

## بررسی اثر تغذیه با ویتامین C روی سنین بلوغ، جفت گیری و تخم‌ریزی در ملکه زنبور عسل ایرانی (*Apis mellifera meda*)

عین‌اله سیفی<sup>۱</sup>، غلامحسین طهماسبی<sup>۲\*</sup>، یوسف مهمان نواز<sup>۳</sup>، شبنم پری چهره<sup>۲</sup>

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه، مراغه، ایران

۲- \*نویسنده مسوول: بخش زنبور عسل، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران  
(Tahmasbigholamhosein@gmail.com)

۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه، مراغه، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۶/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۳/۱۳

### چکیده

زنبور عسل مانند بسیاری از دیگر جانوران به ویتامین‌ها نیازمند است. براساس منابع موجود، ویتامین C یک ضرورت غذایی برای بیشتر حشرات تغذیه‌کننده از منابع گیاهی از جمله زنبورعسل بوده و نقش مهمی را در زندگی زنبوران بالغ و پرورش لاروها دارا می‌باشد. به منظور بررسی اثرات ویتامین C بر مراحل مختلف پرورش ملکه، این تحقیق در کرج انجام شد. در واقع تأثیر ویتامین C بر سن بلوغ، سن جفت‌گیری و سن تخم‌ریزی بررسی و مقایسه گردید. در این آزمایش تأثیر تغذیه با دزهای مختلف ویتامین C شامل (۱) ۷۵۰ ppm، (۲) ۱۵۰۰ ppm، (۳) ۲۲۵۰ ppm، (۴) ۳۰۰۰ ppm با احتساب گروه شاهد (۵) (شربت شکر ۱: بدون ویتامین C)، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و شش تکرار روی سی کلنی زنبورعسل انجام شد. در اجرای این تحقیق تغذیه کندوهای جفت‌گیری از زمان معرفی شاخون‌ها آغاز شد. تغذیه درهشت نوبت و به مقدار یک لیتر یکرود درمیان با شربت ۱:۱ همراه با ویتامین C در سطوح مختلف انجام شد. در طی مرحله جفت‌گیری کلنی‌ها به طور روزانه با دقت مورد بازدید و بررسی قرار گرفت. در ثبت این مراحل وضعیت ظاهری ملکه‌ها در تعیین سن بلوغ، دیدن علامت جفت‌گیری در تعیین سن جفت‌گیری، دیدن تخم‌های روز در کلنی‌ها در تعیین سن تخم‌ریزی ملکه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تغذیه با ویتامین C در سن بلوغ ملکه‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت. همچنین نتایج ما نشان داد که تغذیه با ویتامین C در مقایسه با تیمار شاهد، علی‌رغم کاهش سن جفت‌گیری، تفاوت معنی‌داری نداشته اما سن تخم‌ریزی ملکه‌های تیمار شده با بالاترین دز ویتامین C به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ( $P=0.05$ ). با توجه به اینکه مرحله جفت‌گیری (سن بلوغ، جفت‌گیری و تخم‌ریزی) از پرهزینه‌ترین مراحل پرورش ملکه می‌باشد لذا با توجه کاهش زمانی سن تخم‌ریزی ملکه در اثر تغذیه ویتامین C، نتایج این تحقیق می‌تواند در کاهش هزینه‌های پرورش ملکه و کاهش هزینه تمام‌شده تولید ملکه در کشور موثر باشد.

کلیدواژه‌ها: ملکه زنبورعسل، ویتامین C، سن جفت‌گیری، سن بلوغ، سن تخم‌ریزی، زنبور عسل ایرانی

### مقدمه

شهد و گرده گل به عنوان منبع اصلی ویتامین ها در تغذیه زنبور عسل نقش مهمی ایفا می کنند (Ahmadi et al., 2014). کمیاب شدن گل های گرده زا و شهدزا به علت شرایط آب و هوایی منجر به کاهش رشد جمعیت و طول عمر زنبورها می شود (Standifer and Mills, 1977; Hays, 1984)، به همین دلیل تغذیه زنبور عسل به وسیله ویتامین های مکمل یکی از روش هایی است که برای جلوگیری از خسارات ناشی از کمبود شهد و گرده استفاده می شود (Pain, 1956; Heydak and Dietz, 1965).

به طور کلی بعضی ویژگی های ملکه زنبور عسل مانند تخم ریزی علاوه بر طول روز و شرایط آب و هوایی به مقدار شهد و به خصوص به مقدار گرده ای که زنبورهای کارگر به کندو وارد می کنند، بستگی دارد (Somerville, 2005). بنابراین کاهش شهد و گرده به طور مستقیم بر ملکه اثر منفی گذاشته و به کاهش تخم ریزی ملکه می انجامد. در چنین وضعیتی بزرگ ترین وظیفه زنبوردار مقابله با کم شدن فعالیت تخم ریزی ملکه است که آن هم فقط از طریق تغذیه تکمیلی زنبورها امکان پذیر است. ویتامین ها از مواد ضروری برای رشد و نمو و سلامت زنبور عسل هستند. زنبور عسل در مواقعی که از غذای طبیعی خود یعنی شهد و گرده گل ها تغذیه می کند، به دلیل تازگی و تنوع شهد و گرده گل ها از نظر تأمین مواد ویتامینی با کمبود مواجه نمی شود، ولی زمانی که تغذیه تکمیلی مطرح می شود و زنبورداران با استفاده از موادی مانند شکر سفید و جانشین شونده های گرده، زنبوران را تغذیه می کنند، در این گونه موارد از نظر ویتامین ها با مشکل بسیار روبرو هستند و افزودن ویتامین ها به غذای زنبور الزامی به نظر می رسد (Nehzati, 2009).

Heydak and Dietz (1965) طی مطالعه ای نتیجه گرفتند که ویتامین C در فعالیت پرورش نوزادان ضروری

نیست اما Zahra and Talal (2008) مصرف مکمل ویتامین C را موجب افزایش پرورش نوزاد دانستند. طبق گزارشات محققان ویتامین C موجب تکامل غدد شیری (Zahra and Talal, 2008)، افزایش فعالیت زنبوران چراگر و افزایش تولید عسل (Hussein, 1979) می شود.

Herbert (1985) اثر ویتامین C را بر روی پرورش نوزادان بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که کلنی های زنبور عسل تغذیه شده با تیمارهای غذایی حاوی ۲ گرم ویتامین C در یک کیلوگرم شربت تعداد بیشتری نوزاد پرورش دادند. نتایج بدست آمده از تحقیقات مختلف نشان می دهد که افزودن ۲ گرم ویتامین C به شربت تغذیه بهاره و پائیزه کلنی ها، موجب افزایش تخم ریزی ملکه و افزایش جمعیت می شود (Nickkar et al., 2013; Ahmadi, 2014).

طی تحقیقاتی در سال ۱۹۷۳ اعلام شد که افزایش دستی ویتامین C به جیره های غذایی حشرات که از منابع گیاهی استفاده می کنند ضروری است، زیرا وجود ویتامین C برای پرورش لارو لازم بوده و به دلیل اکسید شدن ویتامین C موجود در گرده های ذخیره شده در درجه حرارت بالای کندو و از دسترس خارج شدن آن باید گرده تازه در اختیار کندو قرار داده شده و یا ویتامین C به صورت دستی در جیره های غذایی تکمیلی آنها اضافه شود (Dadd, 1973).

نتایج مطالعات Javaheri (2003) نشان داد که افزایش سطوح مختلف ویتامین C به خصوص در سطح ۳۰۰۰ ppm به تغذیه بهاره (شربت شکر یک به یک) کلنی ها از اوایل اسفند تا اواخر فروردین سبب تسریع و افزایش پرورش نوزاد و ازدیاد جمعیت می گردد. همچنین Gençer et al. (2000)، اثر تغذیه مکمل (A, B, C, E, K) بر روی پذیرش لارو و کیفیت ملکه را ارزیابی کردند. نتایج نشان

کاملاً شکر در آب حل شود. تیمارها و نحوه مصرف شربت به شرح زیر بود:

۱. تیمار اول: سطح ppm ۷۵۰ ویتامین C محلول در شربت شکر ۱ به ۱
۲. تیمار دوم: سطح ppm ۱۵۰۰ ویتامین C محلول در شربت شکر ۱ به ۱
۳. تیمار سوم: سطح ppm ۲۲۵۰ ویتامین C محلول در شربت شکر ۱ به ۱
۴. تیمار چهارم: سطح ppm ۳۰۰۰ ویتامین C محلول در شربت شکر ۱ به ۱

۵. تیمار پنجم: گروه شاهد، شربت شکر خالص یک به یک تمام کلنی‌های جفت‌گیری تحت پوشش طرح با شربت خوری قابی داخل کندو و به میزان یک لیتر و یک روز درمیان شربت تغذیه می‌شدند (شکل ۱ و ۲).

### آماده‌سازی و سازماندهی کلنی‌ها برای بررسی مراحل مختلف پرورش ملکه

عملیات پرورش ملکه و آماده‌سازی ملکه‌ها برای طی مراحل بلوغ، جفت‌گیری و تخم‌ریزی به شرح زیر انجام شد. آماده‌سازی کلنی‌های پدري و مادري، آماده‌سازی اتاق پیوند صحرائی، ساختن سلول‌های مصنوعی و تشکیل کلنی‌های شروع‌کننده با دریچه پرواز ۴ ساعته بود.

### مراحل پیوند زدن

الف- انتخاب لارو از کندوهای مادری

برای انجام دادن پیوند، لاروهای کارگر زیر سی‌وشش ساعت و ترجیحاً یک‌روزه را با مقدار ژله مناسب انتخاب و با کمک سوزن پیوند به داخل سلول‌های مصنوعی آماده‌شده منتقل گردید.

ب- در این مرحله از کلنی‌های مادری، قاب‌های حاوی لارو یک‌روزه انتخاب شده به داخل اتاق پیوند منتقل گردید و سپس لاروهای یک تا یک و نیم‌روزه به وسیله سوزن پیوند از سلول‌های قاب برداشته شده و به داخل سلول مومی منتقل گردید.

داد که تغذیه تکمیلی باعث افزایش میزان پذیرش لاروهای پیوندشده می‌شود، همچنین طول و حجم سلول ملکه تحت تأثیر تغذیه‌های مکمل می‌باشد.

نتایج مطالعات (Farjan et al. (2012) در مورد تأثیر تغذیه ویتامین C نشان داد که میانگین میزان تلفات زنبور عسل در فصل زمستان در کلنی‌های دریافت‌کننده ویتامین C حدود ۳۳ درصد پایین‌تر از کلنی‌های شاهد بود. علاوه بر آن تغذیه با ویتامین C در زمستان موجب افزایش غلظت گلیکوژن و ترهالوز در فاز اولیه تولید نوزادان و زنبوران کارگران می‌شود.

به طور کلی با توجه به اهمیت ویتامین C در سلامت کلنی‌های زنبور عسل و مخصوصاً در تغذیه تکمیلی، این پژوهش به منظور بررسی اثر تغذیه با ویتامین C بر روی سن بلوغ، سن جفت‌گیری و سن تخم‌ریزی ملکه‌های زنبور عسل ایرانی در ایران انجام گردید.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در زنبورستان واقع در موسسه تحقیقات علوم دامی کرج در سال ۱۳۹۲ انجام شد. در این آزمایش تغذیه کلنی‌های مختلف توسط ویتامین C در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و شش تکرار روی ۳۰ کلنی انجام گردید. تهیه مواد آزمایشی و تغذیه کلنی‌ها به شرح زیر بود.

### نحوه آماده‌سازی شربت و ویتامین C محلول در آن جهت تیمارهای مورد آزمایش

شربت پایه کلنی‌ها شامل شکر سفید با غلظت ۵۰ درصد محلول در آب (شربت با نسبت ۱ به ۱) بود. ویتامین C به کار رفته در آزمایش ساخت کشور کانادا به شکل پودر خشک سفیدرنگ با درجه خلوص ۹۹/۹۹ درصد که توسط یکی از شرکت‌های دارویی وارد کشور شده بود، با نسبت‌های مشخص در شربت حل شد. برای تهیه شربت، شکر را در آب ولرم (به نسبت ۱ به ۱) مخلوط نموده تا

لاروهای جوان را از یک کندوی قوی انتخاب و جدا نموده و در یک کندوی خالی قرار داد. سپس زنبور جوان را از یک کندوی قوی به آن اضافه نمود.

نهایتاً یک ظرف شربت خوری نیز در کنار قاب‌های مذکور قرار داده شد و با شربت شکر فراوان تغذیه شد. ۴ ساعت پس از تشکیل این کندو یک قاب حاوی سلول‌های ملکه مصنوعی و لاروهای پیوندشده به جای قاب لارو جوان قرار داده شد و قاب لارو جوان از کندو خارج گردید. در این حالت پذیرش سلول‌های پیوندشده بسیار بالا می‌باشد (شکل ۴).



شکل ۳- استقرار قاب حاوی سلول‌های ملکه پیوند خورده در کلنی شروع کننده ۴ ساعته

Figure 3. Deposition of the frame containing grafted queen cells in a four-hour starter colony



شکل ۴- پذیرش سلول‌های پیوند شده در شروع کننده‌های چهار ساعته

Figure 4. Acceptance of grafted cells in four-hour starter colonies



شکل ۱- نحوه آماده سازی شربت و ویتامین C محلول در آن جهت تیمارهای مورد آزمایش

Figure 1. Preparation of vitamin C syrup for the treatments



شکل ۲- نحوه آماده سازی شربت و ویتامین C محلول در آن جهت تیمارهای مورد آزمایش

Figure 2. Preparation of vitamin C syrup for the treatments

ج- استقرار قاب حاوی سلول‌های ملکه پیوندخورده در کلنی شروع کننده ۴ ساعته (شکل ۳).

برای تشکیل کلنی شروع کننده ۴ ساعته با برداشتن ملکه و کل قاب‌های سفیره و تخم و لارو و باقی گذاشتن دو قاب با عسل و گرده فراوان در طرفین و یک قاب مملو از لارو جوان در وسط آن دو قاب و اضافه کردن زنبورهای جوان فراوان به این کندو اقدام شد، به طوری که از زنبورهای جوان موج بزند. البته برای تشکیل این کلنی می‌توان دو قاب پر از عسل و گرده و یک قاب حاوی

ملکه بالغ معمولاً دارای بدنی کشیده‌تر از ملکه باکره نابالغ می‌باشد که بدین وسیله از ملکه باکره نابالغ متمایز می‌گردد. ملکه بالغ علی‌رغم داشتن بدنی کشیده‌تر، دارای حرکاتی سریع می‌باشد که آن را از ملکه جفت‌خورده و تخم‌ریز متمایز می‌کند. تفکیک ملکه بالغ، ملکه جفت‌خورده و ملکه تخم‌ریز نیاز به دقت بالایی دارد. برای تمایز این دو نوع ملکه علاوه بر خصوصیات ملکه می‌توان از ویژگی‌های کندوچه‌های جفت‌گیری نیز کمک گرفت. در کندوچه‌های دارای ملکه باکره بالغ تعداد نرها معمولاً بیشتر از کندوچه‌های دارای ملکه جفت‌خورده و تخم‌ریز می‌باشد. تجمع بیشتر زنبوران نر در کندوچه‌های دارای ملکه باکره بالغ می‌تواند مربوط به فرومون‌هایی باشد که توسط ملکه باکره بالغ ترشح می‌شود. ملکه‌ها در زمان بلوغ مجهز به فرومون‌هایی برای جلب زنبوران نر در پرواز جفت‌گیری می‌شوند. مشاهده علامت جفت‌گیری در روی بدن ملکه نشان‌دهنده جفت خوردن ملکه در همان روز می‌باشد. دیدن علامت جفت‌گیری به ندرت در کندوچه‌های جفت‌گیری میسر می‌باشد ولی دیدن آن کمک می‌کند تا زمان جفت‌گیری ملکه مشخص شود (شکل ۶).



شکل ۶- علامت جفت‌گیری روی بدن ملکه برگشتی از پرواز جفت‌گیری

Figure 6. Mating sign on the queen's body returning from mating flight

سلول‌های ملکه در روز دهم پس از پیوند به کلنی‌های جفت‌گیری معرفی شدند. کندوهای جفت‌گیری ۲۴ ساعت قبل از معرفی شاخون‌ها سازماندهی شدند. برای سازماندهی کندوهای جفت‌گیری یک قاب عسل و گرده یک قاب شفیره با جمعیت و یک قاب خالی برای تخم‌ریزی ملکه در کندو قرار داده شد و به منطقه جفت‌گیری اطراف کندوهای پدری منتقل گردید (شکل ۵).



شکل ۵- معرفی شاخون به کندوچه جفت‌گیری  
Figure 5. Introducing the queen cell to the mating nucleus

بعد از معرفی شاخون‌ها به کلنی‌های جفت‌گیری، تغذیه این کلنی‌ها با سطوح مختلف ویتامین C در منطقه کرج انجام گردید. تیمارهای مورد آزمایش از چهار سطح مذکور ویتامین C خالص (ال - اسید اسکوربیک) محلول در شربت یک به یک و یک گروه شاهد تغذیه‌شده با شربت بدون ویتامین تشکیل یافته بود که در مدت ۱۶ روز به تعداد هشت بار (یک روز در میان) و هر بار به مقدار یک لیتر برای هر کندو تغذیه گردیدند.

#### نحوه کنترل سن بلوغ، جفت‌گیری و تخم‌ریزی ملکه

پس از اطمینان از تولد ملکه در طی روزهای بعد، بالغ‌شدن ملکه مورد بررسی قرار گرفت. وضعیت ظاهری و مورفولوژیکی ملکه در تشخیص بلوغ ملکه کمک می‌کند.

روند کاهش بود (شکل ۷). به طور کلی نتایج نشان داد که افزودن ۲۰۰۰-۳۰۰۰ ppm ویتامین C به شربت تغذیه کلنی‌ها اگر چه معنی دار نبود ( $P=0.139$ ) اما تا اندازه‌ای سبب کاهش سن بلوغ ملکه شده است به طوری که با اضافه کردن ۳۰۰۰ ppm ویتامین C به شربت شکر سن بلوغ ملکه به ۵/۴۰ روز کاهش یافت.

نتایج بدست آمده از روند تغییرات سن بلوغ ملکه با افزایش غلظت ویتامین C نشان داد کاهش سن بلوغ با افزایش سطوح ویتامین C از یک تابع خطی تبعیت نمود ( $y = -0.176x + 6.2489$ ) و میزان  $R^2$ ، میزان تبعیت این کاهش سن بلوغ از افزایش ویتامین C ۰/۵۰۳۷ بود (شکل ۸).

(Zeini et al. (2012) در مطالعه‌ای بر روی مدت زمان بلوغ ملکه زنبور عسل در اقلیم‌های مختلف ایران از جمله در جنوب ایران و در شرایط محیطی تنگه ارم از توابع شهرستان دشتستان بوشهر به این نتیجه رسیدند که مدت زمان لازم برای بالغ شدن و جفت‌گیری ملکه‌های تولیدی در این مناطق کمتر از منطقه کرج بود و در واقع در شرایط مناطق گرمسیری نوار جنوبی کشور که بسیاری از تولیدکنندگان ملکه در زمان تولید ملکه پیش‌رس به آن منطقه مهاجرت می‌کنند مدت زمان لازم برای بلوغ و تخم‌ریز شدن ملکه‌ها کاهش یافت.

کنترل تخم‌ریزی ملکه از طریق مشاهده تخم‌های یک‌روزه یا تخم‌های عمود در سلول‌های روی قاب‌های موجود در کندوچه‌های جفت‌گیری صورت می‌گیرد. گاهی تخم روز همراه با تخم دو روزه یا تخم‌های مایل و یا تخم‌های سه‌روزه یا تخم‌های خوابیده در سلول‌های کندوچه‌های جفت‌گیری مشاهده می‌گردد که سن تخم‌ریزی ملکه در این حالت مربوط به قدیمی‌ترین یا مسن‌ترین تخم موجود در کندوچه جفت‌گیری خواهد بود. بررسی تاثیر ویتامین C بر صفات تولیدمثلی زنبور عسل در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها در این طرح با روش دانکن صورت گرفت. روند تغییرات سطوح مختلف تیمار با مدل رگرسیون خطی بررسی گردید. برای تجزیه و تحلیل آماری نتایج از نرم افزار SAS 9.2 استفاده شد.

### نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از تاثیر سطوح مختلف ویتامین C بر سن بلوغ ملکه‌ها نشان داد که کمترین سن بلوغ مربوط به تیمار سوم یا کلنی‌های تغذیه‌شده با ۲۲۵۰ میلی‌گرم در هر لیتر شربت بود (جدول ۱ و ۲)، و علی‌رغم اینکه تفاوت معنی‌داری در سن بلوغ ملکه‌های تغذیه‌شده با سطوح مختلف ویتامین C وجود نداشت ولی روند تغییرات سن بلوغ آنها با افزایش سطوح مختلف ویتامین C دارای یک

جدول ۱- خلاصه تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه

Table 1. Analysis of variance results for studied traits

	Egg-laying age (d)	Mating age (d)	Maturation age (d)
Treatment (MS)	2.666	1.803	10117
Error (MS)	0.953	0.924	1.281
P. Value	0.05	0.139	0.497

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی تحت سطوح مختلف ویتامین C در کرچ

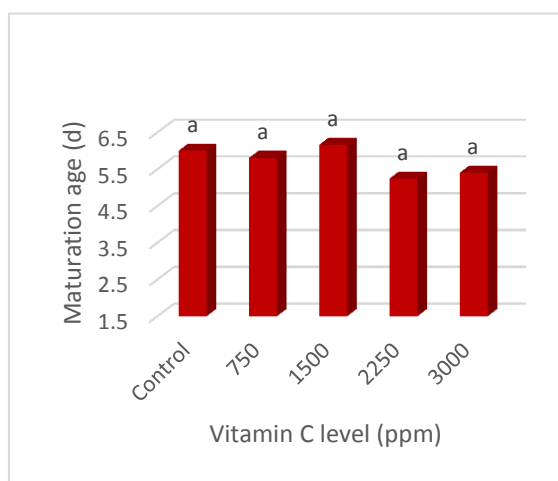
Table 2. Mean comparison of traits under different levels of vitamin C in Karaj

Vitamin C	Egg-laying age (d)	Mating age (d)	Maturation age (d)
Test	9.6±1.14 a	7.2±1.47 ab	6±1.414 a
750	10±0.632 a	8±0.707 a	5.8±1.66 a
1500	9.33±0.943 ab	7.5±0.5 ab	6.16±0.898 a
2250	9±0.894 ab	6.6±0.49 b	5.24±0.434 a
3000	8.2±0.837 b	6.6±0.548 b	5.4±0.548 a
SEM	0.618	0.603	0.72

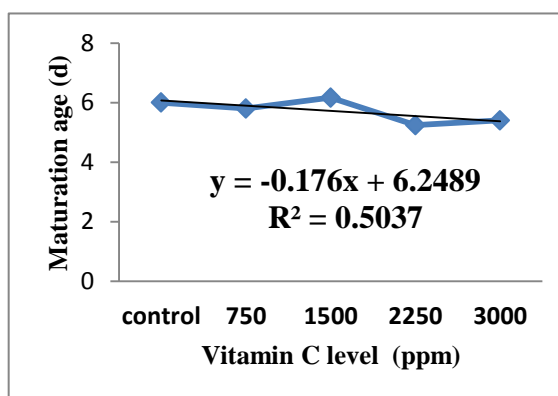
\*Means with the similar letters within each column, were not significantly different

نتایج بدست آمده از تاثیر سطوح مختلف ویتامین C بر سن جفت گیری ملکه‌ها در مطالعه‌ی ما نشان داد که کمترین سن جفت گیری مربوط به تیمار سوم یا کلنی‌های تغذیه شده با ۲۲۵۰ میلی گرم در هر لیتر شربت بوده است، و افزایش سطوح ویتامین C باعث کاهش سن جفت گیری شد به طوری که بالاترین سطح (۳۰۰۰ ppm) و پایین ترین سطح (۷۵۰ ppm) ویتامین C با هم اختلاف معنی داری داشتند. هر چند که در مقایسه کلی تیمارها و شاهد علی‌رغم کاهش سن جفت گیری اختلاف معنی داری دیده نشد ( $P=0.139$ ). همچنین نتایج ما نشان داد که روند تغییرات سن جفت گیری تحت تاثیر افزایش سطوح مختلف ویتامین C دارای یک روند کاهشی بود (شکل ۹). (Javaheri et al. (2009) استفاده از سطوح مختلف ویتامین C در تغذیه کلنی‌ها را سبب افزایش شادابی، فعالیت و افزایش جمعیت کلنی‌ها دانستند. (Gencer et al. (2000) نیز تغذیه با ویتامین‌ها از جمله ویتامین C را سبب افزایش فعالیت و افزایش جمعیت کلنی‌ها اعلام کردند که با نتایج این تحقیق در خصوص افزایش شادابی و کاهش سن جفت گیری تا حدودی تطابق دارد.

چنانچه از شکل ۱۰ پیداست، کاهش سن جفت گیری با افزایش سطوح ویتامین C از یک تابع خطی تبعیت می‌کند ( $y = -0.26x + 7.96$ ) و میزان  $R^2$ ، میزان تبعیت این کاهش سن بلوغ از افزایش ویتامین C، ۰/۴۶۶۹ است.



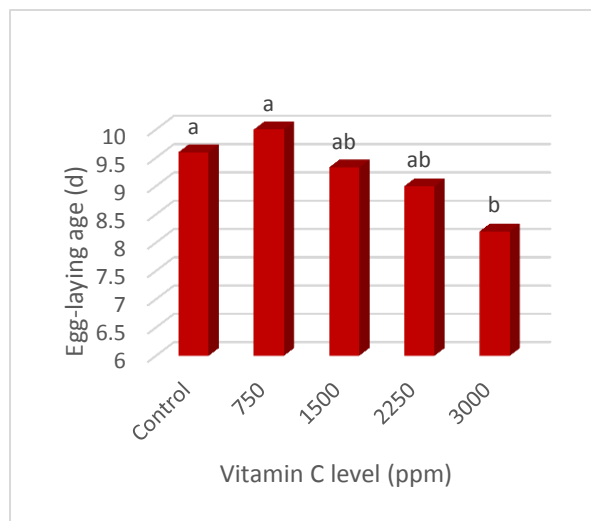
شکل ۷- مقایسه میانگین سن بلوغ در سطوح مختلف ویتامین C  
Figure 7. Mean comparison of queen maturation age in different levels of vitamin C



شکل ۸- روند تغییرات سن بلوغ ملکه با افزایش غلظت ویتامین C

Figure 8. The trend of change in queen's maturation age by increasing vitamin C level

نتایج نشان دهنده این است که کمترین سن تخم ریزی مربوط به تیمار چهارم یا کلنی های تغذیه شده با ۳۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر لیتر شربت بود، و تغذیه با ویتامین C بر سن تخم ریزی اثر معنی داری داشت (P=0.05) و روند تغییرات سن تخم ریزی آنها تحت تاثیر افزایش سطوح مختلف ویتامین C دارای یک روند کاهشی بود (شکل ۱۱).

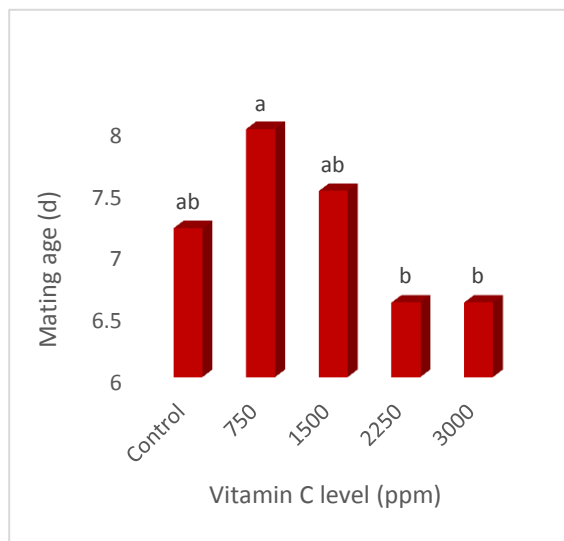


شکل ۱۱- مقایسه میانگین سن تخم ریزی در سطوح مختلف ویتامین C

Figure 11. Mean comparison of queen egg-laying age in different levels of vitamin C

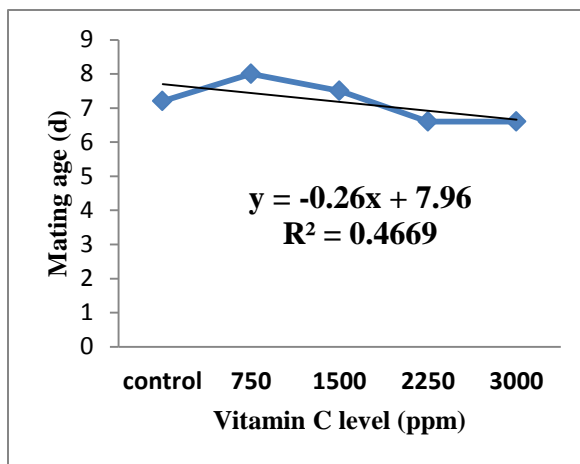
چنانچه از شکل ۱۲ پیداست، کاهش سن تخم ریزی با افزایش سطوح ویتامین C از یک تابع خطی تبعیت نمود (y = -0.38x + 10.366) و میزان R<sup>2</sup>، میزان تبعیت این کاهش سن بلوغ از افزایش ویتامین C ۰/۷۷۹۲ بود.

تحقیقات متعددی در مورد نقش ویتامین C بر روی میزان تخم ریزی ملکه انجام شده اما نقش ویتامین C بر سن تخم ریزی زنبور عسل تنها در تحقیق حاضر انجام گرفته است. Nickkar et al. (2013) نقش ویتامین C را روی میزان جمعیت و تخم ریزی ملکه کلنی زنبور عسل (*Apis mellifera*) در فصل پائیز مورد پژوهش قرار دادند. بر اساس



شکل ۹- مقایسه میانگین سن جفت گیری در سطوح مختلف ویتامین C

Figure 9. Mean comparison of queen mating age in different levels of vitamin C



شکل ۱۰- روند تغییرات سن جفت گیری ملکه با افزایش غلظت ویتامین C

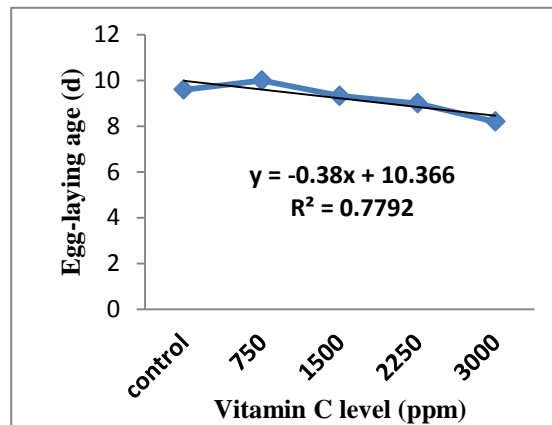
Figure 10. The trend of change in queen's mating age by increasing vitamin C level

نتایج بدست آمده از تاثیر سطوح مختلف ویتامین C بر سن تخم ریزی ملکه ها نشان داد که سن تخم ریزی در کلنی های تغذیه شده با ۷۵۰ ppm ویتامین C، ۱۰ روز و در کلنی های تغذیه شده با ۱۵۰۰ ppm، ۲۲۵۰ ppm و ۳۰۰۰ ppm، به ترتیب ۹، ۹/۳۳ و ۸/۲ روز بود. به طور کلی



تا اوایل اردیبهشت، افزایش یافت به طوری که میزان تخم‌ریزی و پرورش نوزاد را تا ۳۲ درصد بیشتر از کلنی‌های گروه شاهد نموده و تولید عسل را نیز به طور معنی‌داری افزایش داد (Hussein, 1979). نتایج تحقیقات فوق در خصوص افزایش تخم‌ریزی ملکه زنبور عسل با استفاده از ویتامین C با نتایج تحقیق حاضر که حاکی از اثرات مثبت ویتامین C در کاهش سن تخم‌ریزی و نهایتاً افزایش پتانسیل تخم‌ریزی ملکه بود، تطابق دارد.

به طور کلی نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش غلظت ویتامین C سن تخم‌ریزی به طور معنی‌داری در ملکه کاهش یافت. با توجه به ضرایب رگرسیون سن تخم‌ریزی با روند سریعتری این کاهش را نشان می‌دهند. همچنین نتایج نشان داد که سن جفت‌گیری و سن بلوغ با مصرف ویتامین C علی‌رغم کاهش، معنی‌دار نبود. در مجموع نتایج این تحقیق مبین این است که ملکه‌های مربوط به تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف ویتامین C در گروه جداگانه قرار گرفتند که نشان می‌دهد تغذیه با ویتامین C با دزهای بالاتر در کوتاه‌تر شدن سن تخم‌ریزی تاثیر دارد و در کلنی‌های تغذیه‌شده با ویتامین C با دزهای بالاتر ملکه‌ها زودتر جفت‌گیری نموده و تخم‌ریز شدند. بنابراین با توجه به نتایج گرفته شده، با افزایش غلظت ویتامین C، سن بلوغ، سن جفت‌گیری و سن تخم‌ریزی در ملکه باکره کاهش یافت. پرورش ملکه یکی از ابزارهای مهم برای اصلاح نژاد زنبور عسل می‌باشد و لازم است در بین زنبورداران توسعه یابد تا زمینه اصلاح نژاد در زنبورستان‌های کشور فراهم شود. با توجه به اینکه مرحله جفت‌گیری ملکه از پرهزینه‌ترین مراحل پرورش ملکه می‌باشد و سبب می‌شود در مجموع پرورش ملکه در مقایسه با تولید عسل غیراقتصادی گردد، کاهش هزینه‌های پرورش ملکه و به خصوص مرحله جفت‌گیری ملکه‌ها می‌تواند در گسترش پرورش ملکه در بین زنبورداران



شکل ۱۲- روند تغییرات سن تخم‌ریزی با افزایش غلظت ویتامین C

Figure 12. The trend of change in queen's egg-laying age by increasing vitamin C level

نتایج آنها افزودن ۲۰۰۰ ppm ویتامین C به شربت تغذیه پائیزه کلنی‌ها سبب افزایش تخم‌ریزی ملکه و افزایش جمعیت شد. همچنین نتایج مطالعات دیگر نشان می‌دهد که افزایش سطوح مختلف ویتامین C به خصوص در سطح ۳۰۰۰ ppm به تغذیه بهاره (شربت شکر یک به یک) کلنی‌ها از اوایل اسفند تا اواخر فروردین، سبب تسریع و افزایش پرورش نوزاد و ازدیاد جمعیت گردید (Javaheri, 2009).

Ahmadi (2014) تأثیرات سطوح گوناگون ویتامین C را بر میزان تخم‌گذاری ملکه مورد پژوهش قرار دادند. نتایج او نشان داد که بیشترین میزان تخم‌ریزی ملکه مربوط به تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم شربت (۹۰۴۹ سانتی متر مربع) بود و کمترین میزان تخم‌ریزی مربوط به تیمار شاهد (۴۸۴۸ سانتی متر مربع) بود. با توجه به نتایج او ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم به تغذیه بهاره (شربت ۵۰ درصد شکر) سبب افزایش تخم‌ریزی ملکه گردید. طی آزمایشی که در سال ۱۹۷۹ انجام شد تخم‌ریزی، پرورش نوزاد و تولید عسل در کلنی‌های تغذیه شده با شربت شکر یک به یک حاوی ۵۰۰۰ ppm ویتامین C از اواخر اسفند

### سپاس‌گزاری

بدین وسیله از حمایت‌های مالی وزارت جهاد کشاورزی تشکر و قدردانی می‌شود.

کمک کند. لذا استفاده از نتایج این تحقیق با کاهش زمانی مراحل مختلف پرورش ملکه می‌تواند به عنوان یکی از روش‌ها برای کاهش هزینه‌های پرورش ملکه و کاهش هزینه تمام‌شده تولید ملکه و نیز اقتصادی شدن پرورش ملکه در زنبورستان‌های کشور باشد.

### REFERENCES

- Ahmadi, A. 2014. Effect of different levels of vitamin C on queen laying rate and body protein percentage of worker in honey bee colonies (*Apis mellifera* L.). M. Sc. Thesis, Sanandaj University, Sanandaj, Iran. (In Farsi).
- Dadd, R. H. 1973. Insect nutrition: current developments and metabolic implications. Annual Review Entomology, 18:381-420.
- DeGrandi-Hoffman, G., Wardell, G., Ahumada-egura, F., Rinderer, T., Danka, R. and Pettis, J. 2008. Comparisons of pollen substitute diets for honey bees: Consumption rates by colonies and effects on brood and adult populations. Journal of Apicultural Research, 47: 265-270.
- Farjan, M., Dmitryjuk, M, Lipiński, Z., and Żółtowska, K. 2012. Supplementation of the honey bee diet with vitamin C: The effect on the antioxidative system of *Apis mellifera* carnica brood at different stages. Journal of Apicultural Research, 51(3): 263-270.
- Gencer, H. V., Shah, S. Q. and Firatli, Ç. 2000. Effects of supplemental feeding of queen rearing colonies and larval age on the acceptance of grafted larvae and queen traits. Pakistan Journal of Biological Sciences, 3(8): 1319–1322.
- Haydak, M. H. and Dietz, A. 1965. Influence of the diet on the development and brood rearing of the honey bee. International beekeeping Congress, Bucharest, 20, 158-162.
- Hays, G. W. J. 1984. Supplemental feeding of honey bees. American Bee Journal, 124: 35-37.
- Herbert Jr., E., Vanderslice, J. and Higgs, D. 1985. Effect of dietary vitamin C levels on the rate of brood production of free-flying and confined colonies of honey bees. Apidologie, 16, 385-394.
- Hussein, M. H. 1979. Bee Symposium (Affiliated to 3 Arab Pesticide Conference Tanta University), 16-23.

Javaheri, S. 2009. Effect of various dietary vitamin C (L – Ascorbic acid) levels on the rate of population size and honey production in honeybee colonies. Animal sciences journal (Pajouhesh and Sazandegi), 97: 1-6. (In Farsi with English abstract).

Nehzati, GH. 2009. Effect of supplemental diets of corn gluten, soybean meal and bakery yeast on body weight, protein and fat percent in worker honey bees. Iranian journal of animal science, 39(1): 49-56. (In Farsi with English abstract).

Nickkar, M., Alov Ghotbi, A. and Nehzati, P. 2013. Effect of different levels of vitamin C on population, queen egg-laying of *Apis mellifera* in autumn. The 2nd National Conference on Modern Issues in Agriculture, Islamic Azad University, Saveh, Iran. (In Farsi).

Pain, J. 1956. Vitamin and ovarian development of worker bees. Sciete de Biologie, Paris, 145: 1505-1507.

Somerville, D. 2005. Fat bee, skiny bees-a manual on honey bee nutrition for beekeepers. Australian Rural Industries Research and Development Corporation Publication. P. 142.

Standifer, L. N., and Mills, J. P. 1977. The effects of worker honey bee diet and age on the vitamin content of larval food. Annals of the Entomological Society of America, 70(5): 691-694.

Zahra, A. and Talal, M. 2008. Impact of pollen supplements and vitamins on the development of hypopharyngeal glands and brood area in honey bees. Journal of Apicultural Science, 52: 5-12.

Zeini. F. Tahmasbi, Gh., Seifi, A., Javid, M., Nezhad Mohammad Nameghi A., and Sartippour, A. 2012. The thermal requirement of maturity and mating duration of honeybee queen in south of Iran. 11<sup>th</sup> Asian Apicultural Association Conference, ApiExpo and Workshop. 28<sup>th</sup> Sep- 2<sup>th</sup> Oct 2012: 101.



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

## The effect of vitamin C on maturation, mating and egg-laying ages of Iranian honey bee queens (*Apis mellifera meda*)

A. Seyfi<sup>1</sup>, Gh. Tahmasebi<sup>2</sup>, Y. Mehmannaavaz<sup>3</sup>, Sh. Parichehreh<sup>2</sup>

1. M.Sc., Department of Animal Sciences, Islamic Azad University of Maragheh, Maragheh, Iran
2. \*Corresponding author: Department of Honey Bee, Animal Science Research institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran (Tahmasbigholamhosein@gmail.com)
3. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Islamic Azad University of Maragheh, Maragheh, Iran

DOI: 10.22055/ppr.2019.14763

Received: 3 June 2019

Accepted: 21 September 2019

---

### Abstract

#### Background and objectives

Vitamin C has an essential role in brood rearing and adult development in different insects. In general, vitamins are considered an important subject in honey bee nutrition and are necessary for brood development. Vitamin C is one of the most essential vitamins for the majority of herbivorous insects such as honey bee, and plays an important role in its life.

#### Materials and Methods

The effects of the vitamin C diet was investigated on queen rearing stages and also on the maturity development, mating age and commence of egg-laying period of queens in Karaj, Iran. Thirty honey bee colonies (N=30) were randomly fed with one liter of syrup (1:1) in 5 treatments consisted of different levels of vitamin C: 1) 750 ppm, 2) 1500 ppm, 3) 2250 ppm, 4) 3000 ppm, and 5) vitamin-free as control, with six replicates. Colonies were fed through two-day intervals after queen cells introduction in mating colonies. The queen's body size, presence of mating sign and one-day eggs were inspected daily and recorded during the experiment period.

#### Results and Discussion

Results showed no significant differences on maturity duration and mating age in queens fed with vitamin C. However, based on Duncan's multiple range tests, treatments fed with higher levels of vitamin C were located in different groups in comparison with lower levels. Our results also showed that egg laying stage appeared sooner in colonies fed with vitamin C. Considering that the mating stage (maturation age copulation and egg laying) is the most costly queen rearing process, using the results of this research can reduce the queen's mating phase and the cost of queen rearing in Iran.

**Keywords:** Honey bee queen, Vitamin C, Maturation age, Mating age, Egg-Laying age, *Apis mellifera meda*