Nouhuys, S. (2010) Patch time allocation by a parasitoid: the influence of con-specifics, host abundance and distance to the patch. *Journal of Insect Behavior* 23(6), 431-440.
- Doutt, R. I. (1959) The biology of parasitic hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 4, 161-182.
- Drickamer, L. C., Vessey, S. H. & Jakob, E. M. (2002) *Animal behavior: Mechanisms, ecology, evolution*. 432 pp. McGraw Hill. New York.
- Dutton, A., Mattiacci, L. & Dorn, S. (2000) Learning used as a strategy for host age location in an endophytic host-parasitoid system. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 94, 123-132.
- Eisenhardt, D. (2006) Learning and memory formation in the honeybee (*Apis mellifera*) and its dependency on the cAMP-protein kinase A pathway. *Animal Biology* 56, 259-278.
- Gandolfi, M., Mattiacci, L. & Dorn, S. (2003) Pre-imaginal learning determines adult response to chemical stimuli in a parasitic wasp. *Proceedings of the Royal Society of London* 270, 2623-2629.
- Geeryleit, J. B. F., Vreugdenhil, I., Dicke, M. & Vet, E. L. M. (1998) Learning to discriminate between infochemicals from different plant-host complexes by the parasitoids *Cotesia glomerata* and *C. rubecula*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 86, 241-252.
- Goubault, M., Krespi, L., Boivin, G., Poinot, D., Nenon, J. P. & Cortesero, A. M. (2004) Intraspecific variations in host discrimination behavior in the pupal parasitoid *Pachycrepoides vindemmiae* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae). *Environmental Entomology* 33(2), 362-369.
- Hastings, A. & Godfray, H. C. J. (1999) Learning, host fidelity, and the stability of host-parasitoid communities. *The American Naturalist* 153(3), 295-301.
- Huigens, M. E., Woelke, J. B., Pashalidou, F. G., Bukovinszky, T. & Smid, H. M. (2010) Chemical espionage on species-specific butterfly anti-aphrodisiacs by hitchhiking *Trichogramma* wasps. *Behavioral Ecology* 21, 470-478.
- Keasar, T., Ney-Nifle, M., Mangel, M. & Swezey, S. (2000) Early oviposition experience affects patch residence time in a foraging parasitoid. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98, 123-132.
- Kishani Farahani, H., Ashouri, A., Goldansaz, S. H. & Allahyari, H. (2012a) Biology of *Venturia canescens*, a Larval Parasitoid of Carob Moth, *Ectomyelois ceratoniae* under Laboratory Conditions. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 43(1), 111-119. [In Persian with English summery]
- Kishani Farahani, H., Ashouri, A., Goldansaz, S. H., Shapiro, M. S., Piere, J.S. & Van Baaren, J. (2016) Decrease of memory retention in a parasitic wasp: an effect of host manipulation by *Wolbachia*?. *Insect science* DOI, 10.1111/1744-7917.12348.
- Kishani Farahani, H., Ashouri, A., Goldansaz, S. H., Shapiro, M. S., Golshani, A. & Abrun, P. (2013) Learning and memory duration of *Wolbachia* infected *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae). *Biological Control of Pests & plant Diseases* 2(1), 53-63. [In Persian with English summery]

- Kishani Farahani, H., Goldansaz, S. H. & Sabahi, Q.** (2012b) A survey on the overwintering larval parasitoids of *Ectomyelois ceratoniae* in three regions in Iran. *Crop Protection* 36, 52-57.
- Kruidhof, H. M., Pashalidou, F. G., Fatouros, N. E., Figueroa, I. A., Vet, L. E. M., Smid, H. M. & Huigens, M. E.** (2012) Reward value determines memory consolidation in parasitic wasps. *PLoS ONE* 7(8), e39615.
- Langley, S. A. & Tilmon, K. J.** (2006) Learning by the parasitoid wasp, *Aphidius ervi* (Hym.: Braconidae), alters individual fixed preference for pea aphid color morphs. *Oecologia* 150, 172-179.
- Lizuka, T. & Takasu, K.** (1998) Olfactory associative learning of the pupal parasitoid *Pimpla luctuosa* Smith (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Journal of Insect Behavior* 11(5), 743-760.
- Louapre, P., Van Baaren, J., Pierre, J. S. & Van Alphen, J. J. M.** (2011) Information gleaned and former patch quality determines foraging behavior of parasitic wasps. *Behavioral Ecology* 22(5), 1064-1069.
- Margulies, C., Tully, T. & Dubnau, J.** (2005) Deconstructing memory in *Drosophila*. *Current Biology* 15, 700-713.
- Meiners, T., Wackers, F. L. & Lewis, W. J.** (2003) Associative learning of complex odors in parasitoid host location. *Chemical Senses* 28, 231-263.
- Muller, C., Collatz, J., Weiland, R. & Sateidle, J. L. M.** (2006) Associative learning and memory duration in the parasitic wasp *Lariophagus distinguendus*. *Animal Biology* 56(2), 221-232.
- Outreman, Y., Le Ralac, A., Wajnberg, E. & Pierre, J. S.** (2005) Effect of within and among patch experiences on the patch leaving decision rules in insect parasitoids. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 58(2), 208-217.
- Papaj, D. R. & Lewis, A. C.** (1993) *Insect learning: Ecological and evolutionary perspectives*. 398 pp. Chapman & Hall, New York.
- Reineke, A., Asgari, S. & Schmidt, O.** (2006) Evolutionary origin of *Venturia canescens* Virus-Like Particles. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 61(3), 123-133.
- Salt, G.** (1975) The fate of an internal parasitoid, *Nemeritis canescens*, in a variety of insects. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 127, 141-161.
- Segura, D. F., Viscarret, M. & Paladino, L. Z. C.** (2007) Role of visual information and learning in habitat selection by a generalist parasitoid foraging for concealed hosts. *Animal Behavior* 74, 131-142.
- Smid, H. M. & Vet, L. E. M.** (2006) Learning in insects: From behavior to brain. *Animal Behavior* 56(2), 121-124.
- Smid, H. M., Wang, G. H., Bukovinszky, T., Steidle, J. L. M., Bleeker, M. A. K., Van Loon, J. J. A. & Vet, L. E. M.** (2007) Species-specific acquisition and consolidation of long-term memory in parasitic wasps. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274(1617), 1539-1546.
- Stireman, J. O.** (2002) Learning in the generalist Tachinid parasitoid *Exorista mella* Walker (Dip.: Tachinidae). *Journal of Insect Behavior* 15(5), 689-706.
- Taylor, R. J.** (1974) Role of learning in insect parasitism. *Ecological Monographs* 44, 89-104.
- Theil, A., Schalke, S. & Kosior, D.** (2013) Omnia tempus habent: habitat-specific differences in olfactory learning and decision making in parasitic wasps. *Animal Cognition* 16, 223-232.
- Thiel, A. & Hoffmeister, T. S.** (2009) Decision-making dynamics in parasitoids of *Drosophila*. *Advances in Parasitology* 70, 45-66.

**Turlings, T. C. J., Wackers, F. L., Vet, L. E. M., Lewis, W. J. & Tumlinson, J. H.** (1993) Learning of host-finding cues by hymenopterous parasitoids. pp. 51-78. in Papaj DR, Lewis AC (Eds), *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives*. Chapman & Hall. New York.

**Van Alphen, J. J. M., Bemstein, C. & Driessen, G.** (2003) Information acquisition and time allocation in insect parasitoids. *Trends in Ecology & Evolution* 18, 81-87.

**Van Baaren, J. & Boivin, G.** (1998) Learning affects host discrimination behavior in a parasitoid wasp. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 42, 9-16.

**Vet, L. E. M., Lewis, W. J. & Carde, R. T.** (1995) Parasitoid foraging and learning. pp. 65-101. In Carde RT, Bell WJ (Eds), *Chemical ecology of insects*. Chapman & Hall. New York.

**Vinson, S. B.** (1976) Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology* 21, 109-133.

**Wajnberg, E. & Colazza, S.** (2013) *Chemical ecology of insect parasitoids*. Wiley-Blackwell. UK.

**Wajnberg, E., Rosi, M. C. & Colazza, S.** (1999) Genetic variation in patch time allocation in a parasitic wasp. *Journal of Animal Ecology* 68, 121-133.