

اثر گرسنگی بر رفتار کاوشگری زنبور پارازیتوئید *Aphis fabae Scopoli* روی شته سیاه باقلا، *Lysiphlebus fabarum* (Marshall)

آرش راسخ^{۱*}، عزیز خرازی پاکدل^۲، حسین اللهیاری^۳، جی. پی. میچاد^۴ و رویا فرهادی^۵
۱، استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، ۲، ۳، ۴، ۵، استاد، استادیار و دانش‌آموخته کارشناسی
ارشد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۴، دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی هاین، دانشگاه ایالتی
کانزاس، آمریکا
(تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۲۰ - تاریخ تصویب: ۸۸/۱۲/۵)

چکیده

زنبور پارازیتوئید *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) مهمترین پارازیتوئید شته سیاه باقلا، *Aphis fabae Scopoli* می‌باشد. این زنبور چند نسلی بوده و جمعیت ماده‌زای آن در مرکز اروپا گسترش بیشتری دارد. از آنجایی که زنبورهای ماده *L. fabarum* با تقلید از رفتار مورچه‌ها مستقیماً از شته‌ها عسلک دریافت می‌کنند، تحقیق حاضر جهت تعیین تأثیر گرسنگی زنبور روی تخصیص نسبت‌های زمانی در رفتارهای مختلف مرتبط با کاوشگری انجام پذیرفت. در این مطالعه با مشاهده پیوسته زنبورهای ماده طی حضور در لکه (دیسک برگی با ۱۵ پوره سن دوم)، تعداد و مدت زمان بروز رفتارهای مختلف زنبور و تعداد واکنش‌های مختلف دفاعی شته‌های میزبان ثبت گردید. مدت زمان حضور در لکه در زنبورهای گرسنه، ۳/۶ مرتبه بیشتر از تیماری بود که زنبورهای آن دسترسی مداوم به آب و محلول عسل مرکبات داشتند، اما تفاوتی در تعداد شته‌های پارازیت شده بین دو تیمار مشاهده نشد. همچنین در زنبورهای گرسنه، دفعات بروز و مدت زمان طی شده روی تمامی رفتارها به طور معنی‌داری بیشتر بود. نظر به اینکه تفاوت فاحش در مدت زمان حضور در لکه بین زنبورهای دو تیمار می‌تواند تأثیر زیادی روی داده‌ها داشته باشد، نسبتی از داده‌های هر تیمار به مدت زمان حضور در لکه محاسبه و سپس مقایسه به عمل آمد. زنبورهای گرسنه در هر واحد زمانی حضور در لکه، مدت زمان بیشتری را صرف استراحت و شاخک زدن نموده و متقابلاً زمان کمتری را برای جستجو، خم نمودن شکم و حمله به شته‌های میزبان، صرف کردند. شته‌های مواجه شده با ماده‌های گرسنه نسبت به زنبورهای گروه دوم، به طور معنی‌داری میزان کمتری رفتارهای دفاعی لگد زدن و فرار از حمله زنبور را به نمایش گذاشتند.

واژه‌های کلیدی: مدت زمان حضور در لکه، عسلک، تقلید از مورچه، ماده‌زایی.

مقدمه

کشاورزی و علف‌های هرز می‌باشد (Stary, 1986; Völkl & Stechmann, 1998). در این پارازیتوئید انفرادی، زنبورهای بالغ طی بهار ظاهر شده و چندین نسل قبل از زمستان‌گذرانی تولید می‌کنند (Stary, 1999; Meyhofer

زنبور *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Aphidiidae)، مهمترین پارازیتوئید شته سیاه باقلا، *Aphis fabae Scopoli*، روی محصولات

Rosenheim & Rosen, 1991; Michaud, 1994; Mackauer *et al.*, 1996; Meyhofer & Klug, 2002) وضعیت انرژی از جمله عواملی است که کاوشگر را برای کسب غذا مجبور به ترک لکه می‌کند و بر این اساس ایجاد تعادل بین کسب انرژی و فعالیت پارازیتویدی در بسیاری از موارد کانون توجه پژوهشگران بوده است. اما از آنجایی که زنبور *L. fabarum* بر خلاف تمامی موارد تاکنون بررسی شده، می‌تواند با تقلید از رفتار مورچه‌ها مستقیماً از شته‌های میزبان عسلک دریافت کند (Rasekh *et al.*, 2009) و برای تأمین انرژی نیازی به ترک لکه ندارد، انجام این تحقیق برای تعیین تأثیر گرسنگی روی تخصیص نسبت‌های زمانی در رفتارهای مختلف مرتبط با کاوشگری انجام پذیرفت، چرا که قابل پیش‌بینی بود که این زنبور با توجه به دریافت عسلک از شته میزبان، رفتار کاوشگری متفاوتی را در مقایسه با سایر گونه‌های بررسی شده به نمایش گذارد.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

در بهار ۱۳۸۶ طی نمونه‌برداری از مزارع باقلای استان زنجان، کلنی شته سیاه باقلا، *Aphis fabae*، به دست آمد. همچنین زنبور پارازیتوید *Lysiphlebus fabarum* از مومیایی‌های این شته جمع‌آوری گردید. کلنی شته سیاه باقلا، روی رقم سرخسی گیاه باقلا در اتاق رشد (دمای $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ، رطوبت نسبی ۶۵-۷۵٪ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) تشکیل و همچنین کلنی زنبور پارازیتوید *L. fabarum* روی شته‌های سیاه باقلا پرورش یافته در همان شرایط محیطی، تکثیر و نگهداری شد. در آزمایش‌ها از پوره‌های چهار روزه ($\pm 6\text{ h}$) شته سیاه باقلا که در اواخر سن دوم بودند استفاده گردید. از زنبورهای ماده همگون سه روزه ($72 \pm 4\text{ h}$) که تجربه قبلی مواجهه با شته‌های میزبان را نداشتند برای انجام آزمایش‌ها استفاده شد. همگون‌سازی به این صورت انجام گرفت که زنبورهای ماده به مدت شش ساعت به پوره‌های سن دوم شته (نسبت زنبور به شته، یک به پنج) در ظروف استوانه‌ای پلاستیکی تهویه‌دار (۸ سانتی‌متر قطر و ۲۰ سانتی‌متر

(Klug, 2002) این زنبور از روی بیش از ۴۵ گونه شته به ویژه در مرکز اروپا گزارش شده و جمعیت‌های دو جنسی و ماده‌زای آن در بعضی نقاط در کنار هم زندگی می‌کنند (Stary, 1999)، اما جمعیت ماده‌زای آن در مرکز اروپا گسترش بیشتری دارد (Nemec & Stary, 1985; Stary, 1986). جمعیت دوجنسی زنبور *L. fabarum* از مناطق مختلف ایران گزارش شده است (Baghery-Matin *et al.*, 2005; Baroon *et al.*, 2007). در اغلب موارد میزبان‌ها پراکنش لکه‌ای دارند، در نتیجه جانوران کاوشگر باید در خصوص ماندن یا ترک لکه میزبان تصمیم‌سازی نمایند. اگر آنها بیش از حد در لکه بمانند، شانس جاهای بهتر را از دست می‌دهند و اگر لکه را خیلی زود ترک نمایند، زمان سفر بین لکه‌ها را تلف می‌نمایند. تئوری ارزش حاشیه‌ای^۱ (Charnov, 1976) نشان می‌دهد که حداقل دو شاخصه، کیفیت محل زندگی را تعیین نموده و بر تصمیم ترک لکه تأثیر می‌گذارد، میانگین فاصله بین لکه‌ها و میانگین کیفیت لکه‌ها. با این حال این مدل به طور ضمنی فرض می‌کند که حشره کاوشگر از اطلاعات کاملی از محیط برخوردار است (Godfray, 1994; Stephens & Krebs, 1986). این فرضیه با چالش‌های بزرگی مواجه است، چرا که اغلب لکه‌ها در حال تغییرند و کاوشگر بر اساس اثرات این تغییرات تصمیم‌گیری می‌کند (Stephens, 1993). زنبورهای پارازیتوید به این دلیل که دوران زندگی کوتاهی داشته و سرمایه‌گذاری تولید مثلی والدین به سادگی با تشریح میزبان قابل تشخیص می‌باشد، نمونه‌های مناسبی برای بررسی رفتار کاوشگری می‌باشند. مطالعات انجام شده روی مدل‌های جدول زندگی (Houston *et al.*, 1988) نشان داده که کاوشگری جانوران از منابع، متأثر از عوامل داخلی (وضعیت انرژی، شرایط تولیدمثلی، امید به زندگی، سن و بار تخم) و عوامل خارجی (دسترسی به منابع، کیفیت میزبان و رقابت، رفتارهای دفاعی شته، و پیچیدگی ساختار گیاه) می‌باشد (Collins & Dixon, 1986; Luck, 1990; Roitberg, 1990; visser *et al.*, 1990;

1. Marginal value theorem

تعیین طول عمر حشرات ماده زنبور پارازیتوید

برای تعیین طول عمر حشرات کامل *L. fabarum* در شرایط مختلف غذایی، شش تیمار غذایی شامل تغذیه با آب و محلول عسل مرکبات، آب و محلول عسل آویشن، فقط محلول عسل مرکبات، فقط آب، بدون تغذیه با محلول عسل در حضور شته و گیاه میزبان، و تیمار شاهد (بدون تغذیه با محلول عسل، در غیاب شته و گیاه میزبان) منظور شد. برای هر یک از گروه‌های آزمایشی ۲۸ زنبور ماده باکره استفاده شد. مشاهده زنده ماندن هر ۱۲ ساعت انجام و تا پایان زندگی آخرین زنبور ادامه یافت. برای تعیین اختلاف آماری بین تیمارها از آزمون آماری ANOVA-one way و برای تعیین اختلاف بین گروه‌ها از آزمون آماری POST-HOC (TUKEY) استفاده گردید.

تعیین تأثیر گرسنگی بر رفتار میزبان‌یابی و تخمگذاری زنبور

برای بررسی تأثیر گرسنگی بر تصمیمات میزبان‌یابی پارازیتوید، ۴۰ زنبور ماده سه روزه *L. fabarum* که به روش ذکر شده همگون شده بودند به طور تصادفی به دو گروه آزمایشی تقسیم شدند. در تیمار اول، زنبورها ۶-۴ ساعت قبل از معرفی به لکه میزبان (شامل ۱۵ پوره سن دوم شته سیاه باقلا)، از آب و محلول عسل محروم شده بودند تا در زمان آزمایش گرسنه باشند، در حالی که ماده‌های گروه دوم آزمایشی تا قبل از معرفی به لکه میزبان به آب و محلول عسل دسترسی داشتند. پوره‌های شته ۴-۳ ساعت قبل از آغاز آزمایش روی دیسک برگ باقلا که درون یک پتری دیش شیشه‌ای (۳/۵ سانتی‌متر قطر و یک سانتی‌متر ارتفاع) بود، رها شده بودند تا کاملاً مستقر گردند. با آغاز آزمایش و بمحض مواجه شدن زنبور با اولین شته حاضر در لکه، درپوش پتری به آهستگی برداشته شد و یک لکه باز^۱ ایجاد شد. از این زمان تا هنگام ترک لبه پتری، به عنوان مدت زمان حضور در لکه لحاظ شد. از تفریق مدت زمان حضور در لکه از مجموع مدت زمان صرف شده برای

ارتفاع معرفی و سپس شته‌ها روی یک گیاه باقلا منتقل و در اتاق رشد نگهداری شدند. با ظهور شته‌های مومیایی، یک‌یک آنها از گیاه باقلا به کیسول‌های ژلاتین (به حجم ۰/۹۵ سانتی‌متر مکعب) منتقل شدند. با ظهور زنبورها، هر یک جداگانه به ظروف استوانه‌ای پلاستیکی تهویه‌دار (۳/۵ سانتی‌متر قطر و ۷ سانتی‌متر ارتفاع) معرفی و محلول عسل مرکبات ۳۰٪ (به صورت قطرات روی نوار کاغذ مومی) و آب (رول پنبه‌ای مرطوب) در اختیار آنها قرار گرفت. رول‌های پنبه‌ای به طور روزانه و نوارهای عسل یک روز در میان تعویض شدند. تمامی آزمایش‌ها در اتاق رشد با شرایط محیطی ذکر شده انجام پذیرفت.

تعیین روش تولید مثل زنبور

برای تعیین روش تولیدمثل زنبور پارازیتوید *L. fabarum* ۱۵ حشره ماده جفت‌گیری نکرده هر یک جداگانه به یک کلنی حاوی ۵۰ شته سیاه باقلا با سنین مختلف رشدی معرفی شدند. شته‌های مومیایی شده توسط هر زنبور، جداگانه به یک ظرف پتری تهویه‌دار (۱۱ سانتی‌متر قطر و یک سانتی‌متر ارتفاع) منتقل و جنسیت حشرات کامل ظاهر شده، تعیین شد.

تعیین امکان آلودگی زنبورها به باکتری *Wolbachia* sp.

این آزمایش برای تعیین آلودگی زنبورها به باکتری‌های *Wolbachia* و نقش احتمالی آنها در القای ماده‌زایی انجام پذیرفت. به این منظور ۲۰ زنبور ماده باکره بلافاصله بعد از ظهور، جداگانه به ظروف استوانه‌ای پلاستیکی تهویه‌دار (۳/۵ سانتی‌متر قطر و ۷ سانتی‌متر ارتفاع) معرفی و محلول تتراسایکلین و عسل به نسبت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (به صورت قطرات روی نوار کاغذ مومی) و آب (به صورت رول پنبه‌ای مرطوب) در اختیار آنها گذاشته شد. تعویض رول‌های پنبه به طور روزانه و نوارهای آغشته به تتراسایکلین-عسل یک روز در میان انجام پذیرفت. پس از سه روز این زنبورها به طور جداگانه به کلنی شته‌ها حاوی ۵۰ شته با سنین مختلف رشدی منتقل شدند. شته‌های مومیایی شده توسط هر زنبور جداگانه به یک ظرف پتری تهویه‌دار منتقل و حشرات کامل ظاهر شده تعیین جنسیت شدند.

1. Open patch

شته‌هایی جابه‌جا شدند که زنبور تخم‌ریز خود را بیش از ۲۵ ثانیه در بدن آنها نگه می‌داشت. مطابق با نتایج آزمایش‌های قبلی، فقط ۷/۵ درصد شته‌های پارازیت‌ه شده شامل شته‌هایی بودند که کمتر از ۲۵ ثانیه تخم‌ریز در بدن آنها نگهداشته شده بود و بقیه موارد (۳۷ شته از ۴۰ مورد) بیشتر از این آستانه زمانی تخم‌ریز را دریافت کرده بودند. شاخه‌های باقلا حاوی شته‌های مورد حمله قرار گرفته، جداگانه در ظروف توری‌دار نگهداری شدند. بعد از چهار روز یک‌یک شته‌ها توسط یک پنس ظریف تشریح و تعداد لاروهای زنبور درون آنها شمارش گردید. چون داده‌های این آزمایش پراکنش نرمال نداشتند، از آزمون غیرپارامتریک Mann Whitney U-test برای مقایسه اثرات تیمار استفاده گردید (SPSS, 1998).

نتایج

تعیین روش تولیدمثل زنبور

از فعالیت پارازیتویدی ۱۵ زنبور ماده مورد آزمایش، در مجموع ۲۸۹ حشره کامل ظاهر شد و با تعیین جنسیت یک‌یک آنها مشخص شد که همگی نتاج ظاهر شده، ماده بودند. بنابراین نتیجه‌گیری شد که جمعیت زنبور پارازیتوید مورد آزمایش، دارای تولیدمثل ماده زایی (Thelytokous) می‌باشند.

تعیین امکان آلودگی زنبورها به باکتری *Wolbachia* sp.

از فعالیت پارازیتویدی ۲۰ زنبور ماده تغذیه شده با محلول تتراسایکلین و عسل، در مجموع ۳۴۷ حشره کامل به دست آمد و با تعیین جنسیت یک‌یک آنها مشخص شد که همگی نتاج ظاهر شده ماده بودند. بنابراین نتیجه‌گیری شد که در این زنبور پارازیتوید، باکتری‌های *Wolbachia* نقشی در القای ماده‌زایی ندارند.

تعیین طول عمر حشرات ماده زنبور پارازیتوید

تجزیه داده‌ها نشان داد که نوع تغذیه منجر به اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌شود ($P < 0.01$). ($F=247/9$, $df=5$). در بین تیمارهای غذایی، زنبورهای تغذیه شده با محلول عسل مرکبات و آب به طور معنی‌داری از سایر گروه‌ها طول عمر بیشتری داشتند.

رفتارهای استراحت و تمیز کردن، مدت زمان فعال میزبان‌یابی به دست آمد. با مشاهده مستمر هر زنبور در لکه‌های آزمایشی توسط بینوکولار، دفعات و مدت زمان هر یک از رفتارها (استراحت و تمیز کردن، جستجو کردن، شاخک زدن، خم کردن شکم و حمله با تخم‌ریز)، دفعات رفتارهای دفاعی شته‌های میزبان (لگد زدن، بلند کردن و چرخاندن بدن، جدا کردن استایلت از گیاه میزبان و فرار از حمله زنبور، و در نهایت ترشح قطرات از کورنیکول)، و همچنین دفعات ترشح عسلک توسط شته‌ها، از طریق ضبط صدا مشخص شد. به یک‌یک رفتارهای ذکر شده زنبور به ترتیب شماره‌های یک تا پنج داده شد و به محض مشاهده هر یک از رفتارها عدد مربوطه قید گردید و تا آغاز رفتار بعدی به عنوان مدت زمان طی شده روی آن رفتار محسوب شد. با پیاده نمودن صداهای ضبط شده در فرم‌های ویژه، دفعات و مدت زمان اختصاص یافته روی هر یک از رفتارها به دست آمد. همچنین با مشاهده هر یک از رفتارهای دفاعی شته‌ها، مورد ثبت گردید. تعداد مواجهات زنبور با شته‌ها طی حضور در لکه نیز به دست آمد. زنبورهای معرفی شده به لکه‌های مورد آزمایش، معمولاً آنها را با یک وقفه زمانی می‌پذیرفتند که این دوره زمانی بین معرفی زنبور و پذیرش اولین شته میزبان نیز محاسبه گردید.

زنبورها طی کاوشگری در لکه‌های میزبان نوعی از شاخک زدن به نام شاخک زدن درخواستی^۱ را برای کسب عسلک از شته‌های میزبان بکار می‌برند. در این نوع رفتار، شاخک‌ها با بسامد کمتر و در حالی که انتهای خمیده‌ای دارند، مشابه شاخک مورچه‌های همیار، روی شته‌ها ضربه می‌زنند.

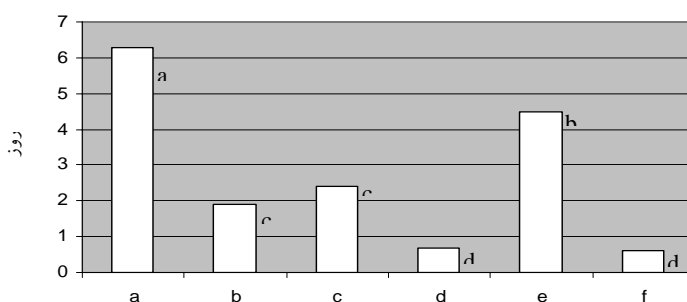
برای برآورد نرخ پارازیتیسیم، شته‌هایی که در حین میزبان‌یابی زنبورها تخم‌ریز وارد بدن آنها شده بود، بلافاصله بعد از حمله توسط یک قلم موی ظریف به یک شاخه باقلا انتقال یافتند. از آنجایی که همه حمله‌های زنبورها به پارازیت‌ه شدن شته ختم نمی‌شود، تنها

میانگین زمان اختصاص داده شده به رفتارهای مختلف در زنبورهای دو تیمار در شکل ۲ ترسیم شده است. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که زنبورهای گرسنه نسبت به تیماری که زنبورها به آب و غذا دسترسی داشتند مدت زمان بیشتری در لکه‌های میزبان باقی ماندند ($U=7/0$, $P<0/001$). همچنین مدت زمان فعال حضور در لکه نیز در زنبورهای گرسنه بیشتر بود ($U=15/0$, $P<0/001$). زنبورهای تیمار گرسنه نسبت به تیمار دوم، زودتر لکه‌های معرفی شده را پذیرفته و تمایل آنها برای آغاز فعالیت روی شته‌ها بیشتر بود ($U=111/0$, $P<0/015$) (جدول ۱). زنبورهای گرسنه مدت زمان بیشتری را صرف تمامی رفتارهای مورد مطالعه نموده و همچنین دفعات بروز این رفتارها در قیاس با زنبورهای تغذیه شده به طور معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۲).

همچنین دسترسی به آب تأثیر معنی‌داری در طول عمر زنبورها داشت (شکل ۱).

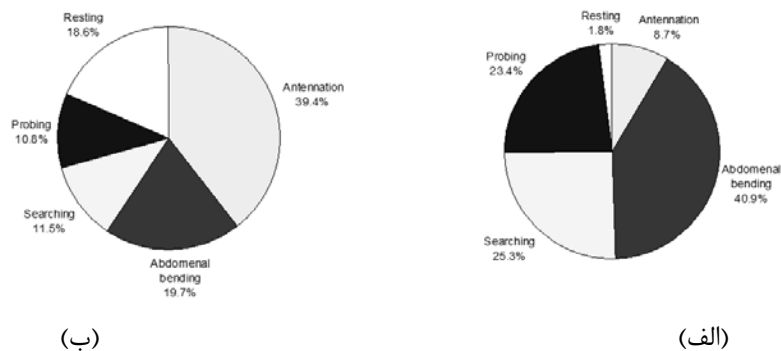
تعیین تأثیر گرسنگی بر رفتار کاوشگری و تخمگذاری زنبور

در زنبورهای گرسنه، میانگین مدت زمان طی شده روی رفتار شاخک زدن $27/8 \pm 4/5$ دقیقه، خم کردن شکم $13/9 \pm 2/0$ دقیقه، جستجو روی سطح برگ $8/1 \pm 0/9$ دقیقه، حمله با تخم‌ریز $7/6 \pm 1/2$ دقیقه، و استراحت $7/3 \pm 1/7$ دقیقه به دست آمد، در حالی که در تیماری که زنبورها به طور مستمر به آب و محلول عسل دسترسی داشتند مدت زمان شاخک زدن $1/54 \pm 0/5$ دقیقه، خم کردن شکم $7/2 \pm 1/2$ دقیقه، جستجو روی سطح برگ $4/5 \pm 0/5$ دقیقه، حمله با تخم‌ریز $4/1 \pm 0/7$ دقیقه، و استراحت $0/32 \pm 0/2$ دقیقه محاسبه گردید.



تیمارهای مختلف غذایی

شکل ۱- مقایسه طول عمر زنبورهای ماده *Lysiphlebus fabarum* در تیمارهای مختلف غذایی؛ (a) آب و محلول عسل مرکبات (b) آب و محلول عسل آویشن (c) فقط محلول عسل مرکبات (d) فقط آب (e) بدون تغذیه با محلول عسل در حضور شته و گیاه میزبان (f) تیمار شاهد (بدون تغذیه و در غیاب شته و گیاه میزبان).
- حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۲- مقایسه زمان اختصاص داده شده به رفتارهای مختلف زنبورهای تغذیه شده (الف) و گرسنه (ب) *Lysiphlebus fabarum* طی کاوشگری در لکه‌های شته سیاه باقلا (دیسک برگی با ۱۵ پوره سن دوم)، *Aphis fabae*

جدول ۱- داده‌های رفتاری (در چارک‌های میانه، ۲۵ و ۷۵) زنبورهای ماده سه روزه *Lysiphlebus fabarum* که ۶-۴ ساعت قبل از معرفی به لکه میزبان شامل ۱۵ پوره سن دوم شته سیاه باقلا، *Aphis fabae*، از آب و محلول عسل محروم شده بودند (زنبورهای گرسنه، $n=20$) و یا تا قبل از معرفی به لکه میزبان، به آب و محلول عسل دسترسی داشتند (زنبورهای تغذیه شده، $n=20$).

متغیر	زنبور گرسنه	زنبور تغذیه شده	U	P
مدت زمان حضور در لکه (دقیقه)	۶۸/۰ (۵۲/۵، ۱۰۰/۲)	۱۸/۰ (۸/۵، ۲۹/۵)	۷/۰	<۰/۰۰۱
مدت زمان فعال حضور در لکه (دقیقه)	۵۵/۳ (۴۰/۴، ۷۸/۴)	۱۷/۰ (۸/۵، ۲۸/۴)	۱۵/۰	<۰/۰۰۱
وقفه زمانی پذیرش لکه (دقیقه)	۲/۰ (۰/۹، ۳/۱)	۴/۱ (۲/۵، ۵/۸)	۱۱۱/۰	۰/۰۱۵
تعداد شته‌های پارازیت شده	۰/۰ (۰/۰، ۱/۰)	۰/۰ (۰/۰، ۰/۰)	۱۵۸/۵	۰/۲۷
تعداد مواجه با شته	۴۲/۵ (۲۸/۳، ۵۷/۵)	۱۳/۵ (۶/۵، ۱۷/۳)	۷۲/۵	<۰/۰۰۱
تعداد وقایع رفتاری	۱۲۵/۰ (۹۳/۰، ۱۸۸/۳)	۳۲/۰ (۹/۵، ۴۹/۸)	۱۹/۰	<۰/۰۰۱
تعداد قطرات عسلک ترشح شده توسط شته	۲/۰ (۱/۰، ۳/۸)	۰/۰ (۰/۰، ۰/۰)	۴۹/۰	<۰/۰۰۱
تعداد قطرات عسلک خورده شده توسط زنبور	۲/۰ (۰/۳، ۳/۰)	۰/۰ (۰/۰، ۰/۰)	۵۴/۵	<۰/۰۰۱

جدول ۲- تعداد و مدت زمان بروز رفتارها (در چارک‌های میانه، ۲۵ و ۷۵) در زنبورهای ماده سه روزه *Lysiphlebus fabarum* که ۶-۴ ساعت قبل از معرفی به لکه میزبان شامل ۱۵ پوره سن دوم شته سیاه باقلا، *Aphis fabae*، از آب و محلول عسل محروم شده بودند (زنبورهای گرسنه، $n=20$)، و یا تا قبل از معرفی به لکه میزبان، به آب و محلول عسل دسترسی داشتند (زنبورهای تغذیه شده، $n=20$).

متغیر	زنبور گرسنه	زنبور تغذیه شده	U	P
مدت زمان استراحت (دقیقه)	۵/۰ (۱/۲، ۱۲/۳)	۰/۰ (۰/۰، ۰/۳)	۳۹/۵	<۰/۰۰۱
تعداد دفعات بروز رفتار استراحت	۱۰/۰ (۱/۵، ۱۷/۰)	۰/۰ (۰/۰، ۱/۰)	۳۹/۵	<۰/۰۰۱
مدت زمان جستجو (دقیقه)	۸/۲ (۶/۱، ۹/۷)	۴/۱ (۲/۸، ۶/۰)	۸۳/۰	۰/۰۰۱
تعداد دفعات بروز رفتار جستجو	۳۵/۰ (۲۳/۸، ۴۴/۸)	۱۱/۰ (۴/۸، ۱۴/۸)	۶۲/۰	<۰/۰۰۱
مدت زمان شاخک زدن (دقیقه)	۲۴/۲ (۹/۴، ۳۷/۰)	۰/۲ (۰/۰، ۳/۰)	۴/۰	<۰/۰۰۱
تعداد دفعات بروز رفتار شاخک زدن	۳۹/۵ (۲۳/۸، ۷۵/۵)	۲/۵ (۰/۰، ۱۰/۵)	۱۶/۵	<۰/۰۰۱
مدت زمان خم کردن شکم (دقیقه)	۱۱/۵ (۷/۱، ۲۰/۲)	۶/۸ (۳/۱، ۹/۹)	۱۰۱/۵	۰/۰۰۷
تعداد دفعات بروز رفتار خم کردن شکم	۲۵/۵ (۱۸/۵، ۳۹/۰)	۱۳/۵ (۵/۵، ۱۵/۸)	۴۴/۵	<۰/۰۰۱
مدت زمان حمله (دقیقه)	۷/۶ (۳/۵، ۱۲/۳)	۳/۱ (۱/۹، ۵/۳)	۱۱۴/۵	۰/۰۲
تعداد دفعات بروز رفتار حمله	۱۲/۵ (۹/۰، ۱۵/۰)	۴/۵ (۱/۵، ۷/۸)	۶۰	<۰/۰۰۱

زنبورهای گرسنه در هر واحد زمانی حضور در لکه، دفعات بیشتری رفتار استراحت ($P < 0/001$, $U=62/5$) و شاخک زدن ($P < 0/005$, $U=98/0$) را به نمایش گذاشتند، درحالی که زنبورهای این تیمار به طور معنی‌داری دفعات کمتری رفتار خم کردن شکم ($P < 0/01$, $U=107/0$) را نشان دادند.

نتایج نشان داد که میزان پارازیت‌سیسم تحت تأثیر گرسنگی نمی‌باشد ($P=0/265$, $U=158/0$) بنابراین افزایش مدت زمان حضور در لکه توسط زنبورهای گرسنه منجر به افزایش میزان پارازیت‌سیسم نشد. همچنین مقایسه نرخ شته‌های پارازیت شده نیز اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P=0/4$, $U=169/5$) (جدول ۱). تعداد قطرات عسلک ترشح شده توسط شته‌ها طی

نظر به اینکه تفاوت قابل توجهی در مدت زمان حضور در لکه بین دو تیمار وجود داشت و این امر می‌تواند در برآورد دفعات و مدت زمان بروز رفتارها تأثیر بگذارد، نسبت داده‌های رفتاری به مدت زمان حضور در لکه محاسبه و داده‌ها دوباره تجزیه شدند. نتایج نشان داد که ماده‌های گرسنه مدت زمان بیشتری را در هر واحد زمانی حضور در لکه، صرف استراحت ($P < 0/001$ ، $U=57/0$) و شاخک زدن ($P < 0/001$ ، $U=20/0$) نموده و در عوض مدت زمان کمتری را برای جستجو کردن سطح لکه ($P < 0/004$ ، $U=94/5$)، خم نمودن شکم ($P < 0/01$ ، $U=106/0$) و حمله به شته‌ها ($P < 0/04$ ، $U=124/0$) صرف کردند. همچنین مقایسه نسبت دفعات بروز رفتارها به مدت زمان حضور در لکه نشان داد که

نتایج تجزیه داده‌ها نشان داد که زنبورهای گرسنه علیرغم حضور بیشتر در لکه، با تعداد کمتری رفتار دفاعی لگد زدن شته مواجه شدند (جدول ۳) ($P=0/049$ ، $U=127/5$). در خصوص رفتار دفاعی جدا کردن استایلیت از گیاه میزبان و فرار از حمله زنبور، شته‌های مواجه شده با زنبورهای گرسنه کمتر این رفتار دفاعی را نشان دادند (جدول ۳) ($P=0/033$ ، $U=121/0$). با محاسبه این رفتار دفاعی در هر واحد زمانی حضور در لکه، سطح معنی‌داری افزایش یافت ($P=0/009$ ، $U=105/0$).

کاوشگری زنبورهای دو تیمار اختلاف معنی‌داری ($P < 0/001$ ، $U=49/0$) را نشان داد. همچنین تعداد قطرات عسلک خورده شده توسط زنبورهای دو تیمار نیز معنی‌دار بود ($P < 0/001$ ، $U=54/5$) (جدول ۱). نتایج تجزیه تعداد عسلک ترشح شده و خورده شده نشان داد که در واحد زمانی حضور در لکه، زنبورهای گرسنه تعداد بیشتری عسلک از شته‌های میزبان دریافت کرده ($P < 0/001$ ، $U=68/0$) و تعداد بیشتری از آنها را خوردند ($P < 0/001$ ، $U=54/5$).

جدول ۳- دفعات بروز رفتارهای دفاعی (در چارک‌های میانه، ۲۵ و ۷۵) شته سیاه باقلا، *Aphis fabae* در مواجهه با زنبورهای ماده سه روزه *Lysiphlebus fabarum* که ۴-۶ ساعت قبل از معرفی به لکه میزبان شامل ۱۵ پوره سن دوم شته، از آب و محلول عسل محروم شده بودند (زنبورهای گرسنه، $n=20$)، و یا تا قبل از معرفی به لکه میزبان، به آب و محلول عسل دسترسی داشتند (زنبورهای تغذیه شده، $n=20$).

متغیر	زنبور گرسنه	زنبور تغذیه شده	U	P
تعداد لگد زدن	۲/۰ (۰/۰، ۴/۰)	۵/۰ (۲/۰، ۹/۰)	۱۲۷/۵	۰/۰۴۹
تعداد بلند کردن و چرخاندن بدن	۰/۰ (۰/۰، ۰/۰۲)	۰/۰ (۰/۰، ۰/۰۷۵)	۱۷۹/۰	۰/۵۸
تعداد جدا کردن استایلیت و فرار	۰/۰ (۰/۰، ۱/۰)	۱/۰ (۰/۰، ۳/۰)	۱۲۱/۰	۰/۰۳۳
تعداد ترشح قطرات از کورنیکول	۰/۰ (۰/۰، ۱/۰)	۰/۰ (۰/۰، ۰/۰۷۵)	۱۸۲/۵	۰/۰۶۴

بحث

کاهش معنی‌دار طول عمر زنبورها در غیاب آب مؤید این موضوع می‌باشد.

این تحقیق اولین گزارش جمعیت ماده‌زای زنبور پارازیتوئید *L. fabarum* از ایران است، پدیده‌ای که قبلاً از جمعیت‌های این زنبور در اروپا گزارش شده بود. هرچند باکتری‌های همزیست داخلی *Wolbachia sp.* به عنوان عامل پارتنوژنز در چندین زنبور پارازیتوئید شناخته شده‌اند، ولی نتایج این آزمایش همسو با سایر نتایج به دست آمده نشان داد که این باکتری در القای ماده‌زایی در این جمعیت زنبور *L. fabarum* نقشی ندارد. بر اساس نتایج به دست آمده روی *L. fabarum* جمعیت ماده‌زا در نتیجه برگشت کروماتیدی در متافاز میوز II و جفت شدن سلول پرونوکلئوز با یک سلول قطبی در آنافاز میوز II ایجاد شده و منجر به پارتنوژنیز دیپلوئید می‌گردد (Belshaw & Quicke, 2003).

جمعیت‌های دو جنسی (sexual) و ماده‌زا (asexual) زنبور پارازیتوئید *L. fabarum* به طور همزیست در یک منطقه جغرافیایی دیده شده‌اند، اما

بر اساس نتایج به دست آمده، نوع تغذیه در طول عمر حشرات کامل زنبور اثر معنی‌داری داشت. در بین تیمارها، زنبورهای تغذیه شده با محلول عسل مرکبات و آب به طور معنی‌دار از سایر گروه‌ها، حتی زنبورهای تیمار در معرض شته و گیاه میزبان، طول عمر بیشتری داشتند که مطابق با نتایج سایر محققین مبنی بر افزایش طول عمر حشرات تغذیه شده با محلول عسل نسبت به عسلک یا شهد گیاه می‌باشد (Costamagna & Landis, 2004; Sivinski et al., 2006; Irvin et al., 2007). البته تحرک بالاتر، فعالیت‌های پارازیتوئیدی و مرگ و میر ناشی از تماس با قطرات ترشح شده از کورنیکول شته‌ها (Rasekh et al., 2009) در زنبورهای در معرض شته و گیاه میزبان، می‌تواند در کاهش طول عمر زنبورها مؤثر باشد. این زنبور متعلق به نواحی استپی بوده و برخلاف بسیاری از براکونیدها نیاز به نوشیدن آب دارد (Bagheri-Matin et al., 2005) و

معنی‌داری را بین دو گروه زنبور نشان نداد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که سرمایه‌گذاری حضور بیشتر زنبورهای گرسنه در لکه‌های میزبان، در راستای فراهم آوردن غذا می‌باشد. زنبورهای گرسنه به طور متوسط برای تهیه هر قطره عسلک ۱۵ دقیقه وقت صرف نمودند. اگرچه این نرخ پایین پاسخ شته‌ها می‌تواند تا حدودی در ارتباط با تقلید ناقص زنبور باشد، ولی انتظار این است که حضور مورچه‌های همیار در لکه‌های شته منجر به افزایش آمادگی شته‌ها برای ترشح عسلک گردد. ذکر این نکته حایز اهمیت است که به دلیل قطع جریان شیره گیاه در دیسک برگ‌گی طی بررسی رفتار کاوشگری، از میزان تغذیه شته‌ها کاسته شده و در نتیجه به کاهش عسلک درخواستی برای زنبورها منجر می‌گردد.

زنبورهای گرسنه طی کاوشگری در لکه‌های مورد آزمایش به طور معنی‌داری با تعداد بیشتری شته مواجه شدند، ولی با مقایسه تعداد مواجهه در واحد زمانی حضور در لکه اختلافی بین دو گروه زنبور دیده نشد. همچنین در مورد نرخ تعداد کل وقایع رفتاری بین دو تیمار اختلافی دیده نشد. بنابراین، گرسنگی منجر به تغییر در آهنگ رفتار کاوشگری زنبورها نشد.

مقایسه تعداد رفتارهای دفاعی لگد زدن و همچنین جدا کردن استایلت از گیاه میزبان در واحد زمانی حضور در لکه، تفاوت معنی‌داری را بین دو تیمار نشان می‌دهد. نظر به اینکه رابطه معکوسی بین مدت زمان اختصاص داده شده به رفتار شاخک زدن درخواستی و ظهور رفتارهای دفاعی وجود دارد ($P < 0.05$ ، Pearson Correlation Coefficient = -0.390) (Rasekh et al., 2009)، و از آنجاییکه زنبورهای گرسنه زمان بیشتری را روی رفتار شاخک زدن درخواستی صرف کردند، لذا کاهش رفتارهای دفاعی شته‌ها در مواجهه با زنبورهای گرسنه دور از ذهن نمی‌باشد. کاهش رفتارهای دفاعی شته‌ها در مقابل پارازیتوئیدها در حضور مورچه‌های همیار در شته سیاه باقلا و سایر گونه‌های شته شناخته شده است (Völkl, 1997)، اما *L. fabarum* به طور مؤثری از تقلید مورچه‌ای در غیاب آنها برای کاستن واکنش‌های دفاعی شته‌ها (به ویژه رفتار دفاعی لگد زدن) استفاده می‌برد.

عوامل تأثیرگذار در فراوانی و وقوع این جمعیت‌ها نامشخص هستند (Stary, 1999). در جمهوری چک جمعیت ماده‌زا و در ایتالیا جمعیت دو جنسی به عنوان جمعیت غالب گزارش شده‌اند، درحالی‌که در جنوب فرانسه هر دو جمعیت به یک میزان در کنار هم حضور دارند (Stary, 1999). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که در مناطق نمونه‌برداری شده در استان زنجان فقط جمعیت ماده‌زا حضور دارد، در حالی‌که گزارش‌های پیش از این در شمال و جنوب کشور موید حضور جمعیت دو جنسی زنبور *L. fabarum* می‌باشد (Baghery-Matin et al., 2005; Baroon et al., 2007).

این جمعیت ماده‌زای زنبور پارازیتوئید *L. fabarum* از شته سیاه باقلا به عنوان میزبان و همچنین به عنوان منبع غذا استفاده می‌نماید. بنابراین، این زنبور از مشکلات پیش روی سایر پارازیتوئیدها در فعالیت‌های بین لکه‌ای به دور می‌باشد، یعنی تلاش در ایجاد تعادل بین صرف انرژی جهت کسب منابع، و یا یافتن میزبان برای پارازیتیسیم (Bernstein & Jervis, 2008). مطابق با مشاهدات صورت گرفته روی زنبور پارازیتوئید *L. fabarum*، سطح گرسنگی تأثیر زیادی روی زمان اختصاص داده شده به رفتارهای مختلف طی کاوشگری در لکه میزبان دارد.

مقایسه زنبورهای دو تیمار در واحد زمانی حضور در لکه، نشان داد که ماده‌های گرسنه تعداد و مدت زمان بیشتری را در هر واحد زمانی، صرف استراحت نمودند که احتمالاً منعکس کننده پایین بودن انرژی اولیه در زنبورهای گرسنه در قیاس با زنبورهای تغذیه شده، می‌باشد. همچنین زنبورهای گرسنه در هر واحد زمانی حضور در لکه‌های شته میزبان، دفعات و مدت زمان بیشتری را صرف شاخک زدن روی شته‌ها نمودند، که این امر ناشی از ظهور بیشتر شاخک زدن درخواستی در زنبورهای گرسنه می‌باشد (Rasekh et al., 2009).

زنبورهای گرسنه به طور متوسط بیشتر از سه برابر زنبورهای تغذیه شده، در لکه‌های شته میزبان باقی ماندند، ولی این حضور بیشتر منجر به افزایش میزان پارازیتیسیم نشد. مقایسه نرخ پارازیتیسیم نیز اختلاف

نتیجه گیری کلی

میزبان و غذا را با هم تأمین می‌کند، بنابراین در این جمعیت زنبور، ماده‌های گرسنه در مقایسه با زنبورهای تغذیه شده، مدت زمان بیشتری در لکه می‌مانند، اما این افزایش حضور منجر به افزایش میزان پارازیتسیم نمی‌شود.

سطح انرژی در زنبورهای پارازیتوید می‌تواند رفتار کاوشگری آنها را تحت تأثیر قرار دهد و در پارازیتویدها به طور معمول حشرات گرسنه لکه‌های میزبان را برای یافتن غذا زودتر ترک می‌کنند. اما نظر به اینکه شته میزبان در جمعیت ماده‌زای زنبور *L. fabarum* نقش

REFERENCES

1. Baghery-Matin, Sh., Sahragard, A. & Rasoolian, G. R. (2005). Some behavioural characteristics of *Lysiphlebus fabarum* (Hym: Aphidiidae) parasitizing *Aphis fabae* (Hom.: Aphididae) under laboratory conditions. *Journal of Entomology*, 2, 64-68.
2. Baroon, N. (2007). A study of population fluctuations of black bean aphid, *Aphis fabae* (Hom.: Aphididae) and the efficiency of its parasitoid *Lysiphlebus fabarum* (Marsh.) (Hym.: Braconidae) on Faba bean in Ahvaz. M. Sc. dissertation. College of Agriculture, Ahvaz University, Iran (In Farsi).
3. Belshaw, R. & Quicke, D. L. J. (2003). The cytogenetics of thelytoky in a predominantly asexual parasitoid wasp with covert sex. *Genome*, 46, 170-173.
4. Bernstein, C. & Jervis, M. (2008). Food-searching in parasitoids: the dilemma of choosing between 'immediate' or future fitness gains. In: E. Wajnberg, C. Bernstein, and J. van Alphen (Eds), *Behavioral ecology of insect parasitoids: from theoretical approaches to field applications*. pp. 129-171. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
5. Charnov, E. L. (1976). Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology*, 9, 129-136.
6. Collins, M. D. & Dixon, A. F. G. (1986). The effect of egg depletion on the foraging behavior of an aphid parasitoid. *Journal of Applied Entomology*, 102, 342-352.
7. Costamagna, A. C. & Landis, D. A. (2004). Effect of food resources on adult *Glyptapanteles militaris* and *Meteorus communis* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 33, 128-137.
8. Godfray, H. C. J. (1994). Parasitoids behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press, 473pp.
9. Houston, A. I., Clark, C. W., Mc Namara, J. M. & Mangel, M. (1988). Dynamic models in behavioural and evolutionary ecology. *Nature*, 332, 29-34.
10. Irvin, N. A., Hoddle, M. S., Steven, J. & Castle, B. (2007). The effect of resource provisioning and sugar composition of foods on longevity of three *Gonatocerus* spp., egg parasitoids of *Homalodisca vitripennis*. *Biological Control*, 40, 69-79.
11. Luck, R. F. (1990). Evaluation of natural enemies for biological control. *Trends in Ecology & Evolution*, 5, 196-200.
12. Mackauer, M., Michaud, J. P. & Volkl, W. (1996). Host choice by aphidiid parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae): Host recognition, Host quality, and Host value. *The Canadian Entomologist*, 6, 959-980.
13. Meyhofer, R. & Klug, T. (2002). Intraguild predation on the aphid parasitoid *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Aphidiidae): Mortality risks and behavioral decisions made under the threats of predation. *Biological Control*, 25, 239-248.
14. Michaud, J. P. (1994). Differences in foraging behavior between virgin and mated aphid parasitoids, (Hymenoptera: Aphidiidae). *Canadian Journal of Zoology*, 72, 1597-1602.
15. Nemeč, V. & Sary, P. (1985). Population diversity in deuterotokous *Lysiphlebus* species, parasitoids of aphids (Hymenoptera, Aphidiidae). *Acta Entomologica Bohemoslovica*, 82, 170-174.
16. Rasekh, A., Michaud, J. P., Kharazi-Pakdel, A. & Allahyari, H. (2010). Ant mimicry by an aphid parasitoid, *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Aphidiidae). *Journal of Insect Science*, 10, 1-14.
17. Roitberg, B. D. (1990). Optimistic and pessimistic fruit flies: Evaluating fitness consequences of estimation errors. *Behaviour*, 114, 65-82.
18. Rosenheim, J. A. & Rosen, D. (1991). Foraging and oviposition decisions in the parasitoid *Aphytis lingnanensis*: distinguishing the influences of egg load and experience. *Journal of Animal Ecology*, 60, 873-893.

19. Sivinski, J., Aluja, M. & Holler, T. (2006). Food sources for adult *Diachasmimorpha longicaudata*, a parasitoid of tephritid fruit flies: effects on longevity and fecundity. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 118, 193–202.
20. SPSS. (1998). *SPSS 8.0 for windows*. SPSS Inc., Prentice Hall, New Jersey.
21. Sary P. (1986). Specificity of parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae) to the black bean aphid *Aphis fabae* complex in agrosystems. *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, 83, 24-29.
22. Sary, P. (1999). Aggregations of aphid parasitoid adults (Hymenoptera, Aphidiidae). *Journal of Applied Entomology*, 105, 270-279.
23. Stephens, D. W. (1993). Learning and behavioral ecology: incomplete information and environmental predictability. In: D. R. Papaj, and A. C. Lewis, (Eds). *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives*. pp. 195-218. New York: Chapman and Hall.
24. Stephens, D. W. & Krebs, J. R. (1986). *Foraging theory*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
25. Visser, M. E., van Alphen, J. J. M. & Nell, H. W. (1990). Adaptive superparasitism and patch time allocation in solitary parasitoids: the influence of the number of parasitoids depleting the patch. *Behaviour*, 114, 21-36.
26. Völkl, W. (1997). Interactions between ants and aphid parasitoids: patterns and consequences for resource utilization. In: K. Dettner, B. Bauer & W. Völkl (Eds), *Vertical Food Web Interactions: Evolutionary Patterns and Driving Forces*. pp. 225–240. Springer, Heidelberg.
27. Völkl, W. & Stechmann, D. H. (1998). Parasitism of the black bean aphid (*Aphis fabae*) by *Lysiphlebus fabarum* (Hymenoptera, Aphidiidae): The influence of host plant and habitat. *Journal of Applied Entomology*, 122, 201-206.