

## ژله رویال در زنبور عسل

منبع : F. Rutner Queen Rearing

مؤلف : H. Rembold

مترجم : م. جمشیدی - بخش زنبور عسل

لارو زنبور عسل بعد از اینکه از تخم تفریح شد با غذای مخصوص که بوسیله زنبوران جوان تهیه شده تغذیه میگردند . به این دسته از زنبوران جوان زنبوران پرستار گفته میشود . این غذا محتوی انرژی کافی برای تهیه و ساختن مواد مورد نیاز برای رشد و نمو هر سه نوع زنبوران نر ، کارگر و ملکه میباشد . لارو ملکه در سرتاسر مرحله لاروی با غذای لاروی تغذیه میشود . در حالیکه لار و کارگر و نر فقط در چند روز اول با غذای لاروی تغذیه میشوند و بعد از آن مخلوطی از نسبت های مختلفی از غذای لاروی با گرده عسل در اختیار آنها گذاشته میشود . ترکیب شیمیایی غذا های مختلف لاروی بوسیله مؤلفین زیادی شرح داده شده است .

مزیت پرورش نوزاد متمرکز زمانی مشخص میشود که ما تقسیم کار دقیقی را در اجتماع زنبوران در نظر بگیریم . در اوج فصل ، ملکه روزانه بیش از دو هزار تخم میگذارد و این بدین معنی است که غذایی با کیفیت فیزیولوژی بالا بایستی برای بیش از ده هزار سلول سر باز و برای تعدادی لارو کارگر در سنین مختلف تدارک دیده شود و این عمل بوسیله زنبوران جوانی که غدد شیری آنها خیلی خوب رشد یافته بایستی صورت پذیرد . این غدد بعد از اینکه مرحله پرورش نوزاد تمام شد تحلیل میروند . غذای لاروی بوسیله عمل مشترک غدد شیری و کیسه عسلی تولید می شود که بعداً " شرح داده خواهد شد . غدد شیری دو ترکیب اصلی لیپید ها و پروتئین ها را ، و کیسه عسلی کربو هیدرات ها را تهیه میکنند .

علاوه بر تهیه غذای نوزاد ، غذای لاروی همچنین یک وظیفه اصلی در زنبوران عسل بعهدہ دارد کہ همان تعیین دستہ زنبوران مادہ میباشد . بر عکس زنبوران نر کہ قبلاً "جنسیت ژنتیکی آنها در تخم تشبیت شدہ است ، لارو بیرون آمدہ از یک تخم با رور میتواند بہ یک زنبور کارگر یا بہ یک فرد تعیین جنس شدہ کہ بہ کلی در وظیفہ و خصوصیات فیزیولوژیکی متفاوت است تبدیل شود کہ بہ آن ملکہ گفتہ میشود . تعیین نوع مادہ نتیجہ فعالیت تشریک مساعی مشترک و پیچیدہ عوامل مختلف شامل مواد شیمیائی و شروع با همان ساختمان سلول ملکہ است . در حالیکہ از سلول لارو کار گر حجم غذای لاروی تہیہ شدہ برابر با یک سر سنجاق میباشد . یک سلول ملکہ ——— روزه شامل ۳۰۰ میلی گرم و حتی بیشتر غذا میباشد .

۱- غذا برای لارو ملکہ :

Jong Hoffmann ( ۱۹۶۶ ) بوسیله مشاهده مستقیم مراحل غذا دادن در یافت

کرد کہ زنبوران پرستار دو نوع مادہ مترشحہ یکی شفاف مثل آب و دیگری با ظاہری شبیہ بہ شیر تولید می کنند . متوسط سن زنبوران پرستاری کہ غذای شفاف تولید میکنند  $17 \pm 2$  روز میباشد کہ بطور معنی داری زیاد تر از زنبوران پرستاری است کہ غذای سفید شیری را تولید می کنند کہ  $12 \pm 2$  روز میباشد . ہر دو نوع این غذاہا بہ نسبت مساوی بہ لارو های ملکہ دادہ میشود . این نسبت بستگی زیادی بہ سن زنبوران پرستار دارد افراد مسن تر مقدار کمتری از ترکیب شیری رنگ را تولید میکنند ، ہر چہ لارو ہا بزرگتر میشوند دفعات تغذیہ آنها نیز افزایش می یابد . لارو ، یک روزه روزانہ ۱۳ مرتبہ سہ روزه ۱۶ مرتبہ و چہار روزه ۲۵ مرتبہ تغذیہ میشوند طول دورہ غذا - دادن نیز افزایش پیدا میکند . تخمین زدہ میشود کہ لارو ملکہ در ضمن دورہ پرستاری ۱۶۰۰ بار غذا دادہ میشود کہ بمعنی حضور زنبوران پرستار بہ مدت ۱۷ ساعت برای آنها میباشد . بہ ہر حال در ہر سلول ملکہ  $1/5$  گرم غذای لارو داخل میشود کہ بیشتر آن بوسیله لارو مصرف میشود . در مقایسہ با آن مصرف نوزاد کارگر خیلی کمتر است . تخمین زدہ میشود کہ یک لارو کارگر بطور متوسط بوسیله زنبوران پرستار ۱۴۳ مرتبہ در طول دورہ رشد تغذیہ میشود .

در ضمن ۳-۴ روزه اولیہ مرحلہ لاروی کہ دورہ ای حساس برای تعیین جنس زنبور میباشد

وزن لارو ملکه افزایش کمتری نسبت به لارو کارگر در همان سن دارد . بعد از آن وزن لارو ملکه سریعاً افزایش می یابد و سر انجام به ۳۲۵-۳۰۰ میلی گرم میرسد . در حالیکه وزن لارو کارگر در همان سن حدود ۱۷۵ میلی گرم میباشد . بهرحال در دوره مشابهی از سن اختلاف قابل ملاحظه در وزن اتفاق می افتد . این مسئله در مورد نوزادان یک کلنی و مخصوصاً " در مقایسه نوزادان یک کلنی با کلنی دیگر مصداق کامل دارد .

## ۲- ترکیب ژله رویال :

ژله رویال به روشی که در پرورش ملکه مورد استفاده قرار میگیرد بدست می آید . در یک کلنی بدون ملکه که بدین منظور آماده شده بود ۴۰ تا ۶۰ لارو کارگری ۱ تا ۱/۵ روزه را داخل نمودند لارو ها فوراً " مورد توجه زنبوران کارگر قرار گرفتند و سه روز بعد آنها با هم بیرون آورده شدند و متوجه شدند که در سلول ملکه ژله رویال قرار داده شده است . لارو های سلول های ملکه که مسنتر بودند مقدار نسبتاً " کمتری ژله رویال در خود داشتند . در حدود ۲۵۰ میلی گرم ژله رویال در هر سلول و ۱۵ گرم ژله رویال در هر کلنی در هر سری . با یک مهارت خاص میتوان یک کیلو گرم ژله رویال از ۱۰-۸ کلنی زنبور بدست آورد .

ژله رویال مایعی غلیظ شیری متمایل به زرد میباشد که  $\frac{1}{3}$  آن ماده خشک میباشد ترکیبات جامد ممکن است شامل پوست لارو مقدار متنوعی از موم زنبور عسل و دانه های گرده میباشد . از مجموع وزن خشک بطور کلی شکر و آلومین تا ۹۰% و مواد چربی تا ۱۰% میرسد (جدول ۱) قابل ملاحظه است که ۹۰% قسمت الیپیدها اسیدهای چرب آزاد میباشد .

### جدول ۱ ترکیب غذای لاروی در سلولهای ملکه

الف - آب	۶۰%
ب- ماده خشک	۴۰%
۱- در صد لیپید	۱۰%
الف - اسید های قوی	۹۰%

ب - اسیدهای ضعیف	۲%
ج - لیپید های خنثی	۸%
۲- ترکیبات قابل دیالیز	۵۲%
(قند اینورت - اسیدهای آمینه	
ویتامین ها و غیره )	
۳- در صد آلبومین	۳۸%
الف - محلول در آب	۵۵%
ب - غیر محلول در آب	۴۵%

درست همانند هر ماده بیولوژیکی دیگر ، تغییرات در ترکیب غذایی لاروی در سلول های ملکه نیز گزارش شده است . اما حدود تغییرات آن ناچیز است و بطور تقریبی ترکیبات آن در جدول تخمین زده شده است . که میتوان برای بررسی خلوص تولیدات تجارتي مورد استفاده قرار داد . در یک آنالیز از هفت نمونه ژله رویال تجارتي که از کشورهای مختلف و سالهای مختلف جمع آوری شده بود غلظت بسیار پایدار کاتیونی آنها را به اثبات رساندند و این مسئله نشانگر کنترل شدید ترکیب غذایی بوسیله زنبوران پرستار میباشد . با این حال همان مولفین اختلاف قابل ملاحظه ای در الگوی نوکلئوتیدی نمونه های تجارتي را در صورت مقایسه شدن با غذای لاروی جمع آوری شده از کلنی های مربوطه دریافتند . اختلاف در ADP و AMP و آدنوزین ممکن است ناشی از شرایط استرس زنبوران پرستار باشد .

جدول ۲ غلظت های کاتیونی نمونه های مختلف ژله رویال تجارتي که بر حسب  $\mu\text{g/g}$  وزن مخصوص تازه ارائه شده .

نمونه	K	Na	Mg	Ca	Zn	Fe	Cu	Mn
بلغارستان	۴۴۴۰	۲۲۱	۳۰۴	۱۳۱	۲۶/۵	۱۰/۵۸	۵/۴۰	۰/۶
	۱۱/۷۷							

## بقیه جدول ۲

نمونه	K	Na	Mg	Ca	Zn	Fe	Cu	Mn
بیوسلاوی								
۷/۷۵ a	۴۶۲۰	۱۹۰	۲۸۳	۱۲۲	۲۴/۵	۹/۵۵	۵/۵۵	—
۷/۷۵ b	۴۱۶۰	۲۰۹	۲۷۱	۱۲۲	۲۶/۶	۱۰/۲۸	۵/۲۰	۰/۴۸
تایوان								
۳/۷۶	۴۴۶۰	۲۷۸	۲۸۷	۱۲۴	۲۵/۰	۹/۶۲	۵/۲۳	۰/۷۵
۳/۷۶ a	۴۱۰۰	۲۰۸	۲۷۳	۱۱۶	۲۶/۵	۸/۹۵	۴/۲۸	۰/۷۰
۳/۷۶ b	۴۱۸۰	۲۳۹	۲۸۴	۱۳۵	۲۷/۵	۹/۷۵	۴/۸۰	۰/۸۰
۳/۷۶ c	۴۴۱۰	۲۱۷	۳۲۱	۱۶۰	۳۰/۵	۱۰/۸۵	۵/۳۳	۰/۸۳
میانگین	۴۳۳۹	۲۲۳	۲۸۹	۱۳۰	۲۶/۷	۹/۹۴	۵/۱۱	۰/۶۹

وقتی غذای ملکه و لارو کارگری با هم مقایسه میشوند متوجه شدند که اختلاف مختصی بین غذای تهیه شده برای لارو در سنین مختلف وجود دارد. غذای لارو کارگر (سن صفر تا ۳۰ ساعت) بیشتر شامل پروتئین میباشد. در حالیکه غذای لارو ملکه در همان سن دارای قند بیشتری است. لارو زنبور کارگر (سن ۷۲ تا ۹۶ ساعت) به وضوح از عسل بیشتری نسبت به لارو ملکه که خود از غذای معینی با ترکیبات ثابتی تغذیه میکند می خورد. بهر حال لاروهای جوان هر دو نوع همانطور که بعداً شرح داده خواهد شد از غذای لاروی با ترکیبات بسیار مشابهی که دارای کیفیت تغذیه‌ای برابری میباشد تغذیه میشوند.

۳- در صد لیپیدی ژله رویال:

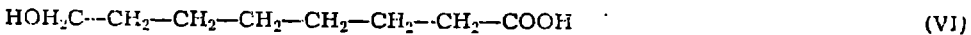
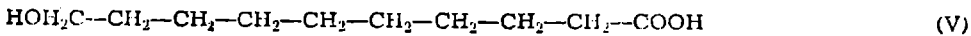
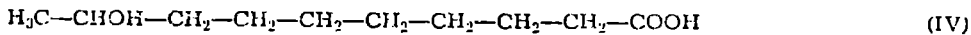
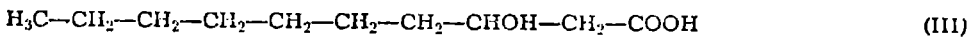
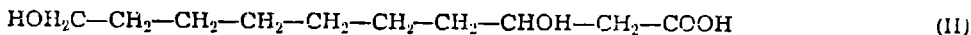
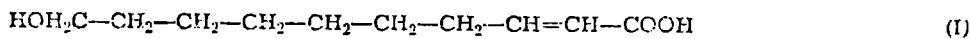
ده درصد از مجموع مواد خشک ژله رویال در حلالهای آلی مثل اترو بنزن حل میشوند. اسیدهای آزاد با یک قلیائی رقیق شده از فاز آلی استخراج میشوند مقدار آن در حدود ۹۰٪ لیپیدها میباشد. عمل بیولوژیکی آنها هنوز شناخته نشده است. یافته‌هایی که بر اساس آنها این،

مواد ممکن است دارای فعالیت باکتری کش یا عمل ممانعت از سرطان باشند احتیاج به تحقیقات بیشتری دارد. نتایج تحقیقات کامل بر روی اسید های چرب موجود در غذای ملکه در جدول شماره ۳ ارائه شده است. ترکیبات اصلی آن ۱۰ هیدروکسی ائسنوئیک اسید می باشد ( I ) که بوسیله Butenand و Rembold در سال ۱۹۷۳ مشخص شده است سایر اسید های چرب در ژله رویال محتلا" مراحل بینابینی ترکیب یا تجزیه ۱۰ هیدروکسی ائسنوئیک اسید می باشند .

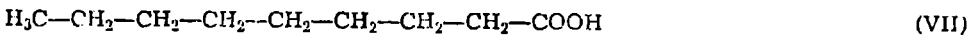
جدول ۳

اسید های چرب خطی جدا شده از قسمت اسید های چرب ژله رویال

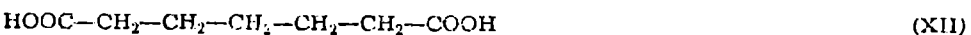
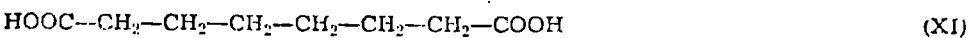
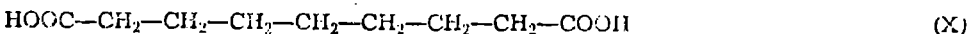
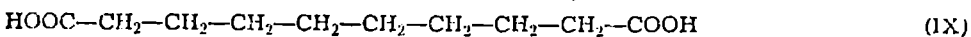
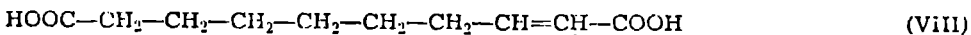
Hydroxycarbonic acids



Monocarbonic acids



Dicarbonic acids



طیف وسیع و اختصاصی اسید های چرب آزاد که در ژله رویال وجود دارد وسیله با ارزش آنالیزی در بررسی کیفیت محصولات تجارتي می باشد . ابتدا برای تشخیص کیفی اسید های چرب کرموتوگرافی کاغذی یا لایه نازک انجام میشود برای تعیین کمی آن از تجزیه کرما توگرافیک گازی صورت میگیرد . این دو عمل ممکن است در یک دستگاه طیف سنج صورت گیرد .

۴- اجزاء با وزن ملکولی پائین که محلول در آب هستند :

مهمترین جزء چربی آزاد با وزن ملکولی پائین قند اپنورت می باشد که از عمل بدست آمده از شهد حاوی ساکارز بدست می آید . از مجموع وزن ماده خشک غذای لارو ملکه  $9/76\%$  گلوکز  $11/32\%$  فروکتوز و  $0/95\%$  ساکارز است . این ماده همچنین شامل یک عده اسید های آمینه و ویتامینهای گروه ب است (جدول ۴) اختلافات معنی داری میزان اسید پانتوتنیک موجود در ژله رویال و غذای لارو کارگر ( $110-320 \mu\text{g/g}$  در برابر  $26-24 \mu\text{g/g}$  غذا) که نشانگر نقش آن در تعیین نوع زنبور می باشد . غلظت دو ترکیب دیگر نیز در غذای لارو ملکه بیشتر از لاروسلول های کارگری است . بیوپترین و نئوپترین هر دو ترکیب حلقوی هستند .

جدول ۴ ویتامینهای موجود در غذای لاروی (Rembold ۱۹۶۵ ، ۱۹۷۴)

غذای لاروی $\mu\text{g/g}$ غذا	غذای ژله رویال $\mu\text{g/g}$	
۱/۲	۱/۲-۱۸	تیامین
۱۰/۸	۶-۲۸	ریبوفلاوین
۷/۳	۲/۲-۵۰	پیریدوکسین
۵۲	۴۸-۱۲۵	اسید نیکوتنیک
۲۴-۲۶	۱۱۰-۳۲۰	اسید پانتوتنیک
۲/۵-۳/۳	۱/۶-۴/۱	بیوتین
۰/۱۱-۰/۵۲	۰/۱۶-۰/۵	اسید فولیک
تعیین نشده	۷۵-۱۵۰	اینوزیتول

درست همانند اسید پانتوتنیک ، غلظت هر دو ماده Neopterin ، Biopterin در ژله رویال بر مقایسه با غذای لاروی کارگر ده برابر میباشند ( بیوپترین ۲۵ میکروگرم در مقابل ۴ میکروگرم از هر گرم غذا و نتوپترین ۳ میکروگرم در مقابل ۰/۳ میکروگرم از هر گرم غذا ) مقدار Biopterin را میتوان با یک Bioassay یا Crithidia-fasiculata که یک تازکدار است بطور دقیق نمود . اندازه گیری در یک غلظت به کمی  $2/5 \times 10^{-5}$  g/ml ، پاسخ آن به رشد نصف ماکزیم آن است که این امر ما را قادر می سازد میزان بیوپترین را در مقادیر بسیار ناچیز که بعنوان مثال در غدد وجود دارد تعیین نمائیم .

تنها اختلافاتی که بوسیله تجزیه شیمیائی در غذاهای لاروی جوان ملکه و لاروی کارگر مشخص شده است محتویات Biopterin و Neopterin و اسید پانتوتنیک میباشد . Biopterin و اسید پانتوتنیک بدقت توسط Bioassay تعیین میشوند . در حالیکه هر دو pterin میتوانند بوسیله کروماتوگرافی لایه نازک جستجو شوند . موقعی که کیفیت تولیدات بررسی میشود ، هر سینه ماده برای ژله رویال بعنوان شاخص توصیه میشوند بویژه توصیه میشود سایر مقیاسهای تجزیه ای نیز که قبلاً ذکر شده است بحساب آورده شوند . سایر شاخص ها برای کیفیت نمونه های ژله رویال تجارتي در صد ماده خشک مجموع پروتئین - قند - فسفاتهای غیر آلی میباشد که کاملاً پایدار هستند . ( جدول ۵ )

جدول ۵ ترکیب اندازه گیری شده در نمونه های تجارتي ژله رویال مختلف بر حسب گرم وزن تازه داده شده است .

Sample	Dry matter %	Protein mg	Sugar (Anthrone) mg	Phosphate mg	Total Phosphate mg	Nucleotide E <sub>260</sub>
Yugoslavia						
7/75 a	35.0	142.5	129	0.88		233
7/75 b	33.5	141.3	116	0.85		223
6/76 a	32.8	135.6	102	0.86		
6/76 b	33.8	132.5	120	0.75		
Taiwan						
3/76	34.8	145.0	116	0.97		243
5/76 a	32.3	129.4				225
5/76 b	35.0	141.3	124	1.06		218
5/76 c	34.0	140.0	143	1.00		227
Average	33.9	133.5	121	0.91	2.13	228



## ۵- اجزاء آلبومین :

بیش از  $\frac{1}{3}$  ماده خشک ژله رویال ملکولهای سنگین وزن آلبومین میباشند که یادیا لیز در آب بوسیلد یک غشاء نیمه تراوا نگاه داشته میشود . و بسادگی وبا دقت از مواد با وزن - ملکولی پائین جدا میشود در تجزیه پروتئین موجود در ژله رویال میتواند با الکتروفورز به پنج قسمت مختلف جدا شود ، که دو قسمت آن در غذای لارو کارگر مسن یافت نمیشود . اما آلبومین در غذای لارو کارگر جوان با غذای لارو ملکه یکسان است .

## ۶- ویژگیهای ترکیبات ژله رویال :

مشکل کنترل کیفی ژله رویال یا فرآورده های آن اغلب مطرح میشود . بطور خلاصه ، معیارهای اشاره شده در توصیف اجزاء تشکیل دهنده ژله رویال دوباره مطرح میگردد .

الف - بطور کلی ژله رویال از مخلوط ترشحات غده ای با غلظت بالائی از آلبومین - چربی وعسل ساخته شده است . نسبت دو جزء مهم تشکیل دهنده آن ( یعنی آب وماده خشک) تنها در محدوده بسیار باریکی در نمونه های مختلف متغییر است . همانطوریکه در جدول ۱ نشان داده شده است . در نتیجه هر مقدار از عسل یا آب به آن اضافه شود به آسانی میتواند تعیین شود .  
ب - معمولاً برای بررسی کیفیت ژله رویال اسید های چرب ویژه که در جدول شماره ۳ داده شده مورد استفاده قرار میگیرد . بالاتر از همه اجزاء اصلی ژله رویال ۱۰ هیدروکسی ۱ دسنوئیک اسید را حتی در مقادیر بسیار اندک بوسیله روشهای غنی سازی که عموماً " برای اسید های چرب مورد استفاده قرار میگیرد میتوان اندازه گیری نمود .

ج - تعیین کمی با استفاده از روش Bioassay دو مارکر یعنی اسید پانتوتنیک و بیوپترین مشکل تر است چون این دو ماده بسیار ناپایدار هستند برای تعیین هر دو یک آزمایش قابل اعتمادی مورد نیاز است . بنا براین کروماتوگرافی کاغذی یا لایه نازک بعضی اوقات برای تعیین Biopterin و Neopterin بعنوان یک معیار تجزیه ای برای تعیین کیفیت ژله رویال استفاده شده است . هر دو پترین ها میتوانند بوسیله جذب اشعه ماوراء بنفش با لکه های آبی روشن

یا فلئورسانس تعیین شوند .

د - یک متد بسیار دقیق برای بررسی ژله رویال ، پرورش لارو جوان با استفاده از همان ژله در انکو باتور می باشد .  
۷- تولید غذای لارو :

غذائیکه به لارو جوان داده میشود تعیین میکند که آیا نتیجه یک تخم بارور شده یک ملکه خواهد بود یا یک زنبور کارگر . این سؤال که چگونه دو نوع غذا با وظایف مختلف بوسیله زنبوران پرستار تولید میشوند مختصراً " مورد بحث قرار خواهد گرفت .

در سرو سینه ملکه و زنبوران کارگر تعدادی غدد ترشحاتی وجود دارد که در بین آنها غدد شیری زنبوران پرستار که به طرف حلق باز میشوند فعالیت دارند . آنها همچنین شامل مواد مخصوص از انواع مختلف غذای لاروی میباشند ( پروتئین - ۵ ایدروکسی - ۱ دسئوئیک بیوپترین نشوین) . وظیفه سایر غده ها (ماندیولار - پس سری - سینه ای ) هنوز معلوم نشده است .

Rembold و Hanser در سال ۱۹۶۴ غدد جدا شده از ملکه و زنبوران کارگر پرستار را به منظور تعیین محتویات ژله رویال و غلظت های آن مورد تحقیق قرار دادند .

با در نظر گرفتن این حقیقت که شاخص های مخصوص با مواد مارکدار بیوپترین و اسید پانتوتنیک که در غدد فک بالائی زنبوران پرستار ملکه وجود دارند بطور معنی داری بیشتر از مقدار آن در زنبوران پرستار کارگر است ، مولفین نتیجه گرفته اند که غدد ماندیولار وظیفه مهمی در تولید غذای سلولهای ملکه دارد و این غده "محتلاً" منبع عناصری است که در غذای مخصوص برای تغذیه لارو ملکه وجود دارند . بنا به گفته این مولفین غذای لاروسلولهای ملکه تشکیل شده است از عسل، ترشحات غدد حلقی و فک بالائی . در حالیکه غذای لارو کارگر از عسل و ترشحات غدد شیری تشکیل شده است . این یافته ها پس از تجزیه شیمیائی از طریق مشاهدات Jany- Huffman در سال ۱۹۶۶ نیز مورد تأیید قرار گرفته است .