

اثر روش کلوآک برد و ۲۴ ساعته بر تولید ژله رویال و تاثیر آن بر اقتصاد زنبورستان

محسن علمی^{۱*}، وحید دانش^۱، غلامحسین طهماسبی^۲، نعمت‌اله اسدی^۳ و رضا علیمحمدلو^۴

تاریخ دریافت: ۹۷/۸/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۵/۵

^۱ پژوهشگر مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی

^۲ استاد پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

^۳ پژوهشگر موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

^۴ کارشناس مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی

* مسئول مکاتبه: Email: elmi_mo_85@yahoo.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: روش‌های کلوآک برد و ۲۴ ساعته جزو کاربردی‌ترین روش‌های پرورش ملکه می‌باشند که در ایران تا حدودی پرورش دهندگان ملکه با آنها آشنا هستند. **هدف:** در این بررسی تلاش شد کاربرد دو روش عملی پرورش ملکه به منظور تولید ژله رویال و تاثیر نوع روش بر درصد پذیرش لارو و مقدار ژله رویال تولیدی از هر کندو بررسی و مقایسه شود. **روش کار:** محل اجرا استان آذربایجان شرقی و زمان آن سال ۱۳۹۵ بود. ۳۰ کلنی زنبورعسل دارای ملکه خواهری یکساله و محتویات یکسان به سه گروه بطور تصادفی تقسیم گردید. آزمایش در قالب طرح فاکتوریل ۲×۳ با طرح پایه کاملاً تصادفی با دو فاکتور روش کار و زمان اندازه‌گیری انجام شد. ۱۰ کلنی به روش ۲۴ ساعته، ۱۰ کلنی به روش کلوآک برد سازماندهی و ۱۰ کلنی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. تعداد ۴۵ سلول پیوندی در هر کندو گذاشته شد. آزمایش در سه ماه متوالی اردیبهشت، خرداد و تیر تکرار شد. برداشت ژله رویال روز سوم پیوند انجام شد. کلنی‌های شاهد به منظور محاسبه هزینه فایده در نظر گرفته شد. **نتایج:** نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد پایین‌ترین درصد پذیرش در تیرماه و بالاترین آن در خرداد ماه اتفاق می‌افتد ($P<0/05$). بیشترین مقدار ژله رویال از هر کندو در اردیبهشت ماه و کمترین آن در تیر ماه بود ($P<0/05$). مقدار ژله رویال به دست آمده از هر سلول در روش کلوآک برد (۲۶۲/۶۶ میلی‌گرم) بیشتر از روش ۲۴ ساعته (۲۳۶/۸۷ میلی‌گرم) بود ($P<0/05$). با در نظر گرفتن قیمت هر کیلوگرم عسل و ژله به ترتیب ۲۰۰ و ۵۰۰۰۰ هزار ریال، مبلغ ۹۱۹/۵ هزار ریال درآمد اضافی از هر کندو به دست می‌آید. **نتیجه گیری نهایی:** نتایج حاصل نشان داد که اجرای هر کدام از این روشها با توجه به قدرت کلنی‌ها و شرایط زنبورستان درآمد حاصل از کندوها را به میزان قابل توجهی افزایش خواهد داد.

واژگان کلیدی: پیوند زنی، زنبورعسل، ژله رویال، کلوآک برد، ۲۴ ساعته

مقدمه

ژله رویال، ترشحات غدد زیرحلقی^۱ و آرواره‌ای^۲ زنبوران کارگر جوان (۱۵-۴ روزه) است که در داخل کندو برای تغذیه زنبور ملکه و لاروهای جوان مورد استفاده قرار می‌گیرد. ژله رویال تازه یک ماده کرمی شکل و سفید رنگ با مزه‌ای ترش و گزنده بوده و ترکیبات شیمیایی آن بسیار پیچیده است. بطور متوسط این ماده حاوی ۷۰-۶۰ درصد آب، ۱۸-۹ درصد پروتئین، ۱۸-۸ درصد کربوهیدرات، ۸-۳ درصد چربی، ۸-۳/۰ درصد خاکستر بوده و همچنین ویتامین‌های C و گروه B و سایر مواد فعال بیولوژیکی نیز در آن وجود دارد (بوگدانف ۲۰۱۲).

تا اواخر قرن ۱۹ هیچ کس نمی‌دانست ژله رویال یکی از محصولات زنبورداری است. غذای زنبوران کارگر، نر و ملکه متفاوت است (بوگدانف ۲۰۱۲). در دهه‌های ۱۹۶۰ و ۱۹۷۰ تحقیقات متمرکزی برای شناسایی ماده کلیدی ملکه انجام گرفت (رمبول و دایتز ۱۹۶۵ و رمبول و لاکنر ۱۹۷۸). در این تحقیقات روشن شد که مواد تشکیل دهنده اصلی غذای ملکه و کارگران از جمله پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها یکسان است اما ژله رویال دارای اسید آمینه‌ها، نوکلئوتیدها و ویتامین‌های بیشتری است. الگوی اسید چرب ژله رویال نیز با ژله کارگر متفاوت است (لرکر و همکاران ۱۹۸۴). هورمون جوانی موجود در ژله رویال در تبدیل شدن لارو به ملکه نقش دارد (رمبول ۱۹۸۷). همچنین معلوم شده که تغذیه از فروکتوز و گلوکز به مقدار کم باعث تولید کارگر و با مقادیر زیاد از این قندها باعث تولید ملکه می‌شود (آسنکوت و لنسکی ۱۹۸۸). فرضیه دیگری که از نتایج تحقیقات متفاوت حاصل شده است، پیشنهاد می‌کند که ویسکوزیته صحیح ژله رویال همراه با تغذیه زیاد فاکتورهای کلیدی برای تولید ملکه می‌باشند (بوگدانف ۲۰۱۲).

ملکه به دلیل تغذیه با ژله رویال دارای تفاوت‌های مورفولوژیکی، مدت رشد و نمو، طول زندگی و رفتاری با کارگران است. به دلیل اثرات بیولوژیکی اعجاب انگیز ژله رویال بر روی زنبوران ملکه، انتظار می‌رود با مصرف ژله رویال توسط انسان نیز این اثرات مشاهده شود (بوگدانف ۲۰۱۲).

به همین دلیل بشر نیز شروع به استفاده از ژله رویال نمود. باور بر این است که این ماده سیستم ایمنی را تقویت و بدن را قوی می‌کند، تحریک کننده سوخت و ساز است، فعالیت غدد درون ریز را بهبود می‌بخشد، بر سیستم‌های عصبی مرکزی و قلبی عروقی تأثیرات مثبتی دارد. همچنین برای درمان بیماری‌هایی مثل لوسمی، سرطان، فشارخون بالا، کلسترول بالا و ناباروری در مردان و زنان مفید است (شاهینلر ۲۰۰۵ و کرل ۱۹۹۶). با افزایش تحقیقات در مورد روش‌های تولید و استفاده و پی بردن به خواص محصولات زنبورعسل، استفاده از آنها به عنوان مکمل‌های غذایی و دارویی نیز در حال افزایش می‌باشد. در نتیجه ژله رویال در بسیاری از کشورهای جهان به عنوان یک محصول زنبورداری شناخته شده است (شاهینلر ۲۰۰۵).

کشور چین بزرگترین تولید کننده و صادر کننده ژله رویال در جهان است (کرل ۱۹۹۶). سالانه بیش از یک هزار تن ژله رویال در چین تولید می‌شود (چن و همکاران ۲۰۰۲) که قسمت عمده آن به ژاپن، اروپا و آمریکا صادر می‌شود. در رده‌های بعدی کره، تایوان و ژاپن و برخی کشورهای شرق اروپا قرار دارند (کرل ۱۹۹۶). آمار دقیقی از مقدار ژله رویال تولید شده در ایران وجود ندارد ولی آنچه مسلم است این است که روز به روز تقاضا برای مصرف این ماده ارزشمند در حال افزایش است.

در دانشگاه زیجیانگ چین سیستمی طراحی شده است که در آن هر سه روز ۱۵۰ گرم و سالانه ۵/۷ کیلوگرم از هر کلنی ژله برداشت می‌شود (چن و همکاران ۲۰۰۲).

² Mandibular¹ Hypopharyngeal

در این سیستم از زنبوران عسل اصلاح نژاد شده و پر- جمعیت، برای تولید ژله استفاده می‌شود، از تعداد سلول- های پیوندی و لاروهای با سن مناسب، تجهیزات مخصوص، تغذیه کمکی استفاده می‌شود، با شناخت از محیط و بکار بردن تکنیک‌های خاص مدیریتی دوره تولید ژله رویال طولانی می‌شود، زنبورداران با تمرین زیاد مهارت زیادی در عملیات اجرایی پیدا می‌کنند، ساختار شان‌ها و قاب‌ها به منظور تولید ژله اصلاح شده است و شیوه‌های پرورش لاروهای مورد استفاده برای پیوند بهبود یافته است (چن و همکاران ۲۰۰۲).

ژله رویال را می‌توان از سلول‌های ملکه ایجاد شده توسط کلنی‌های در حال بچه‌دهی برداشت نمود ولی به عقیده بوگدائف (۲۰۱۵) زنبوران عسل در حالت طبیعی ژله رویال کمی تولید می‌نمایند. جواهری (۱۳۷۹) با مقایسه تاثیر سلول‌های مومی دست‌ساز با سلول‌های طبیعی ملکه زنبور عسل برای تولید ژله رویال به این نتیجه رسید که با استفاده از سلول‌های مومی دست‌ساز در شش مرحله جمعاً ۲۰/۰۰ گرم ژله برداشت می‌شود ولی در سلول‌های طبیعی در این مدت ۹/۱۷ گرم ژله تولید می‌شود. بنابراین برای تولید مقادیر انبوه باید زنبورستان را برای اینکار مجهز نموده و از سیستم‌های پرورش ملکه مدرن استفاده نمود.

بطور کلی سازماندهی کلنی‌های سلول‌ساز (پرستار) برای پرورش ملکه یا تولید ژله رویال به دو دسته تقسیم می‌شود که یکی از آنها روش کندوهای بی‌ملکه و دیگری کندوهای با ملکه می‌باشد. البته بسته به امکانات و مهارت زنبورداران هر کدام از این روش‌ها به شیوه‌های گوناگون اجرا می‌شود و ممکن است در مواردی روش‌های بینابینی وجود داشته باشد (طهماسبی ۱۳۹۳). روش کلواک برد اولین بار توسط یک زنبوردار هلندی بنام هری کلواک ابداع گردید. در این روش ابتدا سلول‌های ملکه در یک وضعیت بی‌ملکه‌ای قرار گرفته سپس در وضعیت حضور ملکه به رشد خود ادامه می‌دهند. سازماندهی کلنی‌های این تیمار بدین صورت

انجام می‌شود که مابین دو طبقه شبکه ملکه قرار داده شده و قاب‌های نوزادان جوان به طبقه بالا منتقل می‌گردد ملکه، قاب‌های شفیره و شان‌های خالی در طبقه پایین مستقر می‌گردد. پس از چند ساعت یک پارچه بر روی شبکه ملکه مابین دو طبقه قرار داده شده و کندو ۱۸۰ درجه تغییر جهت داده می‌شود. بطوری‌که دریچه پرواز طبقه بالا به سمت اصلی و دریچه پرواز طبقه پایین به سمت مخالف قرار می‌گیرد. یک روز بعد قاب‌های پیوندی در طبقه بالایی با برداشتن قاب‌های لاروی بجای آنها قرار داده می‌شود. یک روز بعد پارچه بین طبقات برداشته شده و ارتباط بین دو طبقه در حالی که شبه ملکه هنوز سر جای خود است، برقرار می‌شود تا سلول- های ملکه رشد نمایند (تاج آبادی و بحرینی ۱۳۹۱).

روش ۲۴ ساعته رایج‌ترین روش تشکیل کلنی‌های شروع کننده در زمان پرورش ملکه است. برای تشکیل این کلنی‌ها می‌توان از کلنی‌های یک طبقه قوی یا کلنی دو طبقه استفاده کرد. در سازماندهی این کلنی‌ها ملکه و همه قاب‌های تخم و لارو را از کندو خارج کرده و فقط قاب‌های شفیره در دو طرف و کنار قاب‌های عسل باقی می‌ماند. در کندو باید زنبوران جوان و یک قاب گرده نیز وجود داشته باشد و با شربت ۵۰٪ تغذیه شود. کلنی ۲۴ ساعت بدون ملکه باقی می‌ماند تا احساس یتیمی در زنبورهای کارگر بوجود آید. سپس قاب‌های پیوندی را می‌توان به این کندو منتقل کرد (طهماسبی ۱۳۹۳).

روش‌های کلواک برد و ۲۴ ساعته جزو کاربردی‌ترین روش‌های پرورش ملکه می‌باشند که در ایران هم تا حدودی پرورش دهندگان ملکه با آنها آشنا هستند. این دو روش از نظر عملی در زنبورستان‌های کشور قابل اجرا بوده و در این طرح تلاش شد ضمن بررسی و مقایسه کاربرد دو روش عملی پرورش ملکه به منظور تولید ژله رویال امکان تولید ژله رویال از این روش‌ها بطور عملی نشان داده شده و در مرحله دوم تولید عسل کلنی‌های شاهد با کلنی‌های تحت آزمایش مقایسه و تحلیل اقتصادی از تولید ژله با این روش‌ها ارائه شود.

مواد و روش‌ها

مکان و زمان آزمایش

این پروژه در زنبورستان شرکت زیست فناوران زنبورعسل تبریز به ظرفیت ۳۰۰ کلنی زنبورعسل نژاد ایرانی^۱ انجام گرفت. در مدت اجرای پروژه (۱۳۹۴ لغایت ۱۳۹۵) این زنبورستان در زمستان در منطقه گرمسیری جنوب کشور (شوشتر و مسجد سلیمان) و در بهار و تابستان در منطقه سردسیری (آذربایجان شرقی) استقرار داشت. پرورش ملکه به منظور تولید ملکه‌های خاوه‌ری در اردیبهشت و خرداد ۱۳۹۴ انجام گرفت. ملکه‌های تولیدی در طی بهار و تابستان ۱۳۹۴ به کلنی‌های آزمایشی معرفی شد. آماده سازی کلنی‌ها در جریان سال ۱۳۹۴ ادامه یافت. مرحله اصلی آزمایش در سال ۱۳۹۵ در دو منطقه ۴۵ کیلومتری جاده اهر-هوراند به عنوان مرتع میانبند و ۲۵ کیلومتری جاده اهر-کلیبر به عنوان مرتع بیلاقی انجام گرفت.

آماده سازی و سازمان‌دهی کلنی‌های آزمایشی

ابتدا به تعداد دو برابر مورد نیاز ملکه خاوه‌ری ناتنی پرورش داده شد و در جریان سال ۱۳۹۴ به کلنی‌های مورد آزمایش معرفی و از این کلنی‌ها مراقبت‌های لازم به عمل آمد. تعداد ۳۰ فروند از این کلنی‌ها شماره گذاری و به سه گروه ۱۰ تایی تقسیم‌بندی شد. در سال ۱۳۹۵ نیز کلنی‌ها تحت شرایط مدیریتی یکسان نگهداری و محتویات کندوها اعم از میزان جمعیت، ذخایر شهد و گرده و میزان نوزادان اندازه گیری گردید.

با توجه به اینکه کلنی‌های تیمار دو یعنی روش کلواک برد نیاز به جمعیت بیشتری نسبت به کلنی‌های روش بیست و چهار ساعته داشتند، تلاش شد با افزودن تعدادی قاب حاوی تخم، لارو و شفیره و زنبوربالغ از کندوهای پشتیبان شرایط لازم برای برقراری کندوهای دو طبقه در کلنی‌های تیمار کلواک برد برقرار شود. تعداد هر کدام

از محتویات کندو در تیمارهای مختلف در جدول ۱ ارائه شده است. برای اندازه گیری محتویات کندو اعم از نوزادان و ذخایر غذایی از یک قاب مدرج استفاده شد و سپس بر اساس تعداد قاب محاسبه شد. تعداد زنبوران براساس تعداد قاب‌های پوشش داده شده توسط جمعیت زنبوران بالغ محاسبه شد.

سازماندهی کلنی‌های هر تیمار به شرح زیر انجام گرفت:

سازماندهی کلنی‌های تیمار یک- روش ۲۴ ساعته

سازماندهی کلنی‌های این تیمار بدین طریق انجام شد که ابتدا ملکه کلنی‌ها برداشته شد. ۲۴ پس از آن تمامی قاب‌های کندو بررسی و تمام شاخون‌های احتمالی حذف گردید و این کلنی‌ها آماده برای استقرار قاب پیوندی شد.

سازماندهی کلنی‌ها تیمار ۲- روش کلواک برد

سازماندهی کلنی‌های این تیمار بدین صورت انجام شد که مابین دو طبقه شبکه ملکه قرار داده شده و قاب‌های نوزادان جوان به طبقه بالا منتقل گردید. ملکه، قاب‌های شفیره و شان‌های خالی در طبقه پایین مستقر شد. پس از چند ساعت یک پارچه بر روی شبکه ملکه مابین دو طبقه قرار داده شده و کندو ۱۸۰ درجه تغییر جهت داده شد، بطوریکه دریچه پرواز طبقه بالا به سمت اصلی و دریچه پرواز طبقه پایین به سمت مخالف قرار گیرد. یک روز بعد قاب‌های پیوندی در طبقه بالایی با برداشتن قاب‌های لاروی بجای آنها قرار داده شد. یک روز بعد پارچه بین طبقات برداشته شده و ارتباط بین دو طبقه در حالی که شبکه ملکه هنوز سر جای خود است برقرار شد تا سلول‌های ملکه رشد نمایند.

سازماندهی کلنی های تیمار شاهد بطور روتین زنبورستان انجام شد و از این کلنی ها به عنوان شاهد برای مقایسه با کلنی های دو تیمار فوق در مورد هزینه-فایده تولید ژله رویال استفاده گردید.

¹ Apis mellifera meda

جدول ۱- نتایج حاصل اندازه گیری محتویات کندوها در کلنی های آزمایشی

Table 1- Results of hive content measurements in experimental colonies

	Mean and standard deviation of hive contents				
	Storage pollen	Storage honey	Larvae	Pupae	Adult population
Control colonies	0.90±0.22	1.75±0.21	3.66±0.51	6.50±0.20	10.77±0.35
24 hour method	0.57±0.11	1.06±0.19	2.97±0.53	4.36±0.40	8.89±0.55
Cloak board method	1.14±0.38	2.30±0.69	4.02±0.64	8.54±0.61	15.32±0.78

عملیات پیوند

از فنجانک های مومی و سوزن پیوند فلزی برای پیوند زدن استفاده شد. لاروهای یک روزه هم سن لازم برای پیوند با گذاشتن شان خالی قهوه ای در داخل فقط یک کلنی مادری ۴ روز قبل از پیوند به دست آمد. تعداد سلول های پیوند زده برای تمام کندوهای دو تیمار ۴۵ سلول در سه ردیف ۱۵ تایی بود.

برداشت ژله رویال

در روز سوم (۷۲ ساعت) بعد از پیوند قاب های پیوندی از کندوها برداشت و شماره گذاری و به اتاق پیوند منتقل شد. تعداد سلول های پذیرفته شده شمارش و ژله سلول های هر کندو با استفاده از قاشق ژله به دقت برداشت و در شیشه های ۳۵ گرمی تیره جمع آوری و در مجاورت یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه مقدار ژله به دست آمده از هر کندو با ترازو با دقت یک صدم میلی گرم توزین شد. برای برداشت ژله رویال ابتدا نصف سلول های ملکه را با استفاده از چاقوی تیز که با آب داغ گرم شد، برش داده سپس با استفاده از سوزن پیوند لارو موجود در آن برداشته و دور انداخته شد. سپس با استفاده از قاشق مخصوص ژله موجود در آنها بطور کامل برداشته شد.

صفات مورد اندازه گیری

در این بررسی دو صفت درصد پذیرش لارو توسط هر کندو، میزان تولید ژله رویال هر کندو و تاثیر زمان بر میزان ژله بدست آمده مورد ارزیابی قرار گرفت.

تکرار آزمایش و روش آنالیز آماری

این آزمایش در سه مرحله و در ماه های اردیبهشت، خرداد و تیر تکرار شد. بدین ترتیب آزمایش در قالب طرح

فاکتوریل ۲×۳ با طرح پایه کاملاً تصادفی پایه ریزی شد. در این طرح دو فاکتور روش کار (کلواک برد و ۲۴ ساعته) و زمان اندازه گیری (اردیبهشت، خرداد و تیر) وجود داشت. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و روش مدل های خطی چندصفتی آنالیز شد. در این مدل ماه و روش کار به عنوان اثرات ثابت و درصد پذیرش، مقدار ژله به دست آمده از هر کندو و میانگین مقدار ژله به دست آمده از هر سلول به عنوان متغیرهای وابسته مد نظر قرار

گرفتند. مدل آماری طرح عبارت بود از:

$$Y_{ij} = \mu + M_i + S_j + MS_{ij} + e_{ij}$$

که در آن:

- Y_{ij} : رکورد به دست آمده برای هر صفت
- M_i : تاثیر نوع روش
- S_j : تاثیر زمان
- MS_{ij} : اثر متقابل زمان در روش
- e_{ij} : خطا

نتایج

تاثیر روش مورد استفاده و زمان آزمایش بر درصد پذیرش لارو

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های به دست آمده برای صفت درصد پذیرش لارو کلنی ها در دو روش و سه ماه مختلف نشان داد بین دو روش کلواک برد و ۲۴ ساعته اختلاف معنی دار دیده نمی شود ($P > 0.05$). اثر متقابل زمان در روش نیز معنی دار نبود ($P > 0.05$). ولی این صفت تحت تاثیر زمان آزمایش قرار گرفت و بین درصد پذیرش کلنی ها در ماه های مختلف اختلاف معنی دار بود ($P < 0.05$). به دلیل معنی دار بودن تاثیر زمان بر درصد پذیرش لارو اقدام به مقایسه میانگین با استفاده از آزمون

کمترین مقدار ژله رویال در تیرماه (۸/۳۲۹۵ گرم بر کندو) به دست آمده و تفاوت آن با ماه‌های اردیبهشت و خرداد معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

جدول ۳- نتایج حاصل از مقایسه میانگین مقدار ژله رویال (گرم بر کندو) در ماه‌های مختلف آزمایش با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد

Table 3- Results of mean comparisons of the amount of royal jelly (gram/hive) in different months using Duncan's test ($p < 0.05$)

Month	Mean	Standard deviation
May -April	9.7730 ^a	1.19
June -May	9.6120 ^a	1.51
July -June	8.3295 ^b	2.07

جدول ۴- نتایج حاصل از مقایسه میانگین مقدار ژله (میلی-گرم بر سلول) در روش‌های مختلف آزمایش با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد

Table 4- Results of mean comparisons of the amount of royal jelly (mg/cell) in different methods using Duncan's test ($p < 0.05$)

Month	Mean	Standard deviation
24 hour	236.87 ^b	30.87
Cloak board	262.66 ^a	55.01

تاثیر روش مورد استفاده و زمان آزمایش بر مقدار ژله رویال بدست آمده از هر سلول

نتایج حاصل از تجزیه واریانس میانگین مقدار ژله رویال به دست آمده از هر سلول (بر حسب میلی‌گرم) در روش‌ها و زمان‌های مختلف آزمایش نشان داد بین دو روش از نظر این صفت اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$). ولی تفاوت ماه‌های مختلف و همچنین اثر متقابل زمان در روش معنی‌دار به دست نیامد ($P > 0.05$).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین محاسبه مقدار ژله رویال به دست آمده از هر سلول در دو روش مختلف در جدول ۴ آورده شده است. از این جدول بر می‌آید که مقدار ژله رویال به دست آمده از هر سلول در روش کلوآک برد (۲۶۲/۶۶ میلی‌گرم بر سلول) بیشتر از روش ۲۴ ساعته (۲۳۶/۸۷ میلی‌گرم بر سلول) می‌باشد.

دانکن گردید که نتایج این آزمون در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲ نشان می‌دهد که بیشترین درصد پذیرش لارو در ماه خرداد اتفاق افتاده است؛ هرچند که تفاوت بین درصد پذیرش در ماه‌های خرداد و اردیبهشت معنی‌دار نیست. ولی در ماه تیر درصد پذیرش افت قابل توجهی داشته و اختلاف آن با ماه‌های خرداد و اردیبهشت معنی‌دار بوده است. پایین‌ترین درصد پذیرش در تیرماه (۷۸/۷۲۰۰ درصد) و بالاترین آن در خرداد ماه (۸۵/۲۷۰۰ درصد) اتفاق افتاد.

جدول ۲- نتایج حاصل از مقایسه میانگین درصد پذیرش لارو در ماه‌های مختلف آزمایش با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد

Table 2- Results of mean comparisons of acceptance percentage of grafted larvae in different months using Duncan's test ($p < 0.05$)

Month	Mean	Standard deviation
May -April	83.5450 ^a	7.67
June -May	85.2700 ^a	7.25
July -June	78.7200 ^b	6.99

تاثیر روش مورد استفاده و زمان آزمایش بر مقدار ژله رویال بدست آمده از هر کندو

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری این عملکرد نشان داد اختلاف بین دو روش از نظر مقدار کل ژله به دست آمده از هر کندو و همچنین اثر متقابل زمان در روش معنی‌دار نیست ($P > 0.05$). ولی در اینجا نیز تاثیر زمان معنی‌دار به دست آمد ($P < 0.05$). با توجه به معنی‌دار بودن مقدار ژله رویال به دست آمده از هر کندو در ماه‌های مختلف آزمایش اقدام به مقایسه میانگین گردید که نتایج آن در جدول ۳ آورده شده است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد بیشترین مقدار ژله رویال از هر کندو در اردیبهشت ماه (۹/۷۷۳۰ گرم بر کندو) به دست آمد ولی تفاوت آن با مقدار ژله به دست آمده از هر کندو در ماه خرداد معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

جدول ۵- میانگین درصد پذیرش، مقدار ژله هر سلول (میلی گرم) و مقدار ژل هر کندو در تیمارها و زمان‌های مختلف آزمایش
Table 5- Means of acceptance percentage, amount of jelly per cell (mg), and amount of jelly per hive in different methods and periods of trial.

Method	Month	Amount of jelly per hive	Amount of jelly per cell	Percentage of admission
24 hour	April -May	9.66	252.93	85.08
	May -June	9.13	231.06	88.08
	June -July	8.46	227.61	82.62
Cloak board	April -May	10.30	257.96	82.29
	May -June	8.22	277.78	82.97
	June -July	9.36	224.37	75.53

بحث

از نتایج این آزمایش مشخص شد که زمان تاثیر زیادی بر درصد پذیرش لارو و مقدار کل ژله به دست آمده از هر کندو دارد. گزارشات دیگر تاثیر فصل و شرایط داخلی کندو را بر این صفات تایید می‌کنند (شاهینلر ۲۰۰۵، لی جیانگ ۲۰۰۱ و علمی ۱۳۹۵). به عقیده بوشلار و همکاران (۲۰۱۳) تعداد لاروهای پذیرش شده بستگی به عوامل مختلفی دارد که مهمترین آنها عبارتند از: کیفیت، قدرت و مرحله رشد و نمو کلنی‌های پرستار، سن کارگران، سن لارو پیوند شده، وجود یا عدم وجود ملکه در کلنی پرستار و طول مدتی که کلنی پرستار بدون ملکه مانده است، وجود لارو سرباز در کلنی‌های شروع کننده، تعداد سلول‌های پیوند شده، توالی و روش پرورش. همچنین شرایط محیطی تاثیرگذار برای موفقیت در پرورش ملکه عبارتند از: رطوبت، حرارت و ذخایر غذایی کلنی پرستار، جریان شهد، تغذیه کمکی، شرایط جوی و فصل. به عقیده این محققان در شرایط مدیریتی خوب حداقل ۸۰ درصد از لاروها باید مورد پذیرش قرار گیرد. به نظر می‌رسد به علت رعایت بسیاری از شرایط لازم، در این تحقیق درصد پذیرش مناسبی حاصل شده است. کومار و کومار (۲۰۰۰) میزان پذیرش لارو در زنبورعسل آسیایی را با استفاده از روش شروع کننده تاریکخانه‌ای بدون ملکه بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که در بهار میانگین پذیرش لاروهای پیوند شده ۸۵ درصد بوده و در پاییز کاهش می‌یابد. البته این محققان تعداد ۲۰ سلول پیوندی در هر شروع کننده قرار می‌دادند در حالی که در آزمایش حاضر

تعداد سلول پیوندی بیشتر از آن بود (۴۵ سلول). همچنین روش تاریکخانه‌ای بهترین شرایط را برای پذیرش لاروهای پیوندی فراهم می‌سازد ولی اجرای آن نیازمند امکانات خاصی است که در زنبورستان‌های کشور فراهم کردن آن دشوار است. حاتم و همکاران (۲۰۱۰) با مقایسه هیبریدهای نژادهای مختلف آپیس ملیفرا با زنبوران بومی نوار غزه به این نتیجه رسیدند در روش ۲۴ ساعته درصد پذیرش لاروهای پیوند شده در هیبریدهای کارنیولان ۸-۷۷ درصد، هیبریدهای ایتالیایی ۴۹-۸۸ درصد و هیبریدهای مصری ۸-۵۹ درصد می‌باشد. نژاد کارنیولان از نظر صفت پذیرش لارو در رده پایین‌تر و نژاد ایتالیایی در رده بالاتری از نژاد ایرانی قرار دارد (عبادی و احمدی ۱۳۸۳). طهماسبی و همکاران (۱۳۸۹) با مقایسه دو روش ۲۴ ساعته و ۴ ساعته در پرورش ملکه به این نتیجه رسیدند که پذیرش لارو در روش ۴ ساعته بطور معنی‌داری بیشتر از روش ۲۴ ساعته می‌باشد. که در این آزمایش روش ۴ ساعته مورد استفاده قرار نگرفته است. میانگین مقدار ژله برداشت شده از هر کندو در آزمایش علمی (۱۳۹۵) ۱۹/۷۷ گرم بود که بیش از دو برابر آزمایش حاضر است. به عقیده بوشلار و همکاران (۲۰۱۳) شرایط جوی تاثیر زیادی بر مقدار ژله رویال تولیدی هر کندو دارد. این آزمایش در سال ۱۳۹۵ انجام شده است. در این سال شرایط آب و هوایی به گونه‌ای بود که اصلاً مناسب برای پرورش ملکه و تولید ژله رویال نبود. تجربیات عینی مولف نشان داد که لاروهای پیوند شده برای تولید ملکه علیرغم اینکه درصد پذیرش بالایی نشان می‌دادند ولی

تعداد کمی از آنها تبدیل به ملکه می‌شدند که احتمالاً ناشی از فقر غذایی به ویژه کمبود گرده مغذی در طبیعت بود. حاتم و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی هیبریدهای مختلف نژادهای معروف با زنبوران بومی نوار غزه به این نتیجه رسیدند که میزان ژله بدست آمده از هر کندو در هیبریدهای کارنیولان، ایتالیایی و مصری به ترتیب ۱/۱۴۱، ۰/۹۶۶ و ۰/۵۱۹ گرم است و خاطر نشان کردند که هیبرید کارنیولان از نظر مقدار کل تولید ژله رویال بهتر از سایر هیبریدها عمل می‌کند. تعداد لاروهای پیوند شده به هر کلنی در آزمایش این محققان ۴۸ سلول و روش مورد استفاده روش ۲۴ ساعته بوده است.

علمی (۱۳۹۵) با استفاده از روش ۴ ساعته اصلاح شده در سه مرحله سه روزه از هر سلول پیوندی بطور میانگین ۲۷۴ میلی گرم ژله رویال به دست آورد که نزدیک به روش کلواک برد مورد استفاده در این آزمایش است. گزارشات دیگر حاکی از آن است که حداکثر مقدار ژله مورد انتظار از هر سلول پیوندی ۲۵۰ الی ۳۰۰ میلی گرم می‌باشد (بوگدانف ۲۰۱۲ و موتسارس و همکاران ۲۰۰۵). کومار و کومار (۱۹۹۹) بطور میانگین از هر سلول پیوندی سه روزه ۲۰۲/۹ میلی‌گرم ژله بدست آوردند که کمتر از آزمایش حاضر می‌باشد. گونه مورد استفاده برای تولید ژله در آزمایش این محققان سرانا بوده که از نظر خصوصیات تولیدی متفاوت از گونه ملیفرا می‌باشد. به نظر می‌رسد روش کلواک برد به دلیل داشتن ترکیب جمعیتی مناسب از جمله نسبت لارو به کارگر، داشتن ملکه و میزان کل جمعیت زیاد برای به دست آوردن بیشترین مقدار ژله از هر سلول کارآیی بیشتری دارد.

یکی از مزایای تولید ژله رویال از کلنی‌های آزمایشی این بود که هیچکدام از کلنی‌های مورد استفاده برای تولید ژله رویال بچه ندادند. میانگین تعداد سلول پذیرش شده در کل زمان و تیمارهای آزمایش به ترتیب ۸۲/۵۱ درصد بود. میانگین مقدار ژله به ازای هر سلول در هر مرحله از هر کندو ۲۴۹/۷۶ (میلی‌گرم بر سلول) بود. که از این نظر کلنی‌های این آزمایش در وضعیت مناسبی قرار داشتند و

گزارشات دیگر حاکی از آن است که حداکثر مقدار ژله مورد انتظار از هر سلول پیوندی ۲۵۰ الی ۳۰۰ میلی‌گرم می‌باشد (موتسارس و همکاران ۲۰۰۵). میانگین مقدار ژله رویال تولید شده از هر کندو در کل زمان‌ها و تیمارهای آزمایشی ۹/۲۴ گرم بر هر کندو در یک بار برداشت بود. میزان تولید عسل سه گروه کندو اندازه‌گیری شد به طوری که میانگین مقدار تولید عسل در کلنی‌های شاهد، روش کلواک برد و روش ۲۴ ساعته به ترتیب ۱۴/۰۵، ۱۶/۵۰ و ۱۴/۶۰ کیلوگرم بود که از این نظر هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود نداشت. در این آزمایش بطور میانگین از هر کلنی ۲۶/۳۹ گرم ژله رویال به دست آمد که معادل ریالی آن ۱۳۱۹/۵ هزار ریال می‌باشد (با در نظر گرفتن قیمت هر گرم ژله ۵۰ هزار ریال). هزینه فایده‌ی تولید ژله رویال برای کلنی‌های آزمایشی محاسبه گردید که با در نظر گرفتن قیمت هر کیلوگرم عسل و ژله به ترتیب ۲۰۰ هزار ریال و ۵۰ میلیون ریال، مبلغ ۹۱۹/۵ هزار ریال درآمد اضافی از هر کندو به دست می‌آید. در حالت کلی نتایج حاصل از این بررسی نشان داد درصد پذیرش لارو و مقدار ژله رویال تولید شده از هر کندو در هر دو روش قابل قبول است. مقدار ژله رویال تولید شده از هر سلول در روش کلواک برد بیشتر از روش ۲۴ ساعته است و در حالت کلی استفاده از روش کلواک برد برای تولید ژله رویال به دلایل زیر نسبت به روش ۲۴ ساعته قابل توصیه‌تر است:

در این روش مقدار ژله رویال بیشتری از هر سلول به دست می‌آید. نیازی به حذف ملکه نبوده و کلنی روند طبیعی رشد خود را طی می‌نماید.

در حالت کلی تولید ژله رویال با استفاده از هر کدام از روش‌های فوق باعث افزایش درآمد زنبورداران می‌شود و نتایج این آزمایش نشان داد که از نظر مقدار تولید عسل بین سه گروه کلنی آزمایشی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد بنابراین با استفاده از این روش‌ها می‌توان بدون هیچ نگرانی به تولید ژله رویال پرداخت. مزیت دیگر تولید ژله رویال این است که وقتی از کلنی‌ها به منظور تولید ژله

رویال استفاده می‌شود به دلیل بازديد زياد و برآورده کردن نیازهای ذاتی زنبوران عسل (پرورش ملکه) تمایل به بچه‌دهی آنها نیز کم می‌شود.

جدول ۶- محاسبه‌ی هزینه- فایده‌ی برداشت ژله (اعداد به هزارریال)

Table 6- Cost- income calculation of harvesting royal jelly (thousand rial)

Minor budgeting for one hive per year (thousands rials)			
1319.5	Added incomes	Added costs	
	Royal jelly production	Fix costs	
		60	Grafting comb
		10	Grafting tool
		10	Jelly spoon
		100	Grafting cell
		Variable costs	
		200	Worker
		60	Wax
Decreased costs		Decreased income	
1319.5	Total B	440	Total A
919.5		Variation in pure income (A-B)	

شرکت دانش بنیان زیست فناوران زنبورعسل تبریز در اجرای این آزمایش تشکر و قدردانی شود.

تشکر و قدر دانی: لازم است از همکاری صمیمانه همکاران بخش تحقیقات علوم دامی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی و

منابع مورد استفاده

- Asencot M and Lensky Y, 1988. The effect of soluble sugars in stored royal jelly on the differentiation of female honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae to queens. *Insect Biochemistry* 18 (2):127-133.
- Bogdanov S, 2012. The royal jelly book. Bee Product Science, www.bee-hexagon.net, 13 pp.
- Bogdanov S, 2015. Royal Jelly, Bee Brood: Composition, Health, Medicine: A Review. Bee Product Science, www.bee-hexagon.net.
- Büchler R, Andonov S, Bienefeld K, Costa C, Hatjina F, Kezic N, Kryger P, Spivak M, Uzunov A and Wilde J, 2013. Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research* 52(1):1-30.
- Chen SL, Su SK and Lin XZ, 2002. An introduction to high-yielding royal jelly production methods in China. *Bee World* 83 (2):69-77.
- Ebadi R and Ahmadi A, 2004. Honey bee rearing, Arkan, Esfahan.
- Elmi M, 2016. Royal jelly production from swarming honey bee colonies. *Animal Sciences Researches Journal* 26(3):191-200.
- Hatem Sh, Mahmoud E and Mohamed A, 2010. Some factors affecting royal jelly production from honey bee colonies at GIZA region. <https://www.researchgate.net/publication/232723946>
- Javaheri SD and Mirhadi SA, 2000. Comparison of effect of instrumental wax med cells and natural queen cells on royal jelly production. *Pajoohesh-va-Sazandegi Journal* 47: 82.

- Krell R, 1996. Value-Added Products from Beekeeping. FAO Agricultural Services Food and Agriculture Organization of the United Nations, Bulletin No. 124, Rome.
- Kumar R and Kumar NR, 2000. Queen rearing and royal jelly production in Asian honey bee *Apis cerana*. In: Asian bees and beekeeping (Matsuka M, Wongsiri S and Shrestha eds KK) Oxford and IBH Publishing House, pp. 145-147.
- Lercker G, Vecchi MA, Piana I, Nanetti A and Sabatini AG, 1984. Composition de la fraction lipidique de la gelée de larves d'abeilles reines et ouvrières (*Apis mellifera ligustica Spinola*) en fonction de l'age des larves. *Apidologie* 15 (3):303-314.
- Li J, 2001. Correlative analyses of brood ratio and royal jelly production. Proceedings of the 37th International Apicultural Congress, Durban, South Africa.
- Mutsaers M, Van Blitterswijk H, Van't Leven L, Kerkvliet J and Vande Waerdt J, 2005. Bee products: properties, processing and marketing. Agromisa Foundation, Wageningen, ISBN Agromisa: 90-8573-028-7, ISBN CTA: 92-9081-305-9.
- Rembold H and Dietz A, 1965. Biologically active substances in royal jelly. *Vitamines and Hormones* 23: 359-383.
- Rembold H and Lackner B, 1978. Vergleichende Analyse von Weiselfuttersäften. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie* 1 (2/3/4):299-301.
- Rembold H, 1987. Die Aufklärung der Kastenentstehung im Bienenstaat, In von Detfurth, H (ed.) Ein Panorama der Naturwissenschaften, Boehringer Mannheim, GmbH. Mannheim; pp 167-231.
- Sahinler N, 2005. The Effects of Season and Honeybee (*Apis mellifera L.*) Genotype on Acceptance Rates and Royal Jelly Production. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences* 29:499-503.
- Tahmasbi GH, 2014. Honey bee queen rearing. Elmi-karbordi Institute of Jahade-Agriculture pp 220.
- Tahmasbi GH, Kamali Sarvestani MA, Babaei M, Javaheri SD, Seyfi EO, Rezayi M and Habibi Mood SH, 2010. Comparison of two starter colonies 24 and 4 hours in queen rearing success. 7th National Honey Bee Research Congress, Animal Sciences Research Institute of Iran, Karaj.
- Tajabadi N and Bahreyni R, 2012. Queen rearing with new method, Cloack Board. *Iranian Honey Bee Sciences and Technologies* 4:6-11.

Effect of Cloake Board and 24 hour methods on royal jelly production and their effect on apiary economy

M Elmi^{1*}, V Danesh¹, GH Tahmasbi², NO Asadi³ and R Alimohammadlou⁴

Received: November 20, 2018

Accepted: July 27, 2019

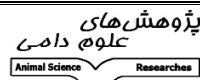
¹PhD, Department of Animal Science, East Azarbaijan Research Center for Agriculture and Natural Resources, Tabriz, Iran

²Professor, Department of Honey Bee, Animal Sciences Research Institute of Iran, Karaj, Iran

³PhD, Department of Honey Bee, Animal Sciences Research Institute of Iran, Karaj, Iran

⁴BSc, Department of Animal Science, East Azarbaijan Research Center for Agriculture and Natural Resources, Tabriz, Iran

* Corresponding Author: Email: elmi_mo_85@yahoo.com

	Journal of Animal Science/vol.29 No.4/ 2020/pp 115-126 https://animalscience.tabrizu.ac.ir	
© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. This is an open access article under the CC BY license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0)		

Introduction: Royal jelly is a secretion of mandibular and hyppopharyngeal glands of young (ages 4-15) worker honey bees that is used to feed larvae in the first three days of their lives and queen during its entire life (Bogdanov 2012). Today, production of royal jelly and its usage by human is increasing as well as improving methods of production. China is the greatest producer of royal jelly, because they use high royal jelly producing lines and specific equipment and experienced beekeepers in the process (Krell 1996; Chen et al. 2002). No data is existing about the amount of royal jelly production in Iran, otherwise its consumption is increasing. Naturally, it is possible to harvest royal jelly from natural queen cells in swarming period of colonies, but at this way the amount of harvested royal jelly is very low. Colack Board and 24 hour methods are the most common methods for yielding bee queen in Iran, but their usage in royal jelly production have not been yet examined. So, this experiment was conducted in order to survey and compare these two methods of royal jelly production and determine the effect of this method on the acceptance of grafted cells and the amount of royal jelly harvested from each grafted cell and hive. In the second stage, honey productions of control colonies compared with experimental colonies and economic analysis of royal jelly production with these two methods are presented.

Material and methods: This experiment was carried out in honey bee colonies (*Apis mellifera meda*) of East Azarbaijan province in 2016. We used 30 honey bee colonies headed by one year old sister queens and the same contents of the hive and then, they were randomly divided into three groups. Experimental design was 2×3 factorial based on CRD, which had two factors including method and period. Ten colonies were organized as 24 hour protocol, 10 as cloack board method, and 10 untreated colonies as control. For this reason, 45 grafted cells were added into each hive. Experiment was repeated three times in May, June, and July. Royal jelly was gathered in the 3rd day after grafting. Number of accepted cells was counted and the amount of royal jelly production from each cell was measured. as Also, the total amount of royal jelly production by each hive was calculated. Linear multiple trait model was used to analyze data. Statistical model was: $Y_{ij} = \mu + M_i + S_j + MS_{ij} + e_{ij}$; where: Y_{ij} = record of each trait, μ = overall mean, M_i = effect of method, S_j = effect of month, MS_{ij} = interaction effect of method and month, e_{ij} = experimental error. The cost-income of the royal jelly production was calculated for the test colonies, considering the price of each kilogram of honey and jelly, 200 thousand Rials and 50 million Rials, respectively.

Results and discussion: Results showed that there was no significant difference between two methods in acceptance rate of grafted larvae. The interaction between two factors (working method and time) was not also significant. But, there was a significant difference between the months in acceptance rate; so that, mean comparisons showed the lowest larvae acceptance in July (%78.7200) and the highest in June (%85.2700). No significant difference was observed between two methods based on total royal jelly production from each hive. Also, the interaction between two factors (working method and time) was not significant. However, the effect of time was significant; so that, the maximum amount of royal jelly production from each hive was occurred in May (9.7730 g/hive) and the minimum in July (8.3295 g/hive). The amount of royal jelly production from each cell in different amounts was not significantly different. Also, the effect of method and amount interaction was not significantly different. But amount of royal jelly harvested from each cell significantly affected by method; so, the amount of royal jelly per cell in cloack board method was more than 24 hours method (262.66 and 236.87 mg/cell, respectively). Cost-Income calculation showed that, by production of royal jelly, we can add 919.5 thousand Rials to the income from each hive.

Considering the results of this study and other related reports (Sahinler 2005; Le Jiang 2001; and Elmi 2016), month and season had a considerable effect on royal jelly production. Colony internal contents (brood and food area and population) and external condition (honey and pollen flow) are varying with season (Buchler et al. 2013). Larvae acceptance and the amount of royal jelly could be affected by each of these factors. Larvae acceptance in this study was higher than other related reports (Kumar and Kumar 1999). Mean of royal jelly per hive in current research was lower than that of other report (Elmi 2016). It seems that environmental factors affected this trait. Due to climate situations followed by poor nutritional pollens in the nature, there was a decline in breeding quality of queens at the year of experiment. Mean of royal jelly production per cell was nearly the same as other related reports (Elmi 2016; Bogdanov 2012). Considering amount of royal jelly per cell, it seems that Cloack Board method is preferable to the 24-hour method. One of the advantages of the Royal jelly production on the experimental colonies was that none of the colonies had swarmed. Also, there was no significant difference between groups in honey production of three groups, and royal jelly production had not negative effect on the amount of honey production. Therefore, royal jelly production can be achieved by beekeepers to increase their income.

Conclusions: Generally, the results of this study showed that the percentage of larvae acceptance and the amount of royal jelly produced from each hive are acceptable in both ways. The amount of the royal jelly produced from each cell in the Cloack Board method is greater than the 24 - hour procedure, and the use of the Cloack Board method to produce royal jelly can be more advisable under the 24 h method, because: the amount of royal jelly are obtained from each cell is high and there is no need for the removal of the queen and the colony develops normally. Furthermore, production of royal jelly would increase the beekeepers income by using any of the above methods without any negative effect on honey yield, and it has a positive effect on swarming tendency of colonies.

Keywords: Cloack board, Honey bee, Royal jelly, 24 hours