

## اثرات اسیدآمین‌های ال‌متیونین و ال‌لیزین بر میزان رشد جمعیت کلنی، تخم‌گذاری ملکه، پرورش نوزادان و تولید عسل در زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera meda*)

سلیمان پناه‌علی زاده، وحید واحدی\* و آزاده بوستان

ایران، اردبیل، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، گروه علوم دامی

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۹/۲/۳۰

### چکیده

هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثرات تغذیه اسیدآمین‌های ال‌متیونین و ال‌لیزین روی رشد جمعیت کلنی، تخم‌گذاری ملکه، پرورش نوزادان و میزان تولید عسل بود. این آزمایش از ۲۷ اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۸ شروع و به مدت ۴۵ روز تا ۱۰ تیرماه در استان اردبیل انجام شد. برای این آزمایش تعداد ۴۸ کندو انتخاب شدند و کلنی‌ها از نظر شرایط محیطی، جمعیت، ذخیره گرده و عسل و ملکه‌های خاوه‌ری یکسان‌سازی شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۱۲ تکرار انجام شد. تیمارها شامل: (۱) تیمار شاهد (کلنی‌های تغذیه شده با شربت فاقد مکمل اسیدآمین‌ها) و تیمارهای ۲، ۳ و ۴ که به ترتیب با شربت مکمل شده با اسیدآمین‌های ال‌متیونین، اسیدآمین‌های ال‌لیزین و مخلوطی از اسیدآمین‌های ال‌لیزین و ال‌متیونین تغذیه شدند. نتایج نشان داد که در دوره اول و دوم بیشترین میزان جمعیت در تیمار ال‌لیزین/ال‌متیونین مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). در دوره چهارم و میانگین دوره‌ها، بیشترین جمعیت کلنی‌ها مربوط به تیمار ال‌لیزین/ال‌متیونین (به ترتیب ۱۲/۶ و ۹/۴۲ قاب) و کمترین جمعیت مربوط به تیمار شاهد (به ترتیب ۱۰/۴ و ۸/۱۹ قاب) بود. در تمام دوره‌های آزمایش، تخم‌گذاری ملکه در زنبورهایی که با مخلوط اسیدآمین‌های ال‌لیزین/ال‌متیونین تغذیه شده بودند در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). همچنین بهترین عملکرد برای صفت پرورش نوزادان و تولید عسل در تیمار ال‌لیزین/ال‌متیونین بدست آمد. در کل بررسی ما تأثیر مثبت تغذیه مخلوط اسیدآمین‌های ال‌لیزین و ال‌متیونین بر جمعیت کلنی، تخم‌ریزی ملکه و تولید عسل را تأیید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: زنبورعسل، ال‌متیونین، ال‌لیزین، جمعیت کلنی، تخم‌گذاری ملکه

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۴۳۲۲۳۵۵، پست الکترونیکی: vahediv@uma.ac.ir

### مقدمه

فعالیت به کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی نیاز دارند. کربوهیدرات‌ها را به‌طور طبیعی از طریق شهد گل و پروتئین‌ها، چربی‌ها و ویتامین‌ها و مواد معدنی را از طریق گرده گل دریافت می‌کنند (۷). حدود ۱۳ درصد از وزن بدن یک زنبور تازه متولد شده و حدود ۱۵/۵ درصد از وزن بدن زنبور پنج‌روزه را مواد پروتئینی تشکیل می‌دهد (۱۶). هر زنبورعسل از زمان تفریح تخم تا خارج شدن از سلول، برای رشد خود به ۳/۲۱ میلی‌گرم نیتروژن نیاز دارد، که این مقدار نیتروژن معادل ۱۲۰

زنبورعسل اروپایی یا معمولی (*Apis mellifera* L.) از راسته بال‌غشاییان و خانواده Apidae است (۵). پرورش زنبورعسل رواج گسترده‌ای در جهان داشته و اهمیت اقتصادی آن از ابعاد مختلفی نظیر گرده‌افشانی و تولید فراورده‌هایی مانند عسل، موم، بره موم، ژله رویال و زهر که مصارف صنعتی، بهداشتی، غذایی و دارویی دارند به اثبات رسیده است (۸).

مواد اصلی در رژیم غذایی کامل زنبورعسل شامل شهد گل و گرده گل می‌باشند. زنبورهای عسل برای رشد و نمو و

این اسیدهای آمینه جهت رشد، نگهداری سلول‌های بدنی و تولیدمثل استفاده می‌شوند. اسیدهای آمینه ضروری با مصرف پروتئین موجود در سایر حیوانات و گیاهان به دست می‌آیند (۱۵ و ۲۰). کیفیت و کمیت این آمینواسیدها طول عمر و باروری حشرات را افزایش می‌دهد (۱۸). شواهد نشان داده‌اند که حشرات محلول‌های شکر حاوی آمینواسیدها را ترجیح می‌دهند (۲۲). در مطالعه اینویه و والر (۱۹۸۴) کاهش مصرف شهد توسط زنبورعسل (*Apis Mellifera*) در زمانی که غلظت آمینواسیدها افزایش می‌یافت مشاهده شد و فقط در مصرف فنیل آلانین استثنا وجود داشت. برطبق نتایج کارتر و همکاران (۲۰۰۶) و برتازینی و همکاران (۲۰۱۰)، شهد حاوی اسیدآمینه پرولین بیشتر از شهدهایی که فقط حاوی قند بودند ترجیح داده شد. برطبق نتایج روگالا و سماز (۲۰۰۴) تغذیه ایزومرهای L آمینواسیدها نسبت به ایزومرهای DL نتایج بهتری را نشان دادند. براساس سایر گزارشات از جمله سامرویل (۲۰۰۵) مطالعه در زمینه تغذیه زنبوران عسل با مواد پروتئینی و اسیدآمینه‌ها و نقش آمینواسیدها در زنبورعسل کمتر صورت گرفته است.

لیزین از اسیدهای آمینه ضروری برای تک‌معدده‌ای‌ها می‌باشد که به‌اندازه کافی در بدن حیوان ساخته نمی‌شود و نیاز است که به‌صورت سنتتیک به حیوان خوراندیده شود. اسیدآمینه لیزین، پایه و اساس ارزیابی دیگر اسیدهای آمینه جیره برای ایجاد تعادل ایده‌آل اسیدهای آمینه شناخته شده است. بنابراین مکمل‌سازی آن در جیره به‌منظور کاهش پروتئین خام جیره امکان‌پذیر خواهد بود. لیزین به‌عنوان اسیدآمینه مرجع در پروتئین بوده و وارد سایر مسیرهای متابولیکی دیگر نمی‌شود و سطح احتیاجات آن به میزان اندکی توسط سایر فعالیت‌های متابولیکی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. متیونین یکی از آمینواسیدهای ضروری در همه سلسله‌های بیولوژیکی می‌باشد که نقش مهمی در متابولیسم اولیه و ثانویه دارد و به‌عنوان دهنده یک گروه متیل مطرح است. این اسیدآمینه نقش کلیدی در ساخت پروتئین و

میلی‌گرم‌گرده گل می‌باشد (۱۶). زنبوران عسل از مواد پروتئینی بیشتر جهت تأمین عناصر ساختمانی، ماهیچه‌ها، غدد و سایر بافت‌ها استفاده می‌کنند. زنبورهای عسلی که از گرده‌های گل یا مواد پروتئینی بیشتر تغذیه می‌نمایند، قادرند تعداد بیشتری از لاروها را تغذیه نمایند (۱۷). رولستون و کان (۲۰۰۰) دامنه تغییرات میزان پروتئین‌گرده را بسته به نوع گونه بین ۲/۵ تا ۶۱ درصد متغیر گزارش کردند. اطلاعات مربوط به پروتئین و دیگر احتیاجات غذایی زنبورعسل نشان می‌دهد که گرده‌های حاوی کمتر از ۲۰ درصد پروتئین خام نمی‌توانند احتیاجات کلنی را برای تولید مطلوب فراهم سازند (۱۰). زنبورهایی که بیش از ۲۳ درصد پروتئین مصرف می‌کنند قادرند به‌طور موفقیت‌آمیزی جمعیت نوزادان را افزایش دهند (۲۷). پروتئین‌ها تأمین‌کننده انواع مختلف آمینواسیدها می‌باشند. ۱۰ آمینواسید تریونین، والین، متیونین، ایزولوسین، لوسین، فنیل آلانین، هیستیدین، لیزین، آرژنین و تریپتوفان به‌عنوان آمینواسیدهای ضروری در تغذیه زنبورعسل شناسایی شده‌اند (۲۸). اما پروتئین بعضی از گرده‌ها فاقد کلیه اسیدآمینه‌های مورد نیاز زنبور می‌باشند (۹).

کمبود گرده گل منجر به کاهش میزان تخم‌گذاری ملکه، کاهش پرورش نوزاد، رشد غیرطبیعی، کاهش طول عمر در کارگران بالغ، کاهش در جمعیت زنبوران نر، افزایش حساسیت به بیماری‌ها، عدم رشد مناسب تخمدان‌ها در ملکه، کاهش تولید اسپرم، تعویض ملکه، جویدن لاروها و شفیره‌ها، عدم تولید زهر به مقدار کافی، نداشتن توانایی لازم برای زمستان‌گذرانی، کاهش تولید و یا عدم تولید ژله شاهانه، کاهش تولید موم، کاهش در تولید عسل و حتی منجر به مرگ کلنی می‌شود (۶، ۲۱، ۲۸، ۲۹). در صورتی که گرده گل به مقدار کافی در مزارع موجود نباشد، ضروریست زنبورداران مکمل یا جانشین گرده تازه تهیه نموده و در اختیار کلنی‌ها قرار دهند، و به این صورت رشد و سلامت کلنی را تأمین نمایند (۶). همه حیوانات نیاز به یک منبع غذایی غنی از اسیدهای آمینه ضروری دارند که

کاتابولیسیم سیستم ایمنی در حیوانات دارد (۲۶). با توجه به کمبود گرده در اوایل بهار و نیاز به ایجاد تحریک و فعالیت بیشتر زنبورها و تخم‌گذاری و همچنین نیاز به وجود اطلاعات بیشتر در خصوص تغذیه با اسیدهای آمینه و تأثیر آن بر زنبورها، هدف از این تحقیق بررسی اثرات دو اسید آمینه ضروری، دی ال متیونین و ال لیزین بر رشد زنبور عسل و عملکرد آنها مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روشها

این پژوهش از بیست و هفتم اردیبهشت ۱۳۹۸ در زنبورستان تخصصی و سایت الگویی، ترویجی و تحقیقی واقع در استان اردبیل، شهرستان مشکین‌شهر، روستای میرک شروع و تا ۱۰ تیرماه به مدت ۴۵ روز انجام گردید. در این آزمایش از تعداد ۴۸ کلنی زنبور عسل ایرانی (*Apis Mellifera meda*) استفاده شد. به منظور به حداقل رساندن اختلافات ژنتیکی بین تیمارهای آزمایشی قبل از انجام عملیات و در اوایل بهار ملکه‌های خواهری به روش تکثیر مصنوعی (روش پیوند از لاروهای کمتر از ۳۶ ساعت) به تعداد ۱۵۰ شاخون از یک کندوی آرام و پر محصول تهیه شدند و به کندوچه‌های پرورش ملکه انتقال یافتند و بعد از جفت‌گیری به روش طبیعی و بعد از اطمینان از تخم‌ریزی و سلامت ملکه به لحاظ فنوتیپی، به تعداد ۴۸ کندو که دارای جمعیت مناسب بودند معرفی شدند. جهت تحریک ملکه برای تخم‌گذاری، تمامی کندوها با شربت متوسط تغذیه شدند. برای تهیه شربت، شکر سفید را در آب ولرم به نسبت ۱ به ۱ مخلوط نموده تا کاملاً حل شود. سپس برای هر تیمار ۳ لیتر شربت در ظرف‌های مخصوص جدا شد. در کنار تغذیه آزاد (پرواز و استفاده از گل‌های مزارع) از محلول شربت و اسید آمینه طبق برنامه و به صورت روزانه با پیمانه‌ی مدرج به میزان ۲۵۰ میلی‌لیتر برای هر کندو داده می‌شد و این کار تا ۵ تیرماه تکرار شد.

قبل از شروع آزمایش، کندوها از نظر جمعیت زنبوران بالغ، تعداد نوزادان، و میزان ذخیره گرده و عسل یکسان‌سازی

شدند. برای اندازه‌گیری میزان جمعیت از معیار قاب استفاده شد به طوری که پر بودن دو طرف قاب پوشیده از جمعیت یک قاب محسوب شده و کمتر از آن کسری از عدد یک در نظر گرفته شد. میزان گرده نیز توسط قاب‌های درجه‌بندی اندازه‌گیری شد. به عنوان مثال، میانگین گرده برای کلنی‌ها، یک قاب در نظر گرفته شد و به منظور یکسان‌سازی، کلنی‌هایی که گرده آن‌ها بیشتر از یک قاب بود از گرده آن‌ها برداشته شد و به کلنی‌هایی که گرده آن‌ها کمتر از یک قاب بود اضافه شد. بدین ترتیب میزان هر کدام از صفت‌ها در تمامی کلنی‌ها اندازه‌گیری شد و سپس براساس میانگین محاسبه‌شده، تمامی کلنی‌ها همگن شدند. بعد از انجام عملیات یکسان‌سازی و اطمینان از اینکه کندوها دارای جمعیت یکسان و دارای ملکه با توانایی تخم‌ریزی یکسانی هستند برای انجام آزمایش آماده شدند. سپس کندوها به صورت تصادفی به ۴ تیمار (هر تیمار شامل ۱۲ کندوی مدرن لانگستروت) تقسیم شدند. تیمارها شامل: ۱) گروه شاهد (شربت شکر روزانه به میزان ۲۵۰ میلی‌لیتر بدون اسید آمینه)، ۲) شربت شکر حاوی اسید آمینه ال متیونین، ۳) شربت شکر حاوی اسید آمینه ال لیزین و ۴) شربت شکر حاوی مخلوط اسیدهای آمینه ال متیونین و ال لیزین بود. میزان استفاده از اسید آمینه‌ها یک گرم به ازای هر لیتر شربت بود. لازم به ذکر است که اسید آمینه‌های مذکور با ترازی دیجیتال برای مصرف روزانه وزن شده و در جای خشک و خنک و دمای کمتر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند. در این آزمایش از آمینواسید ال متیونین (*L-Methionine*) با خلوص ۹۹ درصد و با نام اختصاری *L-Met100* ساخت کشور مالزی تحت لیسانس کشور کره (سئول) و آمینواسید ال لیزین (*L-Lysine*) با خلوص ۹۹ درصد ساخت کشور اندونزی تحت لیسانس کشور کره (سئول) استفاده شد.

در طول زمان آزمایش هر ۱۱ روز یک‌بار کندوهای مربوط به هر تیمار مورد بررسی قرار گرفت و میزان جمعیت و میزان تخم‌گذاری ملکه و پرورش نوزادان (لارو و شفیره)

آزمایش نشان داد که تیمارها تمایلی به مصرف شربت‌های حاوی ۱/۵ و ۲ گرم اسیدآمینو را از خودشان نشان ندادند و همچنین مصرف شربت حاوی ۰/۵ گرم اسیدآمینو تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد در میزان تخم‌گذاری، جمعیت کلنی و تولید عسل نشان نداد. بنابراین ۱ گرم اسیدآمینو در شربت به عنوان بهترین دوز در آزمایش حاضر مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج مقایسه میانگین اثر اسیدآمینوها بر میزان جمعیت کلنی در دوره‌های زمانی مختلف در جدول ۱ آورده شده است. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که در دوره‌های زمانی ۱ و ۲ اثر مخلوطی از اسیدآمینوهای لیزین و متیونین در تغذیه تکمیلی زنبوران عسل نسبت به گروه شاهد و گروه‌های لیزین و متیونین معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ) و جمعیت کلنی را افزایش داد. اما در دوره سوم آزمایش در این صفت تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). جمعیت کلنی‌ها، در دوره ۴ و در میانگین کل دوره‌ها نیز تفاوت معنی‌داری بین تیمار چهارم و تیمار شاهد داشت ( $P < 0/05$ ). به طوری- که تیمار متیونین/لیزین بالاترین (۱۲/۶ و ۹/۴۲) قاب به ترتیب در دوره ۴ و میانگین دوره‌ها) و تیمار شاهد کمترین (۱۰/۴ و ۸/۱۹) قاب به ترتیب در دوره ۴ و میانگین دوره-ها) میزان جمعیت را داشتند (جدول ۱). اما زمانی که اسیدهای آمینه لیزین و متیونین به صورت جداگانه در تغذیه تکمیلی زنبوران عسل مورد استفاده قرار گرفتند تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها در دوره ۴ و میانگین دوره‌ها نشان ندادند ( $P < 0/05$ ).

**اثر تغذیه اسیدآمینوها بر میزان تخم‌گذاری ملکه زنبورعسل:** همچنان‌که در جدول ۲ مشاهده می‌شود در دوره اول بیشترین میزان تخم‌ریزی ملکه در کندوهای مشاهده شد که با شربت حاوی مخلوطی از اسیدآمینوهای لیزین و متیونین تغذیه شده بودند (۲۴۲ سانتی‌متر مربع)، به طوری که تفاوت این تیمار نسبت به تیمار شاهد و تیمار

اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری میزان جمعیت از معیار قاب استفاده شد، به طوری‌که اگر دو طرف قاب پوشیده از جمعیت بودند، یک قاب کامل در نظر گرفته شد و اگر دو طرف قاب به صورت کامل پوشیده از جمعیت نبود، کسری از عدد یک در نظر گرفته می‌شد. این صفت در چهار دوره اندازه‌گیری شد. همچنین میزان تخم‌گذاری ملکه و پرورش نوزادان (میزان لارو، شفیره) نیز در هر ۱۱ روز یک‌بار اندازه‌گیری شد. برای این منظور سطحشان به وسیله قاب‌های درجه‌بندی شده (بر حسب سانتی‌متر مربع) اندازه‌گیری شد. به این صورت که یک کادر خالی به وسیله سیم به مربع‌های ۵×۵ سانتی‌متر مربع تقسیم شد که مساحت هر مربع ۲۵ سانتی‌متر مربع بود و در داخل هر مربع ۱۰۰ سلولشان قرار می‌گرفت. با قرار دادن قاب خالی روی قاب‌های حاوی تخم و نوزاد، تعداد مربع‌ها مشخص شد و مساحت آنها محاسبه شدند (۱۰). میزان عسل تولیدی در اواسط مردادماه و ۴۵ روز پس از پایان دوره مصرف اسیدآمینوها اندازه‌گیری شد. برای این منظور با وزن کردن قاب‌های هر کندو، وزن عسل تولیدی در هر تیمار اندازه‌گیری شد. این مطالعه با ۴ تیمار و در ۱۲ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. داده‌های حاصل توسط برنامه SAS 9.2 و با استفاده از رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

## نتایج

**اثر تغذیه اسیدآمینوها بر میزان رشد جمعیت کلنی زنبورعسل:** در ابتدا لازم به توضیح است که برای رسیدن به دوزهای اسیدآمینوهای مورد استفاده در این آزمایش، یک پیش‌آزمایشی با آمینواسیدهای ال لیزین و ال متیونین و همچنین ترکیبی از این دو اسیدآمینو در سال ۱۳۹۷ انجام گرفت. به طوری‌که کندوها با ترکیب متفاوتی از اسیدآمینوها به میزان ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ گرم به صورت مخلوط با یک لیتر شربت یک‌به‌یک تغذیه شدند. نتایج

متیونین (به ترتیب ۱۶۸ و ۱۷۷ سانتی‌متر مربع) در سطح ۵٪ معنی‌داری بود. در دوره ۳ آزمایش و میانگین کل دوره-ها نیز بیشترین مقدار تخم‌ریزی ملکه در تیمار متیونین/لیزین مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد از نظر

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر تغذیه اسیدآمینه بر میزان رشد جمعیت کلنی زنبورعسل (قاب)

تیمارهای آزمایشی	دوره ۱	دوره ۲	دوره ۳	دوره ۴	میانگین دوره‌ها
شاهد	۶/۲۵ <sup>b</sup>	۷/۴۲ <sup>b</sup>	۸/۵	۱۰/۴ <sup>b</sup>	۸/۱۹ <sup>b</sup>
متیونین	۶/۵۸ <sup>b</sup>	۷/۵۸ <sup>b</sup>	۸/۸۳	۱۱/۵ <sup>ab</sup>	۸/۶۲ <sup>ab</sup>
لیزین	۶/۵۰ <sup>b</sup>	۷/۶۷ <sup>b</sup>	۸/۷۵	۱۱/۶ <sup>ab</sup>	۸/۵۰ <sup>ab</sup>
متیونین/لیزین	۷/۲۵ <sup>a</sup>	۸/۴۲ <sup>a</sup>	۹/۳۳	۱۲/۶ <sup>a</sup>	۹/۴۲ <sup>a</sup>
SEM	۰/۱۹	۰/۲۲	۰/۲۷	۰/۴۳	۰/۳۰
pvalue	۰/۰۰۳۶	۰/۰۱۲	۰/۱۹۰	۰/۰۱۵	۰/۰۳۹

<sup>ab</sup> در هر ستون میانگین‌هایی که حروف مشترکی ندارند دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر تغذیه اسیدآمینه بر میزان تخم‌گذاری ملکه زنبورعسل (سانتی‌متر مربع)

تیمارهای آزمایشی	دوره ۱	دوره ۲	دوره ۳	دوره ۴	میانگین دوره‌ها
شاهد	۱۶۸ <sup>b</sup>	۲۴۸	۲۷۳ <sup>b</sup>	۳۲۵	۲۵۳ <sup>b</sup>
متیونین	۱۷۷ <sup>b</sup>	۲۵۷	۲۸۰ <sup>ab</sup>	۳۴۴	۲۶۳ <sup>ab</sup>
لیزین	۱۹۴ <sup>ab</sup>	۲۵۳	۲۹۷ <sup>ab</sup>	۳۳۹	۲۶۸ <sup>ab</sup>
متیونین/لیزین	۲۴۲ <sup>a</sup>	۲۷۶	۳۳۲ <sup>a</sup>	۳۵۷	۳۰۱ <sup>a</sup>
SEM	۱۶/۴	۱۷/۳	۲۰/۳	۲۳/۱	۲۱/۲
pvalue	۰/۰۰۶	۰/۲۴	۰/۰۱۴	۰/۱۵	۰/۰۲۱

<sup>ab</sup> در هر ستون میانگین‌هایی که حروف مشترکی ندارند دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

( $P < 0.05$ ). همچنین در دوره اول، تیمار متیونین نیز میزان پرورش نوزادان را به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) نسبت به گروه شاهد افزایش داد (۸۵۱ در مقابل ۷۶۹ سانتی‌مترمربع). میزان پرورش نوزادان در دوره سوم تحت تأثیر مصرف آمینواسیدها قرار نگرفت ( $P > 0.05$ ).

اثر تغذیه اسیدآمینه‌ها بر میزان پرورش نوزادان زنبورعسل: نتایج اثر اسیدآمینه‌ها بر میزان پرورش نوزادان در دوره‌های زمانی مختلف در جدول ۳ آورده شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که در صفت میزان پرورش نوزادان، تیمار متیونین/لیزین نسبت به تیمار شاهد در دوره‌های ۱، ۲، ۴ و میانگین دوره‌ها تأثیر معنی‌داری داشت

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تغذیه اسیدآمینه بر میزان پرورش نوزادان زنبورعسل (سانتی‌متر مربع)

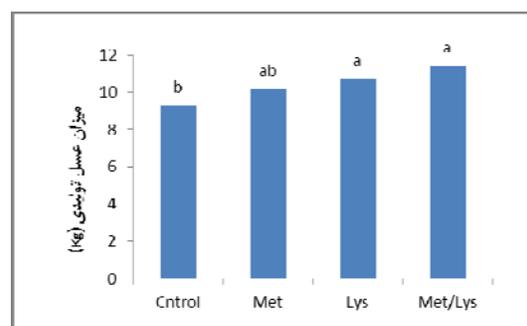
تیمارهای آزمایشی	دوره ۱	دوره ۲	دوره ۳	دوره ۴	میانگین دوره‌ها
شاهد	۷۶۹ <sup>b</sup>	۸۷۱ <sup>b</sup>	۹۵۳	۱۱۳۵ <sup>b</sup>	۹۳۲ <sup>b</sup>
متیونین	۸۵۱ <sup>a</sup>	۸۹۱ <sup>ab</sup>	۹۹۸	۱۲۲۴ <sup>ab</sup>	۹۹۱ <sup>ab</sup>
لیزین	۸۲۴ <sup>ab</sup>	۹۰۵ <sup>ab</sup>	۹۸۲	۱۱۹۲ <sup>ab</sup>	۹۷۵ <sup>ab</sup>
متیونین/لیزین	۸۸۴ <sup>a</sup>	۹۶۲ <sup>a</sup>	۱۰۲۳	۱۲۸۶ <sup>a</sup>	۱۰۳۸ <sup>a</sup>
SEM	۳۲/۴	۳۶/۱	۳۸/۵	۴۲/۶	۳۷/۴
pvalue	۰/۰۱۷	۰/۰۳۴	۰/۲۵	۰/۰۱۲	۰/۰۰۸

<sup>ab</sup> در هر ستون میانگین‌هایی که حروف مشترکی ندارند دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

به‌طور معنی‌داری از میزان پروتئین در تیمارهای شاهد و متیونین بالاتر بود. در تحقیق دگروت (۱۹۵۳) نیز استفاده از اسیدهای آمینه در جیره زنبورعسل، ماده خشک و میزان نیتروژن بدن زنبورهای عسل را افزایش داد و آن‌ها نتیجه گرفتند که استفاده از اسیدآمینه ایزولوسین به میزان ۴ درصد، باعث بیشترین افزایش وزن در زنبورعسل می‌شود. نهضتی (۱۳۸۷) و نیک کار چینجانی (۱۳۹۲) بیان کردند که هرچقدر جیره غذایی زنبورعسل از نظر مواد مغذی کامل‌تر باشد نیتروژن بیشتری در بدن حشره ذخیره می‌شود. اسیدهای آمینه می‌توانند هم اثرات مهاری و هم اثرات محرکی روی تغذیه حشرات داشته باشند و گزارش شده است که اثر آمینواسیدها روی عملکرد و رشد حشرات به غلظت اسیدآمینه و نوع گونه وابسته است (۱۲ و ۱۳) و نتایج متفاوت در پژوهش‌های مختلف در ارتباط با تغذیه اسیدهای آمینه می‌تواند به همین دلیل باشد. در مطالعه‌ای زمانی که غلظت اسیدهای آمینه (مخلوطی از ۲۴ اسیدآمینه L و ۲ اسیدآمینه DL) در جیره افزایش یافت، مصرف شهد توسط زنبوران عسل کاهش یافت (۱۷). در پژوهش دیگری که روی گونه‌های مختلف زنبورعسل انجام شد، نتیجه گرفتند که افزودن اسیدآمینه به میزان ۸۰-۳۵ میلی‌مولار بر میزان مصرف شهد زنبوران عسل تأثیر معنی‌داری ندارد (۲۵).

تعداد مطالعات روی اثرات اسیدآمینه‌ها بر عملکرد زنبوران عسل محدود است اما محققین زیادی اثر منابع مختلف پروتئینی روی عملکرد و شاخص‌های رشد زنبوران عسل را مورد بررسی قرار دادند. در مطالعه‌ای بابایی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش دادند که زنبورانی که با جیره‌های حاوی پروتئین بالا تغذیه شده بودند دارای رشد جمعیت بیشتری بودند و سلامت کلنی نیز بهبود یافت. در آزمایش موسا و همکاران (۱۹۸۹) که آرد سویا و شیر خشک بدون چربی را به عنوان منابع پروتئین در جیره با گرده جایگزین کرده بودند دریافتند که پرورش نوزادان و جمعیت کلنی‌ها در تیمارهای مورد آزمایش بهبود یافت. در پژوهش جواهری

اثر تغذیه اسیدآمینه‌ها بر میزان تولید عسل: نتایج مقایسه میانگین اثر اسیدآمینه‌ها بر میزان تولید عسل در نمودار ۱ آورده شده است. میانگین وزن عسل تولیدی تحت تأثیر مصرف اسیدآمینه‌ها در سطح ۰/۰۵ قرار گرفت. به طوری که بیشترین عسل تولیدی از کندوهای جمع‌آوری شد که با شربت حاوی مخلوطی از اسیدآمینه‌های لیزین و متیونین و اسیدآمینه لیزین به‌تنهایی، تغذیه شده بودند (به ترتیب ۱۱/۴۲ و ۱۰/۷۴ کیلوگرم). وزن عسل تولیدی در زنبور-هایی که با اسیدآمینه متیونین تغذیه شده بودند نسبت به زنبورهایی که با جیره شاهد تغذیه شده بودند، تفاوت معنی‌داری نشان نداد ( $P > 0.05$ ).



نمودار ۱- اثر تغذیه اسیدآمینه‌ها بر میزان تولید عسل (کیلوگرم)

## بحث

در گزارشی امیری و همکاران (۱۳۹۶) سه نوع اسیدآمینه ضروری والین، ایزولوسین و متیونین را به جیره زنبورعسل اضافه نمودند و اثرات‌شان را روی میزان رشد جمعیت، میزان توسعه تخم‌ریزی و تعداد نوزاد و وزن خشک، پروتئین و چربی لاشه زنبوران عسل مورد بررسی قرار دادند. در این آزمایش آن‌ها دریافتند که استفاده از این اسیدآمینه‌های ضروری در تغذیه تکمیلی زنبورعسل تأثیری روی میزان رشد جمعیت زنبورعسل در دوره‌های مختلف ندارد. همچنین آن‌ها نشان دادند که بیشترین میزان تخم-گذاری ملکه و پرورش نوزادان در تیمار ایزولوسین و کمترین آن مربوط به تیمار والین بود. در این آزمایش بیشترین میزان پروتئین بدن زنبورعسل در تیمار والین مشاهده شد که با تیمار ایزولوسین تفاوتی نداشت اما

روی میزان تمایل زنبوران عسل به انواع اسیدآمینه‌ها انجام شده است، نشان داده شد که تمایل زنبورعسل به مصرف اسیدآمینه‌های مختلف متفاوت است و به مصرف بعضی از اسیدهای آمینه تمایل بیشتر و به بعضی از آنها تمایل کمتری دارد (۱۱). در آزمایش دیگری، مصرف اسیدهای آمینه فنیل آلانین، هیستیدین، ایزولوسین، لوسین، تریپتوفان، والین و ترئونین در دوره ۷ روزه اول تغذیه باعث افزایش وزن خشک زنبورعسل شدند اما در روز ۱۴ در این تیمارها کاهش وزن مشاهده شد (۱۵). اگرچه اثرات مثبت آمینواسیدها روی شاخص‌های فیزیولوژیکی زنبوران عسل در پژوهش‌های قبلی گزارش شده است (۱۵)، اما تحقیقات جامعی در ارتباط با اثرات کل اسیدهای آمینه روی میزان تخم‌گذاری ملکه، توسعه و پرورش نوزادان و میزان تولید عسل وجود ندارد. بنابراین باتوجه به نتایج این آزمایش پیشنهاد می‌شود اثر دوزهای مختلف اسیدهای آمینه لیزین و متونین روی میزان مصرف خوراک و عملکرد زنبورعسل در دوره‌های مختلف نیز مورد بررسی قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از مخلوط اسیدآمینه‌های لیزین و متونین در جیره غذایی زنبوران عسل میزان جمعیت کلنی، تخم‌ریزی ملکه و پرورش نوزادان و عسل تولیدی را نسبت به سایر تیمارها بهبود داد. بنابراین با توجه به اثرات مثبت لیزین و متونین بر عملکرد زنبوران عسل می‌توان از مخلوط این اسیدآمینه‌ها در تغذیه تکمیلی زنبوران عسل استفاده نمود و در صنعت زنبورداری بازده اقتصادی را از این طریق افزایش داد.

و همکاران (۱۳۷۸) که از مکمل‌های پروتئینی در جیره استفاده شده بود نتیجه گرفتند که استفاده از جانشین‌گرده و مکمل‌گرده با پودر کنجاله سویا، پودر گلوتن ذرت و پودر کنجاله کنجد باعث افزایش جمعیت کلنی‌ها و توسعه تخم‌ریزی و تعداد نوزادان می‌شود. هرچند که این محققین به دلایلی همچون کم بودن قابلیت هضم این جیره‌ها و همچنین خوش‌خوراک نبودن آن‌ها و وجود ترکیبات مضر در این مکمل‌ها، مصرف آن‌ها را برای تغذیه تحریکی زنبورها توصیه نکردند. در پژوهش دیگری، مصرف مخلوطی از شکر، گرده و آرد سویا جایگزین‌گرده در تغذیه تکمیلی زنبورعسل شد که این مخلوط رشد نوزادان را به میزان ۸۱٪ در زمان کمبود گرده افزایش داد (۳۰). در پژوهشی که از جیره‌های مختلف پروتئینی در تغذیه زنبورعسل اروپایی استفاده شده بود، نتیجه گرفتند که کیک‌های جانشین‌گرده و مکمل‌های گرده باعث افزایش معنی‌دار در طول عمر زنبوران کارگر، درصد ماده خشک و درصد چربی لاشه زنبوران شده است. در این آزمایش محققین پیشنهاد دادند که از مواد پروتئینی مانند کنجاله و پودر سویا، مخمر نانویی و گلوتن گندم می‌توان در تهیه مکمل‌گرده گل و کیک‌های جانشین برای مصرف زنبورعسل استفاده کرد (۶). رضایی و همکاران (۱۳۹۴) در آزمایشی اثرات مواد پروتئینی تخمیر شده روی زنبورعسل اروپایی را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نتیجه گرفتند زمانی که منابع پروتئینی تخمیر می‌شوند بر میزان مصرف غذا و میزان توسعه تخم‌ریزی و تعداد نوزادان اثر مثبتی داشته و عملکرد زنبورعسل را افزایش می‌دهد. در مطالعه‌ای درویش زاده و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند که افزودن اسیدآمینه پرولین به جیره زنبورعسل، قطر غده‌های بالا حلقی و مصرف شربت را افزایش داد. در تحقیقاتی که

### منابع

- ۱- امیری، ب.، ۱۳۹۶. بررسی اثر سه اسیدآمینه ضروری والین، متونین و ایزولوسین بر رشد جمعیت و میزان تخم‌ریزی ملکه زنبورعسل گونه معمولی (*Apis mellifera* L)، پایان‌نامه
- ۲- بابایی، س.، نهضتی پاقعه، غ.، ملک زاده، ح. و عباسی، س.،

- اروپایی *Apis mellifera* L. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۶(۲)، صفحات ۱۴۹-۱۵۷.
- ۷- محب‌الدینی، ح.، مقصود لو، ع.، دستار، ب.، و طهماسبی، غ.، ۱۳۹۷. تولید زله رویال، مقدار تیامین زله رویال و توسعه غدد هیپوفارنژیال در کلنی‌های زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera*) (Meda) تغذیه شده با سطوح مختلف تیامین، مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۳۱(۴)، صفحات ۴۰۶-۴۱۷.
- ۸- موسوی، م.، ۱۳۸۹. تعیین تنوع ژنتیکی جمعیت زنبورعسل استان‌های گیلان و مازندران با استفاده از نشانگرهای میکروساتلایت، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان.
- ۹- نهضتی، غ.، ۱۳۸۷. مطالعه هضم چند مکمل پروتئینی در زنبورعسل. پایان‌نامه دکتری علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.
- ۱۰- نیک‌کار چینیجانی، م.، ۱۳۹۲. تأثیر سطوح مختلف ویتامین C بر میزان جمعیت، تخم‌گذاری ملکه و زمستان‌گذرانی کلنی زنبورعسل *Apis mellifera*، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت.
- ۱۱- Bertazzini, M., Medrzycki, P., Bortolotti, L., Maistrello, L., and Forlani, G., 2010. Amino acid content and nectar choice by forager honeybees (*Apis mellifera* L.), *Amino Acids*, 39(1), PP: 315-318.
- ۱۲- Carter, C., Shafir, S. H., Yehonatan, L., Palmer, R. G., and Thornburg, R., 2006. A Novel Role For Prolin Inplant Floral Nectars, *Naturwissenschaften*, 93, PP: 72-79.
- ۱۳- Chang, C. H. L., 2004. Effect of Amino Acids on Larvae and Adults of *Ceratitis Capitata* (Diptera: Tephritidae), *Annals of The Entomological Society of America*, 97(3), PP: 529-535.
- ۱۴- Darvishzadeh, A., Hosseininaveh, V., Nehzati, G. H., and Nozari, J., 2015. Effect of Prolin As A Nutrient on Hypopharyngeal Glands During Development of *Apis Mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Arthropods*, 4(4), PP: 137-143.
- ۱۵- De Groot, A. P., 1953. Protein and Amino Acid Requirements of The Honeybee (*Apis Mellifica* L.). *Phys Comp Oec*, 3, PP: 197-285.
- ۱۶- Haydak, M. H., 1970. Honey Bee Nutrition.
۱۳۹۰. مصرف جیره‌های پروبی (Pro Bee) بعنوان مکمل و جانشین پروتئینی در تغذیه کارگران زنبورعسل و تأثیر آن بر وزن، ذخیره پروتئین و چربی (*Apis mellifera*). مجله علوم دامی ایران، ۳۳(۱)، صفحات ۴۳-۴۰.
- ۳- جواهری، د.، اسماعیلی، م.، نیکخواه، ع.، میرهادی، ا.، و طهماسبی، غ.، ۱۳۷۸. تغذیه تحریکی زنبوران عسل همراه با مکمل و جانشین پروتئین‌گرده و اثر آن‌ها در رشد و مقاومت کلنی‌ها و تولید عسل. شرکت جهاد تحقیقات و آموزش. صفحه ۷۶.
- ۴- رضایی، ع.، نهضتی باقلعه، غ.، مرادی شهریابک، م.، و گنج‌خانلو، م.، ۱۳۹۴. تأثیر مواد پروتئینی تخمیرشده بر مقدار خوراک مصرفی، پروتئین لاشه، پرورش نوزاد و رشد جمعیت کلنی زنبورعسل اروپایی (*Apis mellifera*). مجله علوم دامی ایران، ۳۴(۳)، صفحات ۳۴۵-۳۵۰.
- ۵- سیاوشی، ی.، بحرینی بهزاد، م.، و بهجتیان اصفهانی، م.، ۱۳۹۶. جداسازی، شناسایی و بررسی تغییرات پروتئین‌های غدد شیری زنبور عسل در سنین مختلف رشد به روش الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید سدیم دودسیل سولفات، مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۳۰(۴)، صفحات ۴۲۸-۴۳۵.
- ۶- عباسیان، ع.، و عبادی، ر.، ۱۳۸۱. تأثیر برخی منابع پروتئینی بر طول عمر، پروتئین و چربی بدن زنبورهای کارگر زنبورعسل *Annual Review Entomol*, 15, PP: 143-156.
- ۱۷- Inouye, D. W., and Waller, G. D., 1984. Responses Of Honey Bees (*Apis Mellifera*) To Amino Acid Solutions Mimicking Floral Nectars. *Ecology*, 65, PP: 618-625 (Abstract).
- ۱۸- Mevi-Schutz, J., and Erhardt, A., 2005. Amino Acids in Nectar Enhance Butterfly Fecundity: A Long-Awaited Link, *The American Naturalist*, 165(4), PP: 411-420.
- ۱۹- Musa, F. H. A., Abdalla, M. R., and E-Sarrag, M. S. A., 1989. Studies on Feeding Colonies Of Honey Bees In Sudan, In: *Proceedings of the 4th international conference on apiculture in tropical climates*, Cairo, PP: 27-28.
- ۲۰- Paoli, P. P., Donley, D., Stabler, D., Saseendranth, A., Nicolson, S. W., Simpson, S. J., and Wright, G. A., 2014. Nutritional Balance of Essential Amino Acids and Carbohydrates of The Adult Worker Honeybee Depends on Age, *Amino Acids*, 46, PP: 1449-1458.
- ۲۱- Rammesh, R., and Pankiw, T., 2007. Effects of Protein- Constrained Droid Food On Honey Bee (*Apis Mellifera* L.) Pollen Foraging And Colony

- Growth. British Ecological Society, 61, PP: 1471-1478.
- 22- Rathman, E. S., Lanza, J., and Wilsan, J., 1990. Feeding Preferences of Flesh Flies Sarcophaga Bullata For Sugar-Only Vs Sugar-Amino Acid Nectars, American Midland Naturalist, 1242, PP: 379-389 (Abstract).
- 23- Rogala, R., and Szymas, B., 2004. Nutritional Value for Bees of Pollen Substitute Enriched with Synthetic Amino Acids Part II, Biological Methods, Journal of Apicultural Science, 48(1), PP: 29-36.
- 24- Roulston, T. H., and Cane, J. H., 2000. Pollen nutritional content and digestibility for animals, Plant Systematics and Evolution, 222, PP: 187-209.
- 25- Roubik, D. W., Yanega, D., Aluja S. M., Buchmann, S. L., and Inouye, D. W., 1995. On Optimal Nectar Foraging by Some Tropical Bees (Hymenoptera: Apidae), Springer Verlag, 26(3), PP: 197-211.
- 26- Ruan, T., Li, L., Peng, X., and Wu, B., 2017. Effects of methionine on the immune function in animals, Health, 9, PP: 857-869.
- 27- Somerville, D., and Nicol, H. I., 2002. Mineral Content of Honeybee-Collected Pollen from Southern New South Wales, Australian Journal of Experimental Agriculture, 42, PP: 1131-1136.
- 28- Somerville, D., 2005. Fat Bees, Skinny Bees, A Manual On Honey Bee Nutrition for Beekeepers, RIRDC Publication, No 05/054.
- 29- Szymas, B., and Jedruszuk, A., 2003. The Influence of Different Diets on Haemocytes of Adult Worker Honey Bees, *Apis Mellifera*, Apidologie, 34, PP: 97-102.
- 30- Wali-Ur, R., 1991. Management, Studies to Overcome Adversities in Bee Culture, Pakistan Journal of Forestry, 41(3), PP: 130-134.

## **The Effects of L-methionine and L-lysine supplementation on population growth, Queen egg laying, brood rearing and honey production in Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*)**

**Panahalizadeh S., Vahedi V. and Boustan A.**

**Dept. of Animal Science, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, I.R. of Iran.**

### **Abstract**

The aim of the present study was to characterize the effects of L-methionine and L-lysine supplementation on population growth, honey bee (*Apis mellifera meda*) Queen egg laying, brood rearing and honey production. This study started in 17 May to 1 July continued for 45 days in Ardabil province. For this experiment, 48 hives was chosen and colonies equalized for environment condition, population, honey and pollen store and same sister queens. The experiment was conducted in a completely randomized design with 4 treatments and 12 replicates. The experimental treatments were: 1) control group (sugar syrup without amino acid supplementation) and treatments 2, 3 and 4 were fed with sugar syrup with Methionine, Lysine and Lysine and Methionine mix, respectively. The results showed that, in first and second periods, highest population was observed in Met/Lys treatment ( $P > 0.05$ ). In fourth and mean of periods, the highest populations of colonies were belonging to the Met/Lys group (12.6 and 9.42 frame, respectively) and the lowest population (10.4 and 8.19 frame, respectively) was belonging to the control. In all of periods, laying performance of queens was increased significantly by feeding Met/Lys compared to the control ( $P < 0.05$ ). For brood rearing and honey production, the best performance was obtained by colonies supplemented with Met/Lys treatment as well. In overall, our study confirms the positive effectiveness of feeding Met/Lys on population size, laying performance of queens and honey production.

**Key words:** Honey bee, L- methionine, L-lysine, population growth, Queen Egg laying