

برای دریافت منابع آموزشی بیشتر به پایگاه اینترنتی ما مراجعه بفرمایید.

[www.hawramanhoney.ir](http://www.hawramanhoney.ir)

(بر روی آدرس بالا کلیک کنید)



این متن آموزشی با در نظر گرفتن چهارچوب کلی حق کپی‌رایت و آزاد شدن آن برای عموم، در وب‌سایت ما منتشر شده است. در صورت اطمینان از مغایرت انتشار الکترونیکی این متن با حق کپی‌رایت، لطفاً مجموعه ما را از طریق وب‌سایت هورامان‌هانی مطلع بفرمایید. از همراهی اتان سپاسگزاریم.

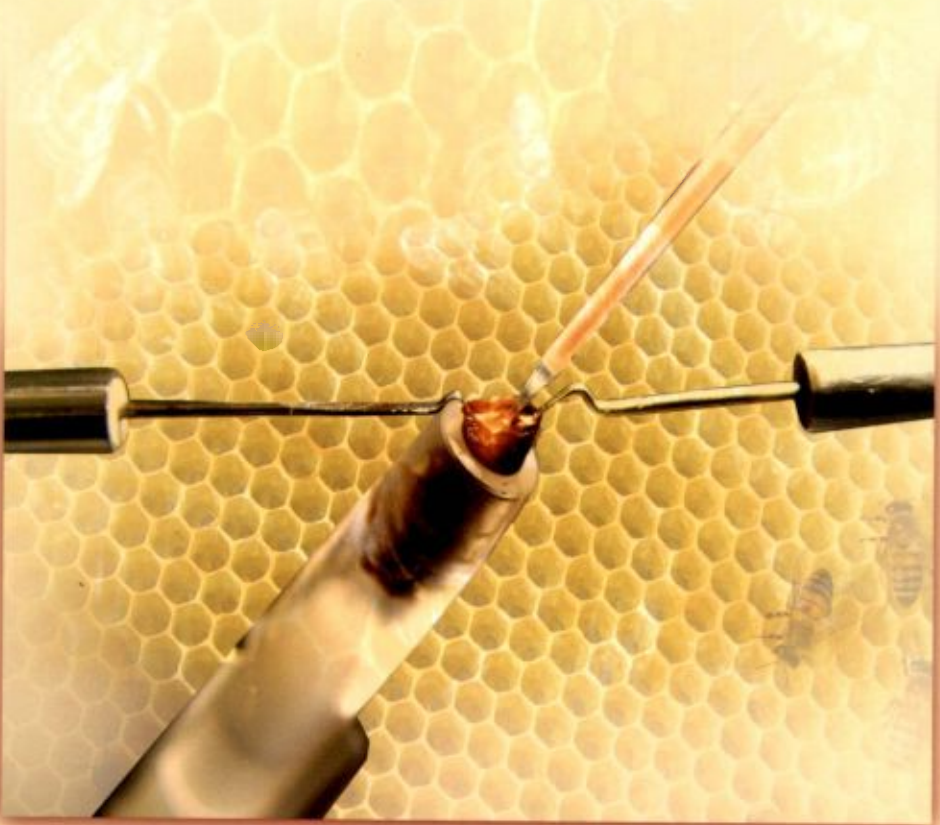


سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی  
موسسه آموزش عالی علمی - کاربردی جهاد کشاورزی



موسسه آموزش عالی علمی - کاربردی جهاد کشاورزی  
۱۳۸۴-۱۳۸۵-۱۳۸۶

## تلقیح مصنوعی ملکه زنبور عسل



غلامحسین طهماسبی

ختم لوزنج

# تلقيح مصنوعي ملڪه زنبور عسل

غلامحسين طهماسبی

سرشناسه	: طهماسبی، غلامحسین، ۱۳۳۸-
عنوان و نام پدیدآور	: تلقیح مصنوعی ملکه زنبورعسل / غلامحسین طهماسبی.
مشخصات نشر	: تهران: موسسه آموزش عالی علمی- کاربردی جهاد کشاورزی، ۱۳۸۸.
مشخصات ظاهری	: ۱۰۸ ص.: مصور.
فروست	: موسسه آموزش عالی علمی-کاربردی جهاد کشاورزی؛ ۹۴. گروه علوم دامی؛ ۲۰۱.
شابک	: 978-964-8748-68-0
وضعیت فهرست‌نویسی	: فیبا
یادداشت	: کتابنامه: ص. ۱۰۸.
موضوع	: زنبورعسل - تلقیح مصنوعی
موضوع	: زنبورداری - پرورش ملکه
شناسه افزوده	: موسسه آموزش عالی علمی-کاربردی وزارت جهاد کشاورزی
رده‌بندی کنگره	: SF۵۲۳/ط ۹ ت ۸ ۱۳۸۸
رده‌بندی دیویی	: ۶۳۸/۱
شماره کتابشناسی ملی	: ۱۹۴۵۴۳

عنوان: تلقیح مصنوعی ملکه زنبور عسل

مؤلف: غلامحسین طهماسبی

ناشر: انتشارات مؤسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی

ویراستار علمی: رحیم عبادی

ویراستار ادبی - فنی: علی‌رضا فیضی

طراح جلد: رضا عابدی

صفحه‌آرایی، لیتوگرافی، چاپ و صحافی: انتشارات پیام‌رسان

نوبت چاپ: اول

تاریخ نشر: ۱۳۸۹

شمارگان: ۱۵۰۰

قیمت: ۲۵۰۰۰ ریال

شابک: ۹۷۸ - ۹۶۴ - ۸۷۴۸ - ۶۷ - ۳

تهران: صندوق پستی ۱۳۱۴۵-۱۴۷۸ تلفن ۶۶۴۹۸۹۴۶

## فهرست مطالب

### فصل ۱- تاریخچه، اهداف، مزایا و معایب تلقیح مصنوعی

۵	۱-۱ آشنایی با تاریخچه تلقیح مصنوعی در جهان
۱۰	۲-۱ اهداف تلقیح مصنوعی
۱۰	۳-۱ مزایا و معایب تلقیح مصنوعی
۱۱	۱-۳-۱ مزایای تلقیح مصنوعی
۱۱	۲-۳-۱ معایب تلقیح مصنوعی
۱۳	پرسش‌های فصل اول

### فصل ۲- روش‌های کنترل جفت‌گیری ملکه زنبورعسل

۱۷	۱-۲ رفتارهای تولید مثل در زنبورعسل
۱۷	۲-۲ منطقه تجمع نرها
۱۸	۳-۲ فرم‌های جفت‌گیری
۱۹	۴-۲ زمان جفت‌گیری در زنبورعسل
۲۱	۵-۲ علامت جفت‌گیری
۲۱	۶-۲ روش‌های کنترل جفت‌گیری ملکه
۲۴	پرسش‌های فصل دوم

### فصل ۳- ساختمان دستگاه تولیدمثل زنبورعسل نر و ملکه

۲۷	۱-۳ مقدمه
۲۷	۲-۳ دستگاه تولید مثل زنبورعسل نر
۲۷	۱-۲-۳ بخش داخلی دستگاه تناسلی نر
۳۰	۲-۲-۳ بخش خارجی دستگاه تناسلی نر
۳۲	۳-۳ دستگاه تناسلی ماده
۳۶	پرسش‌های فصل سوم

### فصل ۴- ساختمان آزمایشگاه و وسایل مورد نیاز تلقیح مصنوعی

۳۹	۱-۴ مقدمه
۳۹	۲-۴ ساختمان آزمایشگاه
۴۰	۳-۴ وسایل مورد نیاز برای تلقیح مصنوعی
۴۱	۱-۳-۴ سرنگ اسپرم‌گیری
۴۵	۲-۳-۴ استریومیکروسکوپ (لوب)

۴۵	.....	۳-۳-۴ سیلندر گاز کربنیک
۴۷	.....	۴-۳-۴ قلاب شکمی
۴۷	.....	۵-۳-۴ قلاب نیش
۵۰	.....	۶-۳-۴ نگهدارنده ملکه
۵۱	.....	۷-۳-۴ لوله برگرداننده ملکه
۵۲	.....	۸-۳-۴ قفس پرواز نرها
۵۳	.....	۹-۳-۴ جعبه انتقال نرها
۵۳	.....	۱۰-۳-۴ شیشه ساعتی
۵۳	.....	۱۱-۳-۴ محفظه بیهوشی ملکه
۵۵	.....	پرسش‌های فصل چهارم

#### فصل ۵- پرورش و جمع‌آوری نرها و گرفتن اسپرم

۵۹	.....	۱-۵ پرورش نر
۶۱	.....	۲-۵ جمع‌آوری نرها
۶۳	.....	۳-۵ تعداد نرهای موردنیاز
۶۳	.....	۴-۵ جمع‌آوری اسپرم
۶۴	.....	۱-۴-۵ آماده‌کردن سرنگ
۶۸	.....	۲-۴-۵ اسپرم‌گیری
۷۰	.....	۳-۴-۵ خروج منی
۷۲	.....	۴-۴-۵ جمع‌آوری اسپرم با سرنگ
۷۴	.....	۵-۴-۵ نگهداری و ذخیره‌سازی اسپرم زنبورعسل
۷۸	.....	پرسش‌های فصل پنجم

#### فصل ۶- آماده‌کردن ملکه و انجام تلقیح مصنوعی ملکه

۸۱	.....	۱-۶ روش‌های آماده‌کردن ملکه برای تلقیح مصنوعی
۸۲	.....	۱-۱-۶ آماده‌کردن ملکه
۸۷	.....	۲-۱-۶ آماده‌کردن سرنگ تلقیح مصنوعی در دستگاه برای تلقیح مصنوعی
۸۷	.....	۳-۱-۶ تلقیح مصنوعی
۹۱	.....	پرسش‌های فصل ششم

#### فصل ۷- نگهداری و معرفی ملکه‌های تلقیح شده به کلنی زنبورعسل

۹۵	.....	۱-۷ نگهداری و مراقبت از ملکه‌های تلقیح شده
۹۸	.....	۲-۷ معرفی ملکه تلقیح شده



۱۰۰	.....	۱-۲-۷ معرفی ملکه با قفس فشاری
۱۰۱	.....	۳-۷ ارزیابی عملکرد ملکه‌های تلقیح مصنوعی شده
۱۰۲	.....	۴-۷ تخم‌ریزی ملکه تلقیح شده
۱۰۴	.....	۵-۷ روش‌های خاص در تلقیح مصنوعی
۱۰۴	.....	۱-۵-۷ تلقیح مصنوعی با اسپرم یک زنبور نر
۱۰۴	.....	۲-۵-۷ تلقیح ملکه‌ها با مخلوط یکنواخت اسپرم زنبوران نر
۱۰۵	.....	۳-۵-۷ جمع‌آوری اسپرم از کیسه‌های اسپرم یک زنبور نر
۱۰۵	.....	۴-۵-۷ استفاده از اسپرم درون کیسه ذخیره اسپرم برای تلقیح ملکه‌های دیگر
۱۰۵	.....	۵-۵-۷ تلقیح ملکه‌های خیلی پیر
۱۰۶	.....	۶-۵-۷ تلقیح مصنوعی ملکه با پسران خودش
۱۰۷	.....	پرسش‌های فصل هفتم

### فصل ۸- آفات و بیماری‌های ملکه زنبور عسل

۱۱۱	.....	۱-۸ عوامل خسارت‌زای غیر ژنتیکی
۱۱۱	.....	۱-۱-۸ شپش زنبور عسل
۱۱۳	.....	۲-۱-۸ مورچه‌ها
۱۱۸	.....	۳-۱-۸ سیاه شدن سلول ملکه
۱۱۸	.....	۴-۱-۸ سپتی‌سمی
۱۲۰	.....	۵-۱-۸ ملانوزیس
۱۲۰	.....	۶-۱-۸ بیماری فلج زنبوران بالغ (فلج مزمن)
۱۲۱	.....	۲-۸ بیماری‌های غیر میکروبی و ژنتیکی
۱۲۱	.....	۱-۲-۸ عدم یکنواختی سطح پرورش نوزادان
۱۲۲	.....	۲-۲-۸ عارضه کارگر تخم‌گذار
۱۲۳	.....	۳-۲-۸ غش کردن ملکه
۱۲۴	.....	پرسش‌های فصل هشتم
۱۲۵	.....	منابع



## پیشگفتار ناشر

کتاب و کتاب‌خوانی، یکی از معیارهای توسعه کشورهای و جوامع گوناگون است. به این سبب، هر سال سازمان‌های جهانی، مانند یونسکو و ...، از آن به‌مثابه یکی از شاخص‌های توسعه‌یافتگی استفاده می‌کنند و به بررسی میزان انتشار کتاب، نشریه و سایر منابع علمی و اطلاعاتی سازمان‌های آموزشی و پژوهشی می‌پردازند.

تولید منابع علمی و اطلاعاتی، چنان اهمیتی دارد که مهم‌ترین شاخص ارزشیابی کار اعضای هیئت‌های علمی سازمان‌های آموزشی و پژوهشی نیز به‌شمار می‌آید. اما در این زمینه، نیاز مؤسسه‌های آموزشی علمی-کاربردی به متون آموزشی، بیش از دیگر سازمان‌های فرهنگی است؛ زیرا این مؤسسه‌ها، باید از این متون برای تدریس به دانشجویانی استفاده کنند که علاوه بر آموزش‌های رسمی و کلاسیک، به آموزش جنبه‌های کاربردی محتوا و روش‌ها نیز نیازمندند.

مؤسسه آموزش عالی علمی-کاربردی جهاد کشاورزی، با توجه به اهمیت تولید و انتشار منابع اطلاعاتی و به‌ویژه کتاب‌های آموزشی، این مهم را در رأس کارهای خود قرار داده است. شایان ذکر است که تألیف و چاپ بیش از ۱۰۰ عنوان کتاب مربوط به دروس دوره‌های علمی-کاربردی در بخش کشاورزی، در دستور کار این مؤسسه قرار دارد و مسئولان آن امیدوارند با همکاری مدرسان و اعضای هیئت‌های علمی دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی، در راه افزایش کیفیت این کتاب‌ها گامی اساسی بردارند.

از آن‌جا که انتشار چنین مجموعه‌ای، کاری سترگ و نیازمند توجه و دقت بسیار است. امیدواریم استادان، صاحب‌نظران و مدرسان این کتاب‌ها، ما را در راه ارتقای کیفیت علمی آن‌ها یاری دهند و از ارسال انتقادهای و پیشنهادهای خود دریغ نورزند. بدون شک، حمایت‌ها و هدایت‌های بی‌دریغ مسئولان آموزش و تحقیقات در سطح وزارت جهاد کشاورزی، اعضای محترم هیئت امنای مؤسسه آموزش عالی علمی-کاربردی و به‌ویژه مدیران عالی سازمان و آموزش کشاورزی، در شکل‌گیری و ادامه چاپ این کتاب‌ها نقش اساسی دارد و امیدواریم نظارت عالی آنان، تضمین‌کننده کیفیت کار ما باشد.

مجتبی رجب‌بیگی

مدیرمسئول انتشارات و

رئیس مؤسسه آموزش عالی علمی-کاربردی جهاد کشاورزی

# فصل اول

## تاریخچه، اهداف، مزایا و معایب

### تلقیح مصنوعی

---

#### هدف‌های رفتاری

##### فراگیر گرامی

در پایان این فصل و پس از یادگیری کامل مطالب، از شما انتظار می‌رود:

- ۱- با تاریخچه تلقیح مصنوعی زنبورعسل در جهان آشنا شوید.
- ۲- با اهدافی که بشر با تلقیح مصنوعی زنبورعسل به آنها دست یافته آشنا شوید.
- ۳- مزایا و معایب تلقیح مصنوعی را توضیح دهید.

## ۱-۱. آشنایی با تاریخچه تلقیح مصنوعی در جهان

در اصلاح نژاد موجودات زنده، که در جهت تثبیت و بهبود خصوصیات تولیدی و رفتاری تلاش می‌شود، کنترل تلاقی‌ها مهم‌ترین ابزار به‌شمار می‌رود.

اصلاح نژاد حیوانات اهلی، مثل گاو، گوسفند، اسب، مرغ، خوک و سگ از سالیان دور توسط انسان و با انتخاب انجام می‌شده ولی در زنبورعسل، این امر به‌دلیل عدم شناخت دقیق از تولیدمثل و رفتارهای تولیدمثلی آن تا اواسط قرن نوزدهم میسر نبوده است (۴۲).

در حیوانات اهلی یاد شده، کنترل تلاقی‌ها عملی است و این عمل با ایجاد قفس‌ها و فضاهای محدود و کنارهم قرار دادن نر و ماده موردنظر، تلاقی صورت می‌گیرد، اما در زنبورعسل، خصوصیات رفتاری زنبوران ملکه و نر در هنگام جفت‌گیری، امکان کنترل تلاقی را بسیار مشکل‌تر از موجودات دیگر ساخته و لذا باید برای حل این مشکل، به فکر راه‌های دیگری باشیم. جفت‌گیری زنبوران نر و ملکه به‌هیچ وجه در محیط بسته صورت نمی‌گیرد و این کار در هنگام پرواز و در فضا انجام می‌شود. براساس تحقیقات انجام شده توسط کوری (۱۹۸۷)، زنبور ملکه به‌طور متوسط با ۷-۱۰ زنبور نر جفت‌گیری می‌کند. تحقیقات مولکولی آنیس<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۵) نشان می‌دهد هر زنبور ملکه به‌طور متوسط با تعداد ۱۰-۱۲ زنبور نر جفت‌گیری می‌نماید. برای کنترل جفت‌گیری ملکه، استفاده از مکان‌های ایزوله، که به شعاع ۱۰ کیلومتر زنبورستان دیگری در آن منطقه نباشد، یا استفاده از جزایر خالی از کلنی‌های وحشی و کلنی‌های زنبورعسل میسر می‌باشد که امکان فراهم کردن آنها بسیار مشکل است.

بنابراین با توجه به اینکه امکان کنترل تلاقی زنبوران عسل بسیار مشکل است، لذا تلقیح مصنوعی ملکه زنبورعسل به‌عنوان یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای این منظور، در جهت اصلاح نژاد زنبورعسل مطرح می‌باشد که می‌تواند ما را در رسیدن به اهداف اقتصادی و رفتاری در کلنی‌های زنبورعسل کمک کند.

البته باید توجه داشت که تلقیح مصنوعی در طرح‌های تحقیقاتی مورد استفاده قرار می‌گیرد و به‌دلیل هزینه زیاد در پرورش ملکه و تولید ملکه‌های جوان، استفاده از این سیستم مقرون به‌صرفه نیست و قیمت ملکه‌های تولیدی، که با روش تلقیح مصنوعی تولید شده باشند، بسیار گران خواهد بود.

با توجه به موارد مذکور و اهمیت کنترل تلاقی در اصلاح نژاد و تولید ملکه زنبورعسل، بشر از سال‌های دور برای کنترل تلاقی ملکه با نرها تلاش کرده ولی عدم وجود اطلاعات یا نقصان

اطلاعات درباره رفتارهای جفت‌گیری ملکه و نرها، مانع بزرگی در حصول موفقیت بشر در این مسیر بود.

اولین تلاش‌ها برای جفت‌گیری تحت کنترل زنبورعسل، به بیش از ۲۰۰ سال پیش مربوط می‌شود؛ زمانی که تصور می‌شد جفت‌گیری ملکه در داخل کلنی انجام می‌شود و پس از تخم‌ریزی توسط ملکه، تخم‌ها توسط زنبورهای نر بارور می‌شوند.

رنومور<sup>۱</sup>، در سال ۱۷۴۰ با قرار دادن ملکه و نر در یک محفظه شیشه‌ای کوچک، برای کنترل جفت‌گیری ملکه تلاش کرد که موفق نبود. جفت‌گیری ملکه در خارج از کندو، اولین بار در سال ۱۷۷۲ توسط آنتوان جانشا<sup>۲</sup> گزارش شد که در زمان خود یک کشف هیجان‌انگیز بود. هوبر<sup>۳</sup> در سال ۱۸۱۴ با قرار دادن شبکه مانع ملکه در جلو دریچه، توانست ملکه جفت‌خورده همراه با علامت جفت‌گیری را در زمان بازگشت به کندو ملاحظه کند. کشف این موضوع باعث شد تلاش‌های پنجاه سال بعد برای محدود کردن منطقه جفت‌گیری، به شکل‌های گوناگون صورت گیرد.

همه این عوامل باعث شد که محققین زیادی سعی در یافتن راهی برای انتقال مکانیکی منی باشند. فرانسس هوبر در سال ۱۸۱۴، تلاش کرد که اسپرم زنبورهای نر را با دست به واژن ملکه منتقل کند که موفق نشد.

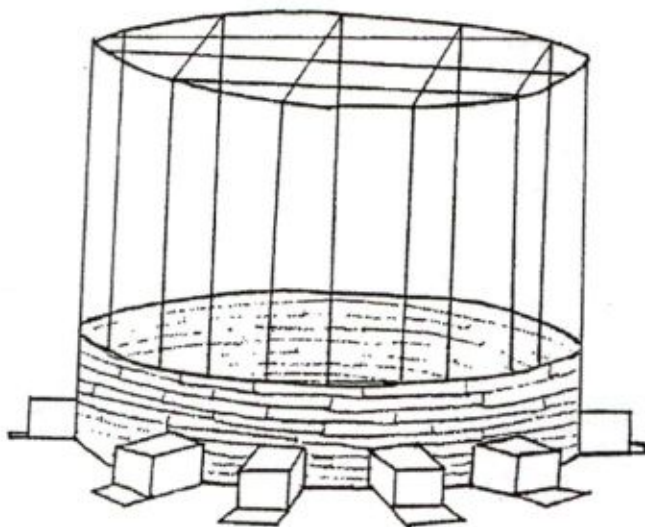
در سال ۱۸۶۸، کهلر<sup>۴</sup> سعی نمود با مالیدن مایع لارو نر بر روی لارو ملکه، باعث باروری کنترل‌شده شود و مک‌لین<sup>۵</sup> در سال ۱۸۵۵، تلاش کرد که سفیره و ملکه بالغ را با مالیدن مقداری منی زنبور نر بارور کند، ولی به موفقیتی دست نیافت.

کنترل زمان پرواز جفت‌گیری نیز، توسط داته<sup>۶</sup>، کهلر و کروگر<sup>۷</sup> مورد استفاده قرار گرفت. آنها کلنی‌ها را در اتاق‌های سرد و تاریک قرار می‌دادند و یا روی آنها را با پارچه‌های تیره‌رنگ می‌پوشاندند و پس از اتمام زمان پرواز نرها، کلنی‌ها را از اتاق‌ها خارج می‌کردند و یا پوشش آنها را برمی‌داشتند تا نرهای موردنظر آنها، در جفت‌گیری‌ها شرکت کنند؛ این تلاش‌ها با موفقیت‌های اندکی همراه بود.

1. Reaumur
2. Anton Jansha
3. Huber
4. Kohler
5. Mclain
6. Dateh
7. Kruger

به بند کشیدن ملکه و یا افسار زدن به ملکه، توسط محققینی، مثل شریملین<sup>۱</sup> و نیز تلاش‌های دی‌ماری<sup>۲</sup> برای کنترل جفت‌گیری ملکه، به نتیجه‌ای نرسید. شریملین با نخ ابریشمی ۱۸ فوتی، ملکه باکره را در محدوده‌ای کنترل می‌کرد تا جفت‌گیری تحت نظارت او انجام شود که در این امر موفق نشد.

تلاش برای تلاقی ملکه در محفظه شیشه‌ای، توسط هاسبروک<sup>۳</sup> (۱۸۷۸) و محفظه پارچه‌ای در بالای کندو توسط کرامر<sup>۴</sup> (۱۸۸۱) عملاً با موفقیت همراه نبود. دوویت<sup>۵</sup> (۱۹۰۱) با ساخت چادر بزرگی از جنس پشه‌بند به ابعاد ۳۰ فوت، جایگاهی برای جفت‌گیری محدود ملکه فراهم کرد (شکل ۱-۱).



شکل ۱-۱: چادر طراحی شده توسط دوویت برای جفت‌گیری تحت کنترل ملکه زنبورعسل (دوویت، ۱۹۰۱)

دوویت معتقد بود که در چنین چادری، حتی امکان جفت‌گیری ۵۰۰ ملکه در روز میسر است ولی آزمایش‌های افراد دیگر، موفقیت روش او را تأیید نکرد. ادامه تلاش‌ها در این جهت توسط

1. Shrimplin
2. Demaree
3. Hasbrouck
4. Cramer
5. Dovitte

روت<sup>۱</sup> در یکی از بزرگ‌ترین گلخانه‌های امریکا به ابعاد (۶۰ × ۶۰۰) فوت و به ارتفاع ۳۰ فوت نیز برای ایجاد جفت‌گیری ملکه در فضای بسته، با موفقیت همراه نبود. مک‌لاین در سال ۱۸۵۵، از سرنگ طبی برای تزریق منی به ملکه استفاده کرد؛ در این روش ملکه با گیره نگه داشته می‌شد. محققین دیگری نیز تلاش کردند توسط لوله‌های موئین و پیپت، منی نرها را جمع‌آوری کنند. هاروارد<sup>۲</sup> (۱۹۱۴) توانست با همین روش و رقیق کردن منی در محلول نمکی، یکی از ۸ ملکه تحت بررسی خود را با موفقیت تلقیح کند. واتسون<sup>۳</sup> در سال ۱۹۲۷ موفق شد برای اولین بار ملکه‌ها را به‌وسیله یک دستگاه بسیار مقدماتی، که خودش ابداع کرده بود، تلقیح کند که کار او، اولین گام موفق در تلقیح مصنوعی مدرن زنبورعسل به شمار می‌رفت؛ او که یک شیمیدان بود، با طراحی سرنگ‌های شیشه‌ای برای تلقیح مصنوعی، کمک بزرگی به موفقیت این امر نمود؛ وی ملکه را توسط یک تار ابریشمی بر روی قطعه‌ای چوب مهار کرد و با استفاده از میکروسکوپ و میکروسرنگ شیشه‌ای، تلقیح را انجام داد.

پس از واتسون، افراد دیگری کارهای خود را براساس دستگاه طراحی شده توسط واتسون ادامه دادند ولی تلاش کردند که در جهت سهولت کار، تغییراتی در دستگاه ابداعی او به‌وجود آورند.

کوئین<sup>۴</sup> و نوه او لیدلا<sup>۵</sup> با نزدیک کردن نری، که دستگاه تناسلی‌اش خارج شده بود، برای بارور کردن ملکه، تلاش‌هایی کردند که این روش هم‌زمان در روسیه نیز دنبال شد. لیدلا در سال ۱۹۳۲، با ابداع فنری برای باز نگه داشتن مهبل ملکه و استفاده از استریومیکروسکوپ، به پیشرفت‌هایی دست یافت. پس از این موفقیت‌ها، چون تصور می‌شد که ملکه با یک نر جفت‌گیری می‌کند، لذا تلقیح ملکه با اسپرم یک نر صورت گرفت و این امر باعث شد ملکه، اسپرم کافی دریافت نکند و خیلی دیر تخم‌گذاری نماید؛ برخی ملکه‌ها هم از بین رفتند، بعضی از آنها هم تخم نر گذاشتند و سریعاً در کندو جایگزین شدند.

نولان<sup>۶</sup> و مک‌نسن<sup>۷</sup> در سال ۱۹۳۷ تلاش کردند که تغییراتی در دستگاه واتسون ایجاد نمایند و در نهایت موفق شدند دستگاهی با خصوصیات جدید طراحی کنند.

1. Root

2. Harward

3. Watson

4. Quinn

5. Laidlaw

6. Nolan

7. Mackenson



مکنسن در زمان جنگ جهانی دوم با کمک رابرتس<sup>۱</sup>، دستگاه دیگری ساخت و تغییرات جدیدی را در آن اعمال کرد.

لیدلا هم در سال ۱۹۳۴، تغییرات دیگری در دستگاه تلقیح مصنوعی ایجاد کرد و دستگاه جدیدی به نام خود ابداع و ارائه نمود. تفاوت عمده دستگاه تلقیح مصنوعی لیدلا با دستگاه‌های قبلی در این بود که حرکت قلاب‌ها به وسیله پیچ انجام می‌شد؛ بنابراین حرکت آنها بسیار ظریف بود و کنترل حرکت قلاب‌ها با دقت بیشتر میسر بود؛ درحالی‌که در دستگاه‌های قبلی، حرکت قلاب‌ها مکانیکی بود و با دست صورت می‌گرفت. در این دستگاه، ملکه نیز توسط دو قطعه اسفنج مهار می‌شد.

لیدلا، علاوه بر تغییرات مذکور توانست با معرفی چین مهلبلی<sup>۲</sup> و کنار زدن آن توسط یک اهرم، موفقیت تلقیح مصنوعی و رسیدن اسپرم به کیسه ذخیره اسپرم را افزایش دهد. تایپر<sup>۳</sup> (۱۹۵۴)، استفاده از نرهای متعدد را در تلقیح مصنوعی ملکه‌ها پیشنهاد نمود که براساس مشاهدات او در طبیعت شکل گرفته بود.

اولین تلقیح‌های مصنوعی بر روی ملکه‌های کاملاً هوشیار انجام می‌شد که به دلیل حرکت ملکه و تنفس ملکه، تلقیح را با مشکلاتی روبه‌رو می‌ساخت.

استفاده از اتر برای بیهوشی ملکه، همراه با آثار زیان‌آوری بود و لیدلا در سال ۱۹۴۹، استفاده از دی‌اکسیدکربن را برای بیهوشی ملکه در زمان تلقیح پیشنهاد نمود که بعدها استفاده مجدد از آن، پس از تلقیح در رفع مشکل تأخیر تخم‌ریزی ملکه نیز مؤثر واقع شد. استفاده از گاز کربنیک برای کاهش تأخیر تخم‌ریزی اولین بار توسط مکنسن و رابرتس (۱۹۴۸) کشف شد. آنها پی بردند که استفاده از گاز کربنیک در دو زمان ده دقیقه‌ای پس از تلقیح، باعث کاهش تأخیر تخم‌ریزی تا ۳-۴ روز می‌گردد.

مکنسن و رابرتس سرنگی با نوک پلاستیکی و قطر کوچک‌تری طراحی کردند که بسیار بادوام‌تر از انواع پیشین بود و موفق‌تر عمل می‌کرد.

دستگاه لیدلا بسیار گران بود و از آن امروزه در دنیا، به تعداد کمی وجود دارد ولی دستگاه مکنسن مقرون به صرفه‌تر از آن است و بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. در سال‌های اخیر نیز در اروپا، با اعمال تغییراتی در سرنگ تلقیح و قسمت‌های دیگر آن، انواع مختلفی از دستگاه‌های تلقیح مصنوعی عرضه شده که یکی از آنها دستگاه تلقیح مصنوعی سوئیتی<sup>۴</sup> است؛ این دستگاه

1. Roberts  
2. Valve fold  
3. Taber  
4. Swienty



دارای سرنگ شیشه‌ای بلند با ظرفیتی بیش از سرنگ مکنسن است و تنظیم قلاب‌ها و سرنگ نیز با پیچ انجام می‌شود و قلاب‌ها خیلی نرم و دقیق جابه‌جا شده و ملکه را برای تزریق آماده می‌کنند. دستگاه تلقیح مصنوعی شلی<sup>۱</sup> نیز، نوع دیگری از دستگاه‌های تلقیح مصنوعی جدید است که توسط پیتر شلی ساخته شده و در بعضی مناطق جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ از مزایای این دستگاه می‌توان به کامل بودن امکانات مورد نیاز و سهولت کاربرد و دقت بالای آن اشاره نمود.

### ۲-۱. اهداف تلقیح مصنوعی

مهم‌ترین هدفی که در تلقیح مصنوعی دنبال می‌شود، همان‌طوری که در بخش‌های قبلی توضیح داده شد، کنترل تلاقی ملکه با نرهای موردنظر برای اصلاح و یا بهبود نژاد و یا دورگ‌گیری است. به دلیل خصوصیات رفتاری ملکه و نر در زمان جفت‌گیری، کنترل تلاقی در شرایط طبیعی بسیار مشکل و در مواردی غیرممکن است. لذا متخصصین اصلاح نژاد با انجام تلقیح مصنوعی و با کنترل تلاقی‌ها، اهداف خاصی را در جهت بهبود خصوصیات رفتاری و تولیدی کلنی‌های زنبورعسل دنبال می‌کنند؛ زیرا در کلنی‌های زنبورعسل، ملکه تنها موجود تولیدمثل‌کننده است و بسیاری از خصوصیات، از طریق ملکه به کارگران منتقل می‌شود؛ از طرف دیگر، امکان پیشگیری و مقابله با تهدیدهایی، مثل ظهور آفات و بیماری‌ها در مناطق پرورش ملکه با استفاده از تلقیح مصنوعی برای زنبورداران میسر می‌شود.

هدف دیگری که در تلقیح مصنوعی دنبال می‌شود این است که بتوان در شرایط مختلف، تلاقی را انجام داد. در واقع با استفاده از این روش، محدودیت‌های مربوط به شرایط محیطی، که گاهی می‌تواند عملیات اصلاح نژادی را تحت‌الشعاع قرار دهد، مرتفع می‌گردد؛ زیرا انجام تلقیح مصنوعی، در صورت آماده کردن نرها و ملکه‌ها از قبل، در هر ساعتی از شبانه‌روز میسر بوده و حتی در شرایط نامساعد محیطی، مثل هوای همراه با باد، باران و ابر و... با فراهم کردن شرایط مناسب در آزمایشگاه، انجام تلقیح امکان‌پذیر می‌شود.

### ۳-۱. مزایا و معایب تلقیح مصنوعی

انجام تلقیح مصنوعی زنبورعسل با توجه به محدودیت‌های ذکر شده در مواقعی، تنها راه ممکن برای رسیدن به اهداف پرورش‌دهندگان زنبورعسل می‌باشد ولی مانند هر روش دیگری، دارای مزایا و معایبی است که مختصراً به بعضی از آنها اشاره می‌شود.

### ۱-۳-۱. مزایای تلقیح مصنوعی

همان طوری که قبلاً توضیح داده شد، مهم‌ترین حسن تلقیح مصنوعی، کنترل تلاقی ملکه با نرهای موردنظر است که بسیار مورد توجه متخصصین اصلاح نژاد می‌باشد. با انجام تلقیح مصنوعی، نه تنها می‌توان ملکه را با نرهای کلنی‌های پدری موردنظر تلاقی داد، بلکه حتی می‌توان با نرهای تولید شده توسط یک کلنی پدری تلقیح نمود و به عبارت دیگر، کل اسپرم موردنیاز برای تلقیح ملکه را از نرهای یک کلنی پدری تأمین نمود.

در واقع با انجام این کار، صفات اقتصادی و تولیدی برتر و نیز صفات رفتاری مناسب، به نتاج منتقل می‌شود و انتقال صفات از والدین به نتاج، تحت کنترل پرورش‌دهندگان ملکه و پرورش‌دهندگان زنبورعسل، انجام می‌گیرد.

استفاده از تلقیح مصنوعی، زمینه مناسبی را برای اصلاح نژاد در جمعیت‌های بسته هموار می‌سازد که در آن شرایط می‌توان با بسیاری از تهدیدهای زنبورداری در مناطق مختلف مقابله نمود؛ مثلاً در زمان ظهور آفت، یا یک بیماری خطرناک، در یک منطقه و عدم کارایی روش‌های متداول پیش‌گیری و درمان، می‌توان در جهت ایجاد جمعیت یا لاین مقاوم به آفت و بیماری تلاش کرد؛ همچنین برای مقابله با تهدیدهایی، مثل زنبورهای افریقایی شده<sup>۱</sup>، در امریکای شمالی، می‌توان در قالب طرح‌های اصلاح نژادی و با به‌کارگیری ابزارهایی مانند تلقیح مصنوعی، اقدام نمود.

در واقع با استفاده از تلقیح مصنوعی، راهی اقتصادی برای تولید پایا و با کیفیت ملکه‌هایی با صفات مطلوب، به روی صنعت زنبورداری گشوده می‌شود.

از مزایای دیگر تلقیح مصنوعی این است که انجام آن در هر ساعتی از شبانه‌روز در آزمایشگاه میسر است و مانند جفت‌گیری طبیعی، به ساعات معینی از شبانه‌روز نیازی نیست. قابلیت انجام تلقیح مصنوعی در هرگونه شرایط اقلیمی و محیطی نیز، از محاسن دیگر این روش است؛ زیرا در زمان‌هایی که به دلیل ابری بودن و بارندگی، باد شدید، گرما و یا سرمای زیاد در طبیعت، امکان جفت‌گیری طبیعی ملکه‌ها وجود ندارد، می‌توان با ایجاد شرایط مناسب در آزمایشگاه، تلقیح مصنوعی ملکه را انجام داد و ملکه بارور تولید نمود.

### ۱-۳-۲. معایب تلقیح مصنوعی

از معایب سیستم تلقیح مصنوعی این است که معمولاً قابل استفاده برای تولیدکنندگان ملکه نیست، تولید ملکه‌های بارور با این روش بسیار گران تمام می‌شود و خرید آنها برای

مصرف‌کنندگان مقرون به‌صرفه نخواهد بود و لذا این سیستم، در کارهای تحقیقاتی و اصلاح‌نژادی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

گران بودن دستگاه تلقیح مصنوعی و عدم امکان تهیه آن برای پرورش‌دهندگان زنبور عسل و ایستگاه‌های اصلاح نژاد، از معایب دیگر این سیستم است؛ زیرا برای انجام تلقیح مصنوعی علاوه بر دستگاه مربوطه، باید مکان مناسبی وجود داشته باشد که بتوان شرایط بهداشتی و محیط لازم را در آن فراهم نمود؛ ضمناً تأمین امکانات دیگری، مثل استریومیکروسکوپ، کپسول‌های گاز کربنیک و ضمائم آنها، در مجموع انجام تلقیح را برای پرورش‌دهندگان محدود می‌سازد.

از محدودیت‌های مهم دیگر، نیاز به افراد متبحر و آموزش دیده است که بتوانند تلقیح مصنوعی ملکه را انجام دهند؛ با توجه به اینکه چنین افرادی نیاز به تمرین و ممارست زیادی دارند تا مهارت لازم را برای انجام تلقیح موفق کسب نمایند و افراد ماهر نیز برای انجام هر تلقیح، به ۱۵ تا ۲۰ دقیقه زمان نیاز دارند، لذا با این روش، صرفاً تعداد محدودی ملکه می‌تواند توسط هر فرد در روز تلقیح شود.

امکان آلودگی ملکه به بیماری‌های مختلفی، که در بخش دیگری درباره آنها بحث خواهد شد، از معایب و محدودیت‌های دیگر تلقیح مصنوعی است؛ لذا برای انجام تلقیح مصنوعی موفق، باید شرایط قرنطینه مؤثر و امکانات بهداشتی مناسبی را در اطاق تلقیح مصنوعی به‌وجود آورد و در واقع، لازم است به مسائل بهداشتی مختلف در زمان تلقیح توجه گردد تا ملکه‌های سالم و عاری از بیماری، تلقیح و آماده معرفی به کلنی‌ها شوند.

از محدودیت‌های دیگر این سیستم، نیاز به تعداد نر کافی و مناسب است که باید در کلنی‌های پدری پرورش داده شده باشند؛ بنابراین برای انجام تلقیح مصنوعی موفق، باید با توجه به زیست‌شناسی و زمان بلوغ زنبور عسل ملکه و نر، از قبل برنامه‌ریزی دقیقی درباره پرورش نرها و ملکه‌ها داشته باشیم و به‌طور همزمان، ملکه و نرهای بالغ در اختیار ما باشد تا بتوان تلقیح مصنوعی را انجام داد. لازم به ذکر است که در جفت‌گیری طبیعی، این عمل در طی زمان پرورش ملکه صورت می‌گیرد و به کنترل دقیق زمان بلوغ ملکه و نرها نیازی نیست ولی در روش تلقیح مصنوعی، باید دقیقاً از وضعیت ملکه‌ها و نرهای موجود در کلنی‌ها و زمان دقیق تولد آنها (حشرات کامل) آگاهی داشت و موارد مذکور تحت کنترل باشد.

### پرسش‌های فصل اول

- ۱- چرا کنترل تلاقی ملکه زنبورعسل اهمیت زیادی دارد؟
- ۲- ویژگی‌های رفتاری و فیزیولوژیکی تولیدمثل را در ملکه زنبورعسل توضیح دهید.
- ۳- مهم‌ترین دانشمندانی را که در تکمیل دستگاه تلقیح مصنوعی نقش داشته‌اند، نام ببرید.
- ۴- اهداف تلقیح مصنوعی زنبورعسل را توضیح دهید.
- ۵- مزایای تلقیح مصنوعی ملکه زنبورعسل را شرح دهید.
- ۶- معایب تلقیح مصنوعی ملکه زنبورعسل را توضیح دهید.

# فصل دوم

## روش‌های کنترل جفت‌گیری ملکه

### زنبور عسل

---

#### هدف‌های رفتاری

##### فراگیر گرامی

در پایان این فصل و پس از یادگیری کامل مطالب، از شما انتظار می‌رود:

- ۱- با خصوصیات رفتاری ملکه در زمان تولید مثل آشنا شوید.
- ۲- با روش‌های مختلف کنترل جفت‌گیری ملکه زنبور عسل آشنا شوید.

## ۱-۲. رفتارهای تولید مثل در زنبور عسل

با توجه به خصوصیات رفتاری ملکه زنبور عسل و نرهای زنبور عسل، کنترل تلاقی ملکه بسیار مشکل است؛ زیرا از یک طرف جفت گیری به هیچ وجه در فضای بسته و قابل کنترل، میسر نیست و باید در فضای باز صورت گیرد و از طرف دیگر، ملکه زنبور عسل در طی ۱-۳ پرواز جفت گیری<sup>۱</sup> به طور متوسط، با تعداد ۷-۱۰ زنبور نر و در بعضی مواقع، با بیش از ۲۰ تا ۲۸ زنبور نر جفت گیری می کند (Currie, 1987). زنبور ملکه در ۴-۱۰ روز به سن بلوغ می رسد و آماده جفت گیری می شود؛ طول این مدت به شرایط اقلیمی محل پرورش ارتباط دارد و در مناطق گرم، این زمان کوتاه تر است و ملکه، زودتر آماده جفت گیری می شود. از طرف دیگر، زنبوران نر ۱۰-۱۴ روز و به طور متوسط ۱۲ روز پس از خروج از شفیره، بالغ و آماده جفت گیری می شوند (طهماسبی، ۱۳۸۶).

## ۲-۲. منطقه تجمع نرها<sup>۲</sup>

در زمان های گذشته تصور می شد که در پرواز جفت گیری، زنبورهای نر در فضا خود را به ملکه می رسانند و جفت گیری صورت می گیرد اما با تحقیقات دقیق تر توسط مورس<sup>۳</sup> (۱۹۶۳) و روتنر<sup>۴</sup> (۱۹۶۵) مشخص گردید که در فصل جفت گیری و در زمان مناسبی در بعد از ظهر یک روز آفتابی، که باد شدید وجود نداشته باشد و شرایط اقلیمی مناسبی حاکم باشد، ملکه ها برای تلاقی از کندوهای جفت گیری خارج می شوند و خود را به منطقه تجمع نرها می رسانند (Free, 1987). زنبوران نر در این منطقه، که در جنگل ها، اطراف جاده ها، رودها و دره ها می باشد، تجمع می کنند (Otis, 2005)؛ این محل در مناطق تپه ای و کوهستانی، در محل هایی که توسط درختان محصور شده، ایجاد می گردد و در واقع توسط درختان بلند، پرچین ها و کناره ساختمان ها علامت گذاری می شود (Free, 1987). در مناطق پرورش ملکه زنبور عسل در ایران نیز، محل تجمع نرها معمولاً در روی مزارع یا مراتع تشکیل می شود و در مواردی، محل تجمع نرها توسط درختان محصور شده است (طهماسبی، ۱۳۸۶).

ارتفاع منطقه تجمع نرها از زمین، توسط محققین مختلف و به شکل های گوناگون گزارش شده است: بعضی از آنها انجام این عمل را در ارتفاع حدود ۱۰ متر، ولی بسیاری دیگر، ارتفاع ۱۰-۲۵ متری از سطح زمین را گزارش نموده اند. در هر حال، این منطقه در ارتفاعی از

1. Mating flight
2. Drone congregation area
3. Morse
4. Ruttner



سطح زمین تشکیل می‌شود که از محل عبور و مرور کارگران بالاتر بوده و زنبوران نر و ملکه در آن حضور پیدا می‌کنند (Free, 1987). در روزهای گرم، معمولاً این محل در مرتفع‌ترین محل تشکیل می‌شود و طول این منطقه، عموماً بین ۳۰ تا ۲۰۰ متر متغیر است. علی‌رغم نابود شدن زنبوران نر، محل تجمع آنها، از سالی به سال دیگر عوض نمی‌شود و در بسیاری مواقع، از این محل به این منظور استفاده می‌شود، مثلاً مکانی در انگلستان وجود دارد که از سال ۱۷۶۸ توسط وایت به‌عنوان محل تجمع نرها معرفی شده و هنوز هم، محل تجمع نرها به شمار می‌رود (Free, 1987).

تجمع نرها در این محل به شکلی است که گاهی به نظر می‌رسد که بچه کندویی از نرها در حال پرواز هستند. تعداد زنبوران نر در این مکان، گاهی به بیش از ده هزار عدد می‌رسد که از کثنی‌های اطراف در شعاع ۱-۲ کیلومتری و گاهی از فواصل بیش از ۵-۶ کیلومتری به این محل می‌آیند.

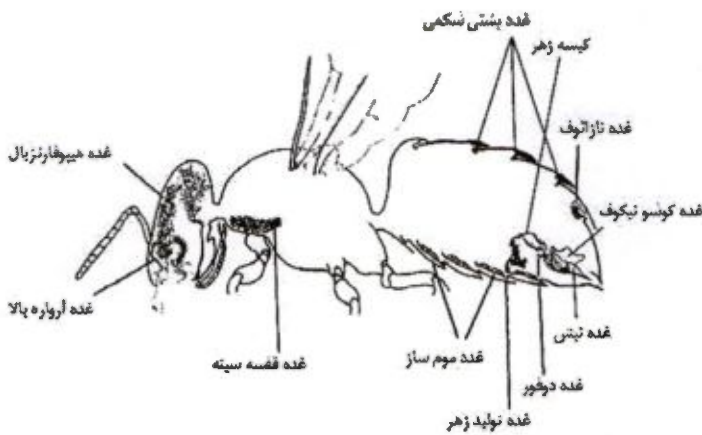
بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که زنبوران نر در هنگام وزش نسیم و بادهای ملایم، بیشتر در حال پروازاند و در زمان‌های آرام و بدون باد، پرواز آنها قطع می‌شود؛ شاید جابه‌جا شدن و پخش فرمون‌های جنسی نر و ملکه توسط باد، عامل محرکی برای پرواز بیشتر نرها در این شرایط باشد (Free, 1987).

## ۲-۳. فرمون‌های جفت‌گیری

در زنبورعسل نیز، مانند سایر حشرات، فرمون‌های جنسی در انجام جفت‌گیری و تولیدمثل دخالت دارند و تحقیقات انجام شده درباره این حشره نشان می‌دهد که فرمون جنسی نر، که توسط غددی در سر این حشره تولید می‌شود، باعث جلب زنبوران نر دیگر و تشکیل منطقه تجمع نرها می‌گردد (Free, 1987). گاهی زنبوران نر از مسافت‌های دور به این محل جلب می‌شوند و شرکت آنها در تلاقی‌ها، باعث کاهش هم‌خونی زنبوران عسل می‌شود. علاوه بر نرها، این فرمون در جلب ملکه‌های باکره به این محل نیز، نقش بسیار مهمی دارد و زنبوران ملکه را به این منطقه هدایت می‌کند. پس از تشکیل منطقه جفت‌گیری و رسیدن ملکه‌ها به آن، فرمون‌های ملکه در جلب نرها و جفت‌گیری ایفای نقش می‌نمایند؛ از جمله فرمون‌های مؤثر در این مرحله، فرمون (9-Oxo-2 decenoic acid) است که توسط غدد آرواره بالا<sup>۱</sup> ترشح می‌شود (Free, 1987) و از فواصل حدود ۵۰-۶۰ متری، زنبوران نر را به سوی ملکه جلب می‌کند. فرمون یاد شده در ملکه‌های تازه متولد شده کمتر است و با افزایش سن ملکه، مقدار آن زیاد می‌شود و در ملکه



ده روزه، به بالاترین حد خود می‌رسد (Free, 1987). فرومون مذکور یک جلب‌کننده قوی است که از فواصل دور، قادر به جلب زنبوران نر می‌باشد ولی علاوه بر آن، فرومون دیگری نیز توسط غدد پشت شکم<sup>۱</sup> ترشح می‌شود (شکل ۲-۱) که در جلب زنبوران نر در فاصله کمتر، دخالت دارد. غدد پشت شکم در زیر نیم‌حلقه‌های سوم، چهارم و پنجم پشتی شکمی زنبور ملکه قرار دارد و ترشحات آن در غیاب غدد آرواره بالا، باعث جلب نرها می‌شود؛ لذا فرومون ترشح شده توسط آنها، برای انجام جفت‌گیری لازم است (Free, 1987).



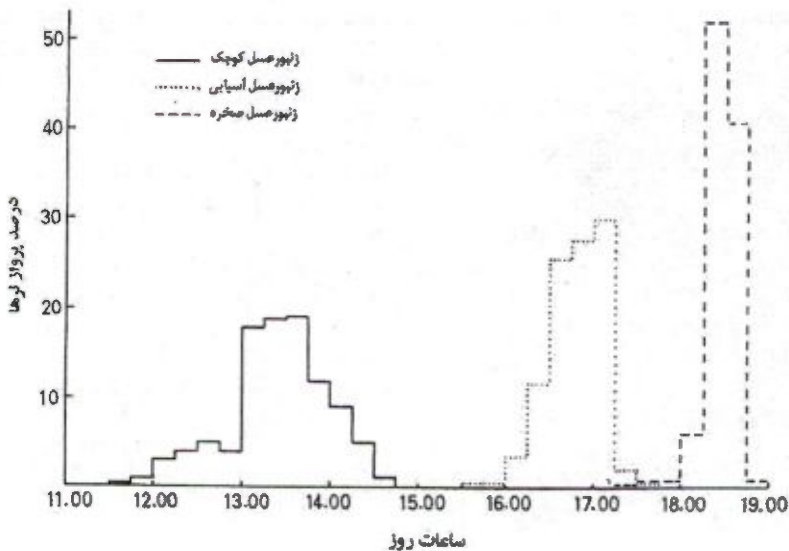
شکل ۲-۱: غدد تولیدکننده فرومون‌ها در بدن زنبورعسل (Free, 1987)

باز شدن محفظه نیش توسط ملکه در زمان جفت‌گیری لازم است و گاهی که نرها جلب ملکه می‌شوند، به علت عدم باز شدن محفظه نیش ملکه، جفت‌گیری صورت نمی‌گیرد؛ در این حالت، زنبور نر از ملکه جدا می‌شود و یا توسط نرهای دیگر، جایگزین می‌گردد.

## ۴-۲. زمان جفت‌گیری در زنبورعسل

فرومون (9-oxo-2 decenoic acid) در گونه‌های مختلف زنبورعسل وجود دارد و مجموعه تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که فرومون گونه‌های مختلف، در جلب نرهای گونه‌های دیگر مؤثر است؛ به طوری که فرومون زنبورعسل کوچک، آسیایی و حتی زنبورعسل صخره، در جلب نرهای زنبورعسل اروپایی مؤثر می‌باشد (Free, 1987). عکس این حالت هم اتفاق می‌افتد ولی در

مناطقى که محل زیست این گونه‌ها همپوشانى دارد، عواملی مثل تفاوت مرفولوژیک و آناتومیک و نیز تفاوت‌های رفتاری، از جمله زمان جفت‌گیری، در جدایی و تفکیک این گونه‌های سیمپاتریک<sup>۱</sup> مؤثر است. تحقیقات کونیگر<sup>۲</sup> در سریلانکا نشان می‌دهد زمان پرواز جفت‌گیری گونه‌های کوچک، بین ساعات ۱۲-۱۴/۳۰، در زنبور عسل آسیایی، بین ساعات ۱۶-۱۷ و در زنبور عسل صخره، بین ساعات ۱۸-۱۹ می‌باشد (Free, 1987). زمان پرواز جفت‌گیری در زنبور عسل اروپایی، بین ساعات ۱۳ تا ۱۵ و حتی ۱۶ هم گزارش شده است (شکل ۲-۲).



شکل ۲-۲: زمان پرواز جفت‌گیری نرها و ملکه در گونه‌های مختلف زنبور عسل (Free 1987)

لازم به ذکر است که بر اساس بررسی‌های وویکه<sup>۳</sup>، ملکه‌های باکره به تلاقی با نرهای کلنی‌های دورتر تمایل دارند و نیز مناطق تجمع با نرهای جلب شده از زنبورستان‌های متنوع و مختلف را ترجیح می‌دهند و در مجموع، این خصوصیات رفتاری ملکه‌های باکره، باعث حفظ تنوع ژنتیکی و کاهش هم‌خونی در زنبوران عسل می‌شود.

1. *Sympatric*
2. *Koeniger*
3. *Woyke*

## ۲-۵. علامت جفت‌گیری<sup>۲</sup>

پس از هر جفت‌گیری، آلت تناسلی نر در انتهای بدن ملکه باقی می‌ماند و نرهای بعدی، که برای جفت‌گیری خود را به ملکه می‌رسانند، آلت تناسلی نر قبلی را خارج می‌کنند و خود عمل جفت‌گیری را انجام می‌دهند و پس از جفت‌گیری، به دلیل جدا شدن دستگاه تناسلی، از بین می‌روند؛ این مسئله نیز، در کاهش هم‌خونی زنبورعسل بسیار مؤثر است و از رازهای خلقت این موجود می‌باشد.

به هر حال، بعد از اینکه ملکه با تعداد نر کافی جفت‌گیری نمود و اسپرم کافی برای پر شدن کیسه ذخیره اسپرم را در جفت‌گیری‌ها کسب کرد، پس از جفت‌گیری با آخرین نر، به کندو باز می‌گردد. معمولاً آلت تناسلی آخرین نری که با ملکه جفت‌گیری کرده به عنوان «علامت جفت‌گیری» روی بدن ملکه وجود دارد و زنبورداران با مشاهده علامت جفت‌گیری، از موفقیت ملکه در پرواز جفت‌گیری، اطمینان حاصل می‌کنند؛ پس از بازگشت ملکه به کندو، زنبوران کارگر آلت تناسلی آخرین نر را از بدن ملکه جدا می‌کنند.

پس از جفت‌گیری و بازگشت ملکه به کندو و به دلیل اینکه مدتی طول می‌کشد تا اسپرم از لوله‌های تخم‌بر<sup>۱</sup> به کیسه ذخیره اسپرم<sup>۲</sup> منتقل گردد، معمولاً تأخیر تخم‌ریزی مشاهده می‌گردد که با توجه به شرایط محیطی، این تأخیر، ۲-۳ روز در ملکه‌ها طول می‌کشد؛ در واقع فاصله بین جفت‌گیری و اولین تخم‌های ملکه، که در سلول‌ها قرار می‌دهد، بین دو تا سه روز است (عبادی و احمدی، ۱۳۸۷).

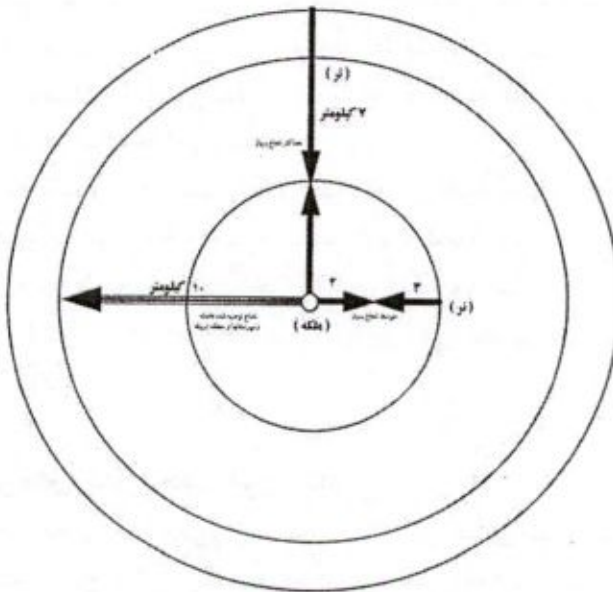
## ۲-۶. روش‌های کنترل جفت‌گیری ملکه

طبق تحقیقات انجام شده، تلاقی‌های متعدد و عدم امکان کنترل جفت‌گیری ملکه با نرها، از مشکلات عمده اصلاح نژاد زنبورعسل می‌باشد و در بسیاری مواقع، اصلاح‌گران فقط بر اساس انتخاب ملکه برتر، عملیات اصلاح نژادی را برنامه‌ریزی می‌نمایند. این امر باعث می‌شود که در بسیاری از صفات، پیشرفت دلخواه حاصل نشود. یکی از راه‌های کنترل تلاقی‌های ملکه، استفاده از مناطق ایزوله جفت‌گیری است. زنبوران عسل نر، به‌طور متوسط تا ۴ کیلومتر از کلنی‌های پدری دور می‌شوند و حداکثر تا ۷ کیلومتر برای انجام جفت‌گیری و یافتن ملکه، از کندوهای پدری فاصله می‌گیرند؛ در واقع با توجه به حداکثر شعاع پرواز نرها، ملکه با زنبوران نر کلنی‌های زنبورعسل محدودهٔ بیش از ۲۰۰ کیلومتر مربع در اطراف ایستگاه‌ها، جفت‌گیری می‌کند

1. Oviduct

2. Spermatheca

(Otis, 2005). از طرف دیگر، زنبوران ملکه برای رسیدن به منطقه تجمع نرها و انجام جفت‌گیری، به‌طور متوسط ۲ کیلومتر و حداکثر ۵ کیلومتر از کلنی‌های جفت‌گیری دور می‌شوند؛ بنابراین با در نظر گرفتن حداکثر مسافتی که ملکه و نرها از کلنی‌های خود دور می‌شوند، طبق شکل ۲-۳، باید فاصله ۱۲ کیلومتر را برای عدم تداخل نرهای بیگانه در جفت‌گیری قائل شویم؛ ولی با توجه به اینکه فواصل حداکثر تعیین شده از هر دو طرف به‌ندرت طی می‌شود، محققین اصلاح نژاد زنبور عسل اعتقاد دارند که تا شعاع ۱۰ کیلومتر در اطراف زنبورستان مورد نظر، نباید زنبورستان دیگری وجود داشته باشد تا بتوان از تلاقی نرهای مورد نظر در کلنی‌های پدري، با ملکه‌های پرورش داده شده در همان زنبورستان، اطمینان حاصل کرد.



شکل ۲-۳: شعاع پرواز نرها و ملکه در پرواز جفت‌گیری و فاصله مناسب از سایر زنبورستان‌ها برای مناطق ایزوله جفت‌گیری

لذا با توجه به مطالب مذکور، اگر لازم باشد که منطقه ایزوله‌ای برای جفت‌گیری ملکه‌ها و نرهای مورد نظر ایجاد شود، باید در اطراف زنبورستان مورد نظر، یا حداقل منطقه‌ای که کلنی‌های جفت‌گیری و پدري در آن مستقر می‌شوند، به شعاع ۱۰ کیلومتر، هیچ زنبورستان یا کلنی دیگر و یا کلنی‌های وحشی وجود نداشته باشد.

باید توجه داشت که ایزوله کردن چنین منطقه وسیعی، کار خیلی مشکلی است؛ ضمن اینکه در جنگل‌ها و مراتع نیز، امکان وجود کلنی‌های وحشی<sup>۱</sup> منتفی نیست و مشکل را دوچندان می‌کند.

خصوصیات رفتاری زنبوران نر هنگام پرواز از روی آب، این امکان را فراهم می‌سازد که بتوان در جزایر با فاصله بیش از ۲ کیلومتر از خشکی، منطقه جفت‌گیری را سازماندهی نمود؛ در این جزایر، ملکه‌های تولید شده موردنظر با نرهای کلنی‌های پدري انتخابی در جزیره، جفت‌گیری می‌نمایند و امکان عبور زنبوران نر در خشکی‌های اطراف جزیره از روی آب، وجود ندارد؛ در واقع اشعه منعکس شده از آب، برای زنبوران عسل نر مشکل‌ساز بوده و نرها تمایلی به عبور از روی آب دریا ندارند. تا چندین سال پیش، فاصله یک کیلومتری جزایر را هم برای عدم عبور زنبوران نر کافی می‌دانستند، ولی در سال‌های اخیر و پس از بررسی‌های مولکولی نتایج حاصل از ملکه‌های پرورش یافته در جزایر، فاصله ۲ کیلومتر از سواحل برای جزایر ایزوله جفت‌گیری توصیه می‌شود (بینفلد، ۱۳۷۷).

برای کنترل جفت‌گیری در کشورهایی مثل کانادا، دانمارک و سوئد، از جزایر ایزوله شده استفاده می‌شود. در کشور ما نیز، جزایر دریای خزر، مانند شبه جزیره میانکاله، جزایر جنوبی کشور در دریای عمان و خلیج فارس، مثل جزیره قشم و کیش و نیز جزایر دریاچه ارومیه، در صورت فراهم بودن سایر شرایط، می‌تواند به این منظور استفاده شود.

در مصر، از مرغزارها و آبادی‌های داخل کویر به عنوان منطقه ایزوله جفت‌گیری استفاده می‌شود که در بسیاری موارد، با موفقیت همراه بوده است (Otis, 2005). در ایران نیز، امکان استفاده از چنین مناطقی در کویرهای لوت و نمک، در شرق کشور، میسر است و باید تلاش کرد تا مکان‌های مناسبی برای این منظور پیدا شود.

### پرسش‌های فصل دوم

- ۱- تلاقی زنبور ملکه و زنبوران نر در کجا انجام می‌شود؟
- ۲- هر زنبور ملکه با چند زنبور نر جفت‌گیری می‌کند؟
- ۳- راجع به نقش فرمون‌های جنسی در جفت‌گیری زنبور عسل توضیح دهید.
- ۴- تفاوت زمان جفت‌گیری را در گونه‌های مختلف زنبور عسل شرح دهید.
- ۵- راجع به علامت جفت‌گیری (Mating Sign) در ملکه زنبور عسل چه می‌دانید؟
- ۶- چند روز پس از جفت‌گیری، ملکه تخم‌ریزی را شروع می‌کند؟
- ۷- کنترل مکانی تلاقی ملکه با چه روش‌هایی میسر است؟

# فصل سوم

## ساختمان دستگاه تولید مثل

### زنبور عسل نر و ملکه

---

#### هدف‌های رفتاری

##### فراگیر گرامی

در پایان این فصل و پس از یادگیری کامل مطالب، از شما انتظار می‌رود:

- ۱- ساختمان دستگاه تولید مثل نر را توضیح دهید.
- ۲- ساختمان دستگاه تولید مثل ملکه را توضیح دهید.
- ۳- وظایف دستگاه تولید مثل نر و ماده را شرح دهید.
- ۴- نقش غدد ضمیمه و بخش‌های جانبی دستگاه تولید مثل نر و ماده را توضیح دهید.



### ۳-۱. مقدمه

تولید مثل در زنبورعسل با دو روش دوجنسی<sup>۱</sup> و بکرزایی<sup>۲</sup> انجام می‌شود و در واقع تولید مثل در زنبورعسل از نوع بکرزایی اختیاری<sup>۳</sup> است. در بسیاری از گونه‌های حشرات، حشره نر و ماده با یکدیگر تفاوت دارند و از روی صفات ظاهری قابل تفکیک‌اند که به این حالت، دوشکلی جنسی<sup>۴</sup> می‌گویند. در زنبورعسل نیز، دوشکلی جنسی وجود دارد و علاوه بر تفاوت جنه و شکل چشم‌ها، تعداد بندهای شاخک در زنبور نر و ملکه متفاوت است. زنبوران نر دارای جنه فریه‌تر از کارگران و ملکه بوده و چشم‌های مرکب آنها نیز بزرگ‌تر است و در فرق سر به هم می‌رسند. تعداد بندهای شاخک در زنبوران نر، ۱۳ بند و در زنبوران ماده، اعم از ملکه یا کارگر، ۱۲ بند می‌باشد. دستگاه تناسلی در زنبورعسل نر و ماده دارای اعضای مشابه و متفاوتی است.

برای انجام تلقیح مصنوعی موفق، باید شناخت دقیقی از دستگاه‌های تولید مثل زنبوران نر و ملکه داشته باشیم؛ بنابراین در این فصل به‌طور مختصر دستگاه تولید مثل آنها توضیح داده می‌شود.

### ۳-۲. دستگاه تولید مثل زنبورعسل نر

دستگاه تناسلی زنبور نر از دو بخش داخلی و خارجی به‌وجود آمده است:

#### ۳-۲-۱. بخش داخلی دستگاه تناسلی نر

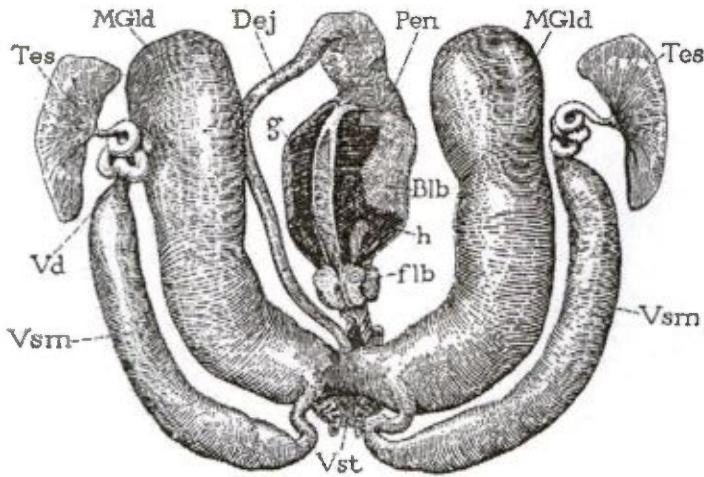
در بخش داخلی، دو غده جنسی به‌نام بیضه<sup>۵</sup> وظیفه تولید اسپرماتوزوئید را به عهده دارند که در هر زنبور نر، یک جفت بیضه در طرفین شکم قرار گرفته است؛ در داخل هر بیضه هم، تعداد زیادی لوله‌های اسپرم‌ساز<sup>۶</sup> وجود دارد که وظیفه اسپرم‌سازی را به‌عهده دارند. در طول این لوله‌ها، از قسمت بالا رو به پایین، مراحل تکاملی اسپرم صورت می‌گیرد؛ به‌عبارت دیگر، در قسمت‌های بالایی لوله، شکل ابتدایی و اولیه اسپرم تشکیل می‌شود و در قسمت‌های پایین‌تر، به‌تدریج مراحل تکاملی خود را طی می‌کند تا نهایتاً در انتهای آن اسپرماتوزوئید کامل به‌وجود می‌آید.

1. Bisexual
2. Parthenogenesis
3. Facultative Parthengensis
4. Sexual dimorphisme
5. Testis
6. Seminifer

در بخش ژرماریوم<sup>۱</sup> یا تولید سلول‌های جنسی اولیه<sup>۲</sup>، که بخش ابتدایی لوله اسپرم‌ساز است، تعداد زیادی سلول‌های جنسی اولیه به‌وجود می‌آید؛ سلول‌های جنسی اولیه تقسیم شده، اسپرماتوسیت<sup>۳</sup> اولیه را می‌سازند که تعدادی از آنها در داخل یک کیسه قرار دارد؛ سپس در هنگام بلوغ، اسپرماتوسیت‌های ثانویه و اسپرماتیدها<sup>۴</sup> از تقسیم اسپرماتوسیت‌های اولیه به‌وجود می‌آیند. اسپرماتیدها در مراحل آخر تکاملی خود و چهار روز قبل از ظهور زنبوران نر کامل، از سفیره، تغییر شکل داده و اسپرماتوزوئید<sup>۵</sup> را به‌وجود می‌آورند؛ پس از آن اسپرماتوزوئیدها وارد مجاری اسپرم‌بر جانبی<sup>۶</sup> و سپس به کیسه اسپرم<sup>۷</sup> منتقل می‌شوند. هر کدام از بیضه‌ها، توسط مجرای بی به بخش خارجی دستگاه تناسلی متصل می‌شوند. مجاری اسپرم‌بر جانبی، وظیفه انتقال اسپرماتوزوئید را از بیضه‌ها به‌عهده دارند؛ این لوله‌ها حجیم شده و کیسه اسپرم را به‌وجود می‌آورند که محل جمع‌آوری و ذخیره اسپرم تولید شده است.

در محل اتصال دو کیسه اسپرم و به‌وجود آمدن لوله عمومی اسپرم<sup>۸</sup> یا اسپرم‌بر میانی، یک جفت غدد ضمیمه جنسی، یا غدد تولید ماده مخاطی<sup>۹</sup> قرار دارد که بسیار بزرگ شده و وظیفه تولید موکوس و یا ماده مخاطی را به‌عهده دارند که در موقع تولید مثل، اسپرم بر روی آن قرار گرفته و منتقل می‌شود (شکل ۳-۱)؛ سپس لوله اسپرم‌بر میانی، به بخش خارجی دستگاه تناسلی نر متصل می‌گردد.

1. Germarium
2. Spermatogonia
3. Spermatocyt
4. Spermatid
5. Spermatozoid
6. Vas deferentia
7. Seminal vasida
8. Ejaculatory duct
9. Mucus glands

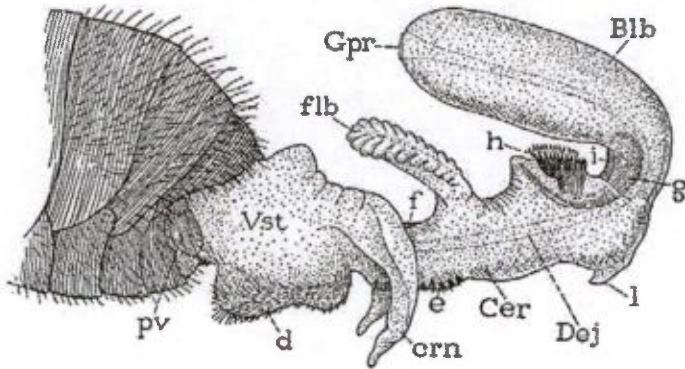


شکل ۳-۱: قسمت داخلی دستگاه تناسلی نر در زنبور عسل

Tes: بیضه، MGld: غدد ضمیمه جنسی یا غدد تولید ماده مخاطی، Pen: آلت تناسلی نر، Dej: لوله اسپرم بر میانی یا لوله خروج اسپرم، Vd: لوله اسپرم بر جانبی، Vsm: کیسه اسپرم، flb: لبه حاشیه دار آلت (Fimbriated lobe of penis)، Vst: دهلیز یا دالان اسپرم (Vestibulum of inverted penis)، h: صفحات جانبی، g: محل خمیدگی حباب (Snodgrass, 1984)

۲-۲-۳. بخش خارجی دستگاه تناسلی نر

قسمت خارجی دستگاه تناسلی نر، یا آلت تناسلی نر<sup>۱</sup>، در زمان جفت‌گیری از بدن زنبورعسل خارج می‌شود و وظیفه انتقال اسپرم را به‌عهده می‌گیرد. (شکل ۲-۳).



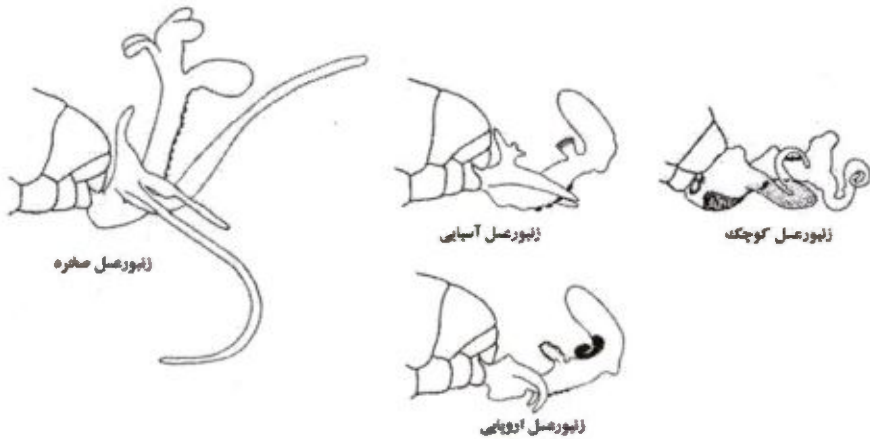
شکل ۲-۳: قسمت خارجی دستگاه تناسلی نر در زنبورعسل یا آلت تناسلی نر خارج شده از بدن زنبورعسل نر

h: صفحات جانبی، i: بخش کوتیکولی و سخت زیر صفحات جانبی در زیر حباب آلت تناسلی نر، g: سمت انتهایی حباب که به شدت به سمت بالا خم شده است. l: پاکت انتهایی حباب، Gpr: محل خروج اسپرم (Gonopore)، Cer: گردن آلت تناسلی (Cervix)، flb: لبه حاشیه‌دار یا ریشه‌دار آلت تناسلی، Crn: شاخ آلت تناسلی (Cornua of penis)، Vst: دهلیز یا دالان اسپرم، Pv: سرپوش با دریچه آلت تناسلی، Blp: حباب انتهایی آلت تناسلی (Snodgrass, 1984)

در آلت تناسلی نر خارج شده از بدن زنبورعسل نر، لوله اسپرم‌بر میانی (Dej) در طول آلت تناسلی و حباب انتهایی آن کشیده می‌شود و اسپرم را به انتهای آلت تناسلی رسانده و از طریق سوراخ خروجی اسپرم (Gpr)، به بیرون آلت تناسلی ماده می‌رساند؛ حباب انتهایی آلت تناسلی (Blb)، که منفذ خروج اسپرم بر روی آن قرار گرفته است، در محل خمیدگی (g) به‌شدت رو به بالا خم می‌شود؛ صفحات جانبی آلت تناسلی (h)، قبل از محل خمیدگی است و در طرف دیگر محل خمیدگی، بخش کوتیکولی زیر صفحات جانبی (i) در زیر حباب انتهایی قرار گرفته است. در زمان جفت‌گیری، آلت تناسلی نر با سرعت از بدن زنبورعسل نر خارج می‌شود (Eversion) و سپس خروج اسپرم از انتهای آلت تناسلی همراه با ماده مخاطی ترشح شده توسط غدد مخاطی (Ejaculation) نیز، با سرعت و با شدت انجام می‌شود و اسپرم وارد دستگاه تناسلی

ملکه شده و به لوله‌های تخم‌بر جانبی می‌رسد؛ خروج آلت تناسلی نر در اثر انقباض شکم صورت می‌گیرد و انقباض شکم در زنبورعسل نر، توسط ماهیچه‌های شکمی زنبوران نر انجام می‌شود؛ در حالت قبل از خروج آلت (Evertion)، آلت تناسلی بین حباب و گردن آلت تناسلی (Cer) منقبض و جمع شده قرار می‌گیرد که به صورت یک منفذ در این قسمت دیده می‌شود.

قسمت خارجی دستگاه تناسلی نر، از بخش‌های متفاوتی تشکیل شده است. تفاوت دستگاه تناسلی نر، یا ژنیتالیا، از مهم‌ترین ابزارها برای تفکیک گونه‌های مختلف یک جنس در حشرات می‌باشد و در تفکیک گونه‌های مختلف زنبوران عسل، یا جنس (*Apis*) نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. تفاوت ژنیتالیا در چهارگونه زنبورعسل کوچک<sup>۱</sup>، آسیایی<sup>۲</sup>، اروپایی<sup>۳</sup> و صخره<sup>۴</sup>، در شکل ۳-۳ نشان داده شده است.



شکل ۳-۳: تفاوت ژنیتالای خارجی در گونه‌های مختلف زنبورعسل (Ruttner, 1988)

در هر چهارگونه زنبورعسل، یک لوله غشایی حاوی کانال اسپرم‌بر میانی وجود دارد ولی قسمت خارجی آلت تناسلی آنها تفاوت‌هایی با یکدیگر دارد که سبب می‌شود امکان جفت‌گیری

1. *Apis florea* (small honeybee)
2. *Apis cerana* (Asian honeybee)
3. *Apis mellifera* (European honeybee)
4. *Apis dorsata* (Rock honeybee)

بین گونه‌های مختلف میسر نباشد و فقط افراد داخل یک گونه، با هم امکان جفت‌گیری و تولید مثل داشته باشند.

از مهم‌ترین تفاوت‌های آلت تناسلی نر در گونه‌های مختلف زنبورعسل، اختلاف مربوط به شاخ آلت تناسلی است؛ به طوری که شاخ آلت تناسلی (Cm) در زنبورعسل صخره، خیلی بزرگ‌تر بوده و دارای شاخ سوم پشتی نیز می‌باشد؛ در این گونه، یکی از شاخ‌ها بلند و نازک بوده و به سمت پائین خم شده است.

در گونه زنبورعسل آسیایی، شاخ آلت تناسلی کوتاه‌تر از زنبورعسل صخره و در زنبورعسل اروپایی، شاخ‌ها کوتاه‌تر از هر دو گونه یاد شده و به طرف پائین خمیده شده است. وضعیت شاخ‌ها در آلت تناسلی زنبورعسل کوچک، کاملاً متفاوت و قوسی شده است که در شکل ۳-۳ دیده می‌شود.

حباب انتهایی آلت تناسلی در دو گونه زنبورعسل آسیایی و اروپایی، تا حدی به یکدیگر شبیه است ولی لبه حاشیه در زنبورعسل آسیایی، پهن‌تر و کوتاه‌تر از زنبورعسل اروپایی است. حباب انتهایی آلت تناسلی در زنبورعسل صخره، خیلی بلندتر است و در زنبورعسل کوچک نیز، وضعیت کاملاً متمایز و به طرف عقب، قوسی شکل شده است.

این وضعیت دستگاه تناسلی در بال‌غشائیان<sup>۱</sup> دیگر نیز، کم و بیش به همین شکل وجود دارد. اسپرم رسیده (بالغ)، که دارای یک بدنه کوچک و دم‌جنبان است، توسط بیضه‌ها ساخته شده و پس از عبور از لوله‌های اسپرم‌جانبی به کیسه اسپرم می‌ریزد و ذخیره می‌شود. اسپرم در زمان جفت‌گیری به لوله اسپرم‌بر میانی منتقل شده و پس از مخلوط شدن با ماده مخاطی تولید شده توسط غدد تولید ماده مخاطی، به قسمت حبابی شکل انتهایی، یا آلت تناسلی نر، رسیده و توسط این بخش وارد دستگاه تناسلی ماده می‌شود.

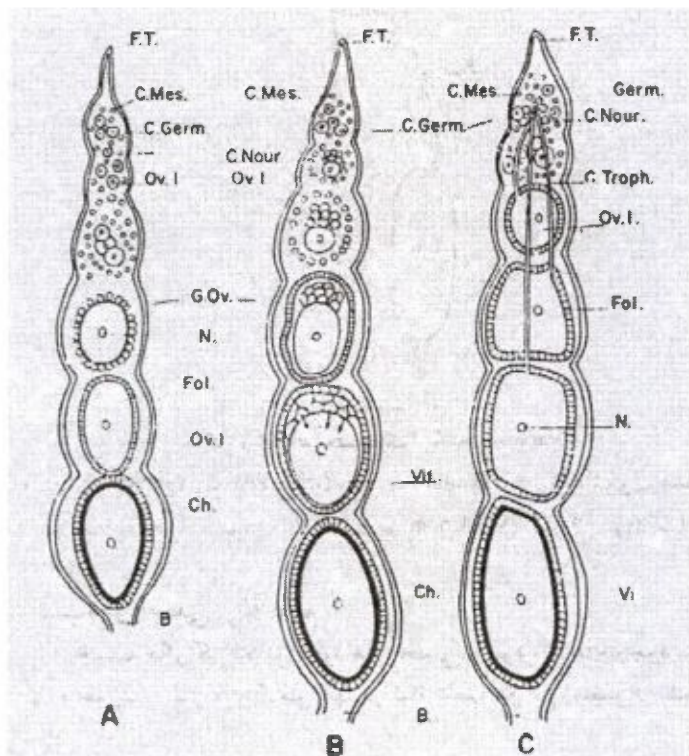
### ۳-۳. دستگاه تناسلی ماده

دستگاه تناسلی ماده از یک جفت تخمدان<sup>۲</sup> مجاری تخمدان و غدد پیوستگی تشکیل شده است. در حشرات، هر تخمدان معمولاً دارای تعدادی لوله سازنده تخمک<sup>۳</sup> می‌باشد. تعداد لوله‌های تخمک‌ساز در زنبورعسل ملکه، ۱۵۰-۱۷۰ عدد در هر تخمدان است ولی در زنبوران کارگر، تعداد لوله‌های تخمک‌ساز در هر تخمدان، ۴-۸ عدد است (عبادی و احمدی ۱۳۸۷).

1. Hymenoptera
2. Ovary
3. Ovariol



در لوله‌های تخمک‌ساز اووگونیا<sup>۱</sup> یا سلول‌های جنسی نخستین و سلول‌های فولیکول به‌وجود می‌آیند؛ پس از آن این سلول‌های اولیه به سلول‌های اووسیت<sup>۲</sup> تبدیل می‌شوند که در طی مراحل تکاملی بعدی و در طول لوله تخمک‌ساز، سلول‌های غذایی اطراف خود را جذب نموده و در نهایت سلول هابلوئید تخمک<sup>۳</sup>، یا سلول جنسی ماده را به‌وجود می‌آورد (شکل ۳-۴). تخمک‌های تولید شده وارد لوله‌های تخم‌بر جانبی<sup>۴</sup> می‌شوند.



شکل ۳-۴: تکامل سلول‌های جنسی در لوله‌های تخمک‌ساز ملکه زنبور عسل (B)

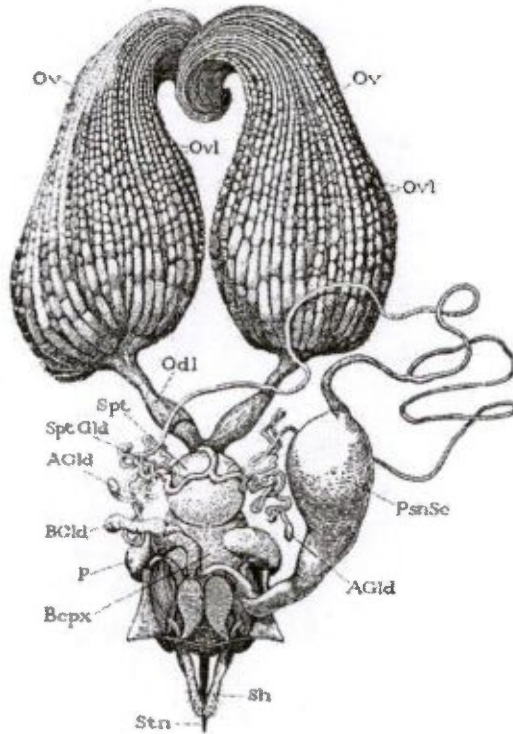
(باقری، ۱۳۷۲)

C. Germ: سلول‌های ژرمینال، ch: کوریون، C. Mes: سلول‌های مزودرمی، C. Nour: سلول‌های غذایی، Fol: فولیکول، F. T: رشته انتهایی، Germ: ژرماریون، N: هسته، Ov: اووسیت (تخمک)، Vit: ویتلوس

1. Oogonia
2. Oocyte
3. Ovule
4. lateral oviduct



هر تخمدان توسط یک مجرا، یا لوله تخم‌بر، به قسمت انتهایی دستگاه تناسلی ماده وصل می‌شود (شکل ۳-۵) و تخمک تولید شده در تخمدان‌ها، از طریق این مجاری منتقل می‌شوند؛ پس از آن این دو مجرا، به یک مجرای مشترک به نام مجرای عمومی تخم<sup>۱</sup> متصل می‌شوند که نهایتاً تخمک را به بخش خارجی دستگاه تناسلی هدایت می‌کند.



شکل ۳-۵: دستگاه تناسلی زنبور عسل ملکه

Ov: تخمدان، Ovary، Spt: کیسه ذخیره اسپرم، Ovl: لوله‌های تخمک‌ساز Ovariol، Spt Gld: غدد  
ضمیمه کیسه ذخیره اسپرم، Odl: لوله تخم‌بر جانبی Lateral oviduct، AGld: غده اسیدی زهر  
زنبور عسل، PsnSc: کیسه زهر زنبور عسل، Stn: نیش زنبور عسل، Sh: غلاف نیش زنبور عسل،  
BcpX: محافظه تناسلی Bursa capulatrix، P: لبه‌های کناری محافظه تناسلی (Snodgrass, 1984)

مجرای عمومی در انتها وسیع شده و مهبل<sup>۱</sup> را به وجود می‌آورد که از طریق مجرای مهبل<sup>۲</sup> به بیرون بدن باز می‌شود و این روزنه، در قاعده نیش قرار دارد. کیسه ذخیره اسپرم<sup>۳</sup>، که به لوله عمومی تخم وصل می‌شود، کیسه‌ای است که اسپرماتوزوئیدهای وارد شده در عمل جفت‌گیری، پس از اینکه در مجرای تخم وارد شدند، به داخل آن وارد شده و در آن ذخیره می‌شوند تا در موقع لزوم مورد استفاده قرار گیرد. اسپرم‌ها در زمان تولید مثل، از طریق مجرای به‌نام مجرای کیسه ذخیره اسپرم<sup>۴</sup> به لوله عمومی تخم هدایت می‌شوند.

حفظ و نگهداری اسپرماتوزوئیدها در کیسه ذخیره اسپرم و حفظ قدرت باروری آنها تا آخر عمر ملکه، از جمله رموز خلقت در این حشره است که زیست‌شناسان تلاش می‌کنند تا با الگو گرفتن از آن برای حفظ اسپرم زنبور عسل و موجودات زنده دیگر، به روش مناسب‌تری دست یابند. در مجاورت کیسه ذخیره اسپرم، غدد کیسه ذخیره اسپرم قرار دارند؛ ترشحات این غدد می‌تواند اسپرم‌های ذخیره شده در این کیسه را برای سال‌های متمادی زنده نگه دارد. دانشمندان در تلاش هستند که به سازوکار عمل ترشحات این غدد و اثر آنها بر روی اسپرم‌ها و راز طول عمر طولانی اسپرم‌ها در کیسه ذخیره اسپرم پی ببرند و یا اینکه بتوانند با شبیه‌سازی آن در طبیعت، اسپرم‌های گرفته شده از زنبوران عسل نر را برای مدت طولانی، نگهداری نمایند.

تخمک در زمان عبور از روبروی کیسه ذخیره اسپرم، توسط اسپرماتوزوئیدهای رها شده از آن بارور می‌شود؛ در این زمان با استفاده از روش دوجنسی، سلول تخم دیپلوئید به وجود می‌آید که از تفریح آن، ملکه یا زنبوران کارگر به وجود می‌آیند. اگر تخمک بدون ترکیب شدن با اسپرم خارج شود، سلول تخم هاپلوئید به وجود می‌آید که از تفریح آن، زنبور نر تولید می‌شود. در واقع، تولید مثل در زنبور عسل، با استفاده از هر دو روش دوجنسی و بکرزایی صورت می‌گیرد که زمان بکرزایی نیز، در اختیار ملکه و کارگران کلنی است و به همین دلیل، زنبور عسل را یک حشره بکرزایی اختیاری می‌نامند.

1. Vagina
2. Vaginal orifice
3. Spermatheca
4. Spermathecal duct

### پرسش‌های فصل سوم

- ۱- دستگاه تولید مثل نر از چند بخش تشکیل شده است؟
- ۲- اسپرماتوزوئید در کدام قسمت از دستگاه تناسلی نر ساخته می‌شود؟ توضیح دهید.
- ۳- نقش غدد ضمیمه در دستگاه تولید مثل نر چیست؟
- ۴- دستگاه تولید مثل ماده از چه قسمت‌هایی تشکیل شده است؟
- ۵- تخمک (اوول) در کدام قسمت از دستگاه تناسلی ماده ساخته می‌شود؟ توضیح دهید.
- ۶- نقش کیسه ذخیره اسپرم را در دستگاه تناسلی ماده توضیح دهید.
- ۷- غدد ضمیمه دستگاه تناسلی ماده را شرح دهید.

# فصل چهارم

## ساختمان آزمایشگاه و وسایل مورد نیاز

### تلقیح مصنوعی

---

#### هدفهای رفتاری

##### فراگیر گرامی

- در پایان این فصل و پس از یادگیری کامل مطالب، از شما انتظار می‌رود:
- ۱- با شرایط آزمایشگاه تلقیح مصنوعی آشنا شوید.
  - ۲- وسایل مورد نیاز برای انجام تلقیح مصنوعی را بشناسید.
  - ۳- چگونگی استفاده از وسایل تلقیح مصنوعی را به‌طور مقدماتی فرا گیرید.

#### ۴-۱. مقدمه

تلقیح مصنوعی یکی از اجزای تفکیک‌ناپذیر مطالعات اصلاح نژاد و پیشرفت ژنتیکی و نگهداری توده‌ها، یا لاین‌های انتخاب شده زنبور عسل است. معرفی وسایل، ابزار، امکانات و تسهیلات جدید برای آسان‌تر شدن تلقیح مصنوعی نقش مهمی دارند؛ لذا شناخت دقیق وسایل و امکانات لازم برای تلقیح مصنوعی و تلاش برای ارتقای آنها به منظور پیشبرد تلقیح مصنوعی، لازم است. در این فصل درباره ساختمان و وسایل مورد نیاز برای تلقیح مصنوعی، توضیحات لازم ارائه شده است.

#### ۴-۲. ساختمان آزمایشگاه

آزمایشگاه تلقیح مصنوعی باید شرایط لازم را برای انجام تلقیح مصنوعی موفق دارا باشد؛ به طوری که کلیه دیوارهای آزمایشگاه و سکوها قابل شستشو و به راحتی قابل سترون شدن<sup>۱</sup> و مجهز به ظرفشویی باشد. این آزمایشگاه باید کاملاً قرنطینه باشد و رفت و آمد غیر ضروری در آن صورت نگیرد.

مهم‌ترین نکته درباره آزمایشگاه این است که آزمایشگاه تلقیح مصنوعی باید به گونه‌ای باشد که شرایط بهداشتی لازم برای سالم ماندن ملکه تلقیح شده در آن فراهم باشد. برای ضد عفونی کردن وسایل فلزی از الکل استفاده می‌شود و وسایلی مثل پنس‌ها و قلاب‌ها، ضمن اینکه با الکل ضد عفونی می‌شوند، پس از فرو بردن در الکل بهتر است بر روی چراغ الکلی گرفته شوند که حرارت آن همراه با سوختن الکل، موجودات ذره‌بینی<sup>۲</sup> را کاملاً از بین ببرد. برای ضد عفونی کردن وسایل پلاستیکی، مثل سرسرنگ و تنظیم‌کننده و دیافراگم باید از هیپوکلریت سدیم (وایتکس) استفاده شود.

در حین عمل و انجام تلقیح مصنوعی، باید توجه داشت که زنبوران نر، مهم‌ترین عامل انتقال موجودات ذره‌بینی بیماری‌زا هستند؛ لذا در زمان اسپرم‌گیری، باید خروج اسپرم آنها دور از میز دستگاه صورت گیرد؛ اسپرم با دقت توسط سرنگ گرفته شود و بلافاصله پس از گرفتن اسپرم از زنبوران نر، عامل باید دست‌ها را بشوید تا از انتقال میکروب‌ها جلوگیری شود؛ بنابراین لازم است کلیه امکانات و شرایط لازم برای انجام این امور در آزمایشگاه مهیا باشد. وضعیت حرارت و رطوبت آزمایشگاه نیز مهم است.

1. *Strile*

2. *Microorganism*

حرارت آزمایشگاه باید طوری تنظیم شود که زنبوران نر و ملکه در شرایط آزمایشگاه، فعالیت طبیعی داشته باشند. آزمایشگاه نباید خیلی سرد و یا خیلی گرم باشد که زنبور عسل نر و ملکه دچار مشکل شوند؛ بنابراین حرارتی بین ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد مناسب است (حرارت معمول حدود  $24^{\circ}\text{C}$  است). رطوبت نسبی آزمایشگاه نیز، باید با رطوبت نسبی کندو متناسب باشد و در طیف رطوبت نسبی قابل تحمل ملکه و نر باشد؛ لذا باید تلاش شود که رطوبت نسبی آزمایشگاه حدود ۵۰-۶۰ درصد حفظ شود. با توجه به موارد یادشده، طراحی ساختمان آزمایشگاه یا محل انجام تلقیح مصنوعی، باید به‌گونه‌ای انجام شود که برای اهداف فوق مناسب باشد و تجهیزات لازم برای ایجاد شرایط مذکور نیز، باید پیش‌بینی و فراهم گردد.

آزمایشگاه تلقیح مصنوعی می‌تواند با ابعاد معمول و با مساحتی حدود ۲۰ مترمربع ساخته شود و وسایل و امکانات مورد نیاز برای تأمین شرایط بهداشتی و قرنطینه را دارا باشد؛ لذا باید تعبیه امکاناتی، مانند میز کار آزمایشگاهی، ظرفشویی مناسب برای شستشوی ابزار و امکانات و سیستم‌های بیهوش‌کننده در فضای مذکور فراهم، و آزمایشگاه دارای دیوارها و میزهای قابل شستشو باشد؛ در ضمن ابعاد آزمایشگاه یادشده نباید آن‌چنان بزرگ باشد که تأمین حرارت و رطوبت لازم مشکل شود. آزمایشگاه باید از نور مناسب طبیعی نیز برخوردار باشد. برای تأمین حرارت مناسب، لازم است از سیستم‌های تأمین‌کننده گرما و سرما استفاده شود و برای تأمین رطوبت نیز، می‌توان از دستگاه‌های رطوبت‌ساز بهره برد. سیستم‌های رطوبت‌ساز سرد باعث می‌شود که امکان تأمین رطوبت و حرارت مناسب ساده‌تر فراهم گردد.

#### ۴-۳. وسایل موردنیاز برای تلقیح مصنوعی

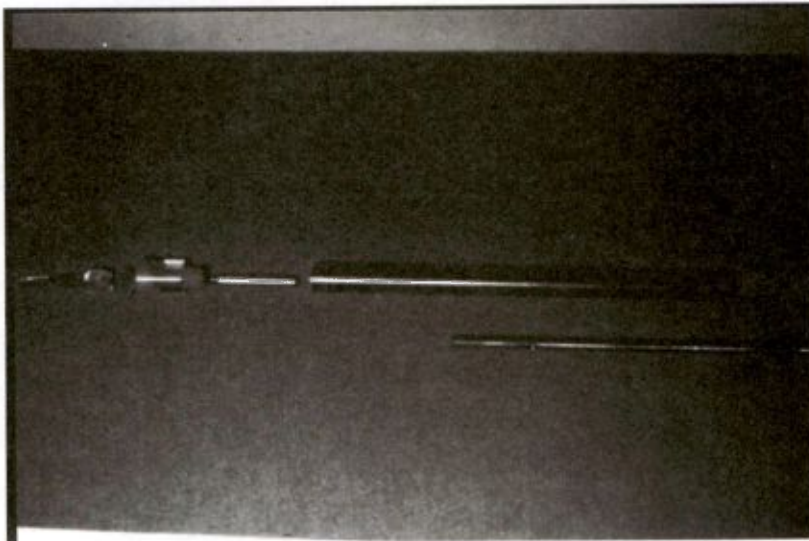
انواع مختلفی از دستگاه‌های تلقیح مصنوعی در دنیا وجود دارد که همگی براساس دستگاه تلقیح مصنوعی طراحی شده توسط لیدلا و مکنسن ساخته شده‌اند و تفاوت عمده این دستگاه‌ها، به سرسنگ اسپرم‌گیری و نیز سیستم‌های کنترل‌کننده و حرکت‌دهنده سرسنگ و قلاب‌ها مربوط می‌شود. دستگاه لیدلا و مکنسن، یکی از بهترین و پیشرفته‌ترین دستگاه‌های تلقیح مصنوعی است که دستگاه‌های بعدی در اروپا، از روی آن نمونه‌سازی شده است. یکی از نمونه‌هایی که از روی دستگاه محققین یاد شده ساخته شده، دستگاه روتنر و همکاران می‌باشد که به دستگاه شلای<sup>۱</sup> معروف است (۴). این دستگاه از جنس فولاد و سنگین می‌باشد که این ویژگی باعث می‌شود در طول مدت تلقیح مصنوعی، دستگاه ثابت بماند و حرکت نکند. در دانمارک نیز، دستگاهی به‌نام



سوئیتی<sup>۱</sup> ساخته شده که شبیه دستگاه اروپایی قبلی است. سیستم کنترل قلابها و سرنگ دستگاه سوئیتی، پیچی و دقیق است. چون ساختمان این دستگاهها شبیه یکدیگر می باشد، لذا قسمت های مختلف دستگاه تلقیح مصنوعی، در انواع مختلف آن شرح داده می شود.

#### ۴-۳-۱. سرنگ اسپرم گیری

سرنگ ظریف انتقال دهنده اسپرم، وسیله ای است که اسپرم گیری از نر توسط آن صورت می گیرد و سپس اسپرم گرفته شده توسط این سرنگ، به دستگاه تناسلی ملکه انتقال می یابد. سرنگ مکنسن از معروف ترین سرنگ های تلقیح مصنوعی است که منحصربه فرد بوده، و بخش های مختلف آن در شکل ۴-۱ نشان داده شده است.



شکل ۴-۱: سرنگ مکنسن و اجزای آن (Laidlaw, 1989)

سرنگ مکنسن از یک بدنه یا لوله اصلی تشکیل شده که بقیه قسمت ها بر روی آن سوار می شود و دو پیستون در داخل این بدنه قرار می گیرد که پیستون بزرگ، ابتدا داخل بدنه پیچ شده و پس از آن، پیستون کوچک بر روی آن قرار می گیرد (شکل ۴-۲)؛ سپس یک تبدیل کننده





شکل ۴-۲: پیستون کوچک در حال نصب شدن بر روی بدنه سرنگ (Laidlaw, 1989)

(آداپتور)<sup>۱</sup> پلاستیکی بر روی بدنه پیچ می‌شود (شکل ۴-۳) که داخل آن مایع فیزیولوژیک



شکل ۴-۳: آداپتور سرنگ مکنسن (Laidlaw, 1989)

ریخته می‌شود؛ دیافراگم پلاستیکی پس از ضدعفونی شدن، داخل آداپتور قرار می‌گیرد (شکل ۴-۴).



شکل ۴-۴: دیافراگم پلاستیکی سرنگ مکنسن (Laidlaw, 1989)

در نهایت، سرسرنگ پلاستیکی مدرج بر روی آداپتور پیچ شده و برای گرفتن اسپرم از نرها و نیز انتقال اسپرم به بدن ملکه، مورد استفاده قرار می‌گیرد (شکل ۴-۵).



شکل ۴-۵: سرسرنگ پلاستیکی سرنگ مکنسن (Laidlaw, 1989)

دستگاه شلای نیز، سرنگ خاص خود را دارد که حرکت آن با پیچ تنظیم می‌شود و کنترل آن دقیق‌تر است؛ سرسنگ این دستگاه شیشه‌ای بوده و شکستنی است. دستگاه شلای سه مدل متفاوت دارد که مدل پیشرفته آن، دارای یک مخزن گازکربنیک کوچک همراه با یک دستگاه میکروسکوپ مخصوص دستگاه و نیز یک سیستم نور مناسب برای تلقیح است که در هر زمان و هر مکانی قابل استفاده است.

دستگاه سوئینتی دارای سرنگ مشابهی می‌باشد که با سرنگ مکنسن متفاوت است. سرسنگ این دستگاه شیشه‌ای و قابل تعویض است (شکل ۶-۴) و بر خلاف سرنگ مکنسن، که پلاستیکی بود، شکستنی است و کار با آن نیاز به دقت زیادی دارد؛ زیرا تهیه سرسنگ‌های شیشه‌ای آن، از مشکلات این دستگاه می‌باشد.



شکل ۶-۴: سرسنگ شیشه‌ای سرنگ دستگاه سوئینتی

هاربو<sup>۱</sup> نیز بعد از این دو محقق موفق شد سرنگی برای انجام تلقیح مصنوعی بسازد که به‌نام سرنگ هاربو معروف است. این سرنگ شامل یک لوله شیشه‌ای می‌باشد که انتهای آن از جنس قابل انعطاف بوده و برای انجام تلقیح مصنوعی و انتقال اسپرم، تغییر شکل یافته و آماده شده است؛

ظرفیت این سرنگ خیلی زیاد است و برای گرفتن اسپرم نر، ذخیره و انتقال آن به کار می‌رود و قابلیت استفاده در دستگاه‌های مختلف تلقیح مصنوعی را دارا می‌باشد.

در داخل سرنگ تلقیح مصنوعی، مایعی ریخته می‌شود که این مایع داخل سرنگ، حاوی آب مقطر و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین به نسبت ۰/۲۵٪ بوده و برای جلوگیری از انتقال عوامل بیماری‌زا بسیار مهم و ضروری است. باید توجه داشت که علاوه بر استفاده از مایع فیزیولوژیک، یا سرم فیزیولوژیک حاوی آنتی‌بیوتیک، در طول مدت تلقیح مصنوعی، باید دقت لازم برای جلوگیری از آلوده شدن ملکه صورت گیرد و به کار بردن مایع به‌تنهایی کافی نیست.

#### ۴-۳-۲. استریومیکروسکوپ (لوپ)

استریومیکروسکوپ، دستگاهی است با بزرگ‌نمایی ۶ تا ۲۰ برابر و عموماً ۱۰ یا ۲۰ برابر که عامل را برای جابه‌جایی ابزار ظریف تلقیح مصنوعی و انجام تلقیح مصنوعی یاری می‌کند. انتخاب استریومیکروسکوپ قابل تطبیق با دستگاه‌های مختلف، خیلی مهم است؛ دستگاه مزبور باید دارای یک لامپ با نور سرد برای تأمین نور مناسب به منظور انجام تلقیح مصنوعی باشد؛ همچنین این لامپ باید دارای فیلتر جذب‌کننده حرارت باشد تا حرارت زیاد لامپ در زمان تلقیح، به بدن ملکه آسیب نرساند. استفاده از نور سرد و سیستم‌های تولید نور فلورسنت، یا تنگستن دارای فیلتر حرارتی نیز، باعث می‌شود که حرارت لامپ‌ها به ملکه آسیب نرساند.

#### ۴-۳-۳. سیلندر گاز کربنیک

سیلندر گاز  $CO_2$ ، یا گاز کربنیک، یکی دیگر از دستگاه‌های مورد نیاز تلقیح مصنوعی است که باید دارای دستگاه تنظیم‌کننده فشار  $CO_2$  و لوله‌های انتقال  $CO_2$  باشد. سیستم مذکور باید دارای تنظیم‌کننده، یا رگلاتور، باشد که جریان آرام و مداوم گاز کربنیک را در طول مدت تلقیح، برقرار نماید (شکل ۴-۷).



شکل ۴-۷: رگلاتور تنظیم فشار گاز کربنیک در دستگاه تلقیح مصنوعی

دستگاه‌های اروپایی نیز، دارای کپسول‌های گاز کربنیک کوچک‌تری می‌باشند که همراه دستگاه بوده و قابل حمل است (شکل ۴-۸). استفاده از یک ظرف آب برای تنظیم فشار CO<sub>۲</sub> نیز، ضروری می‌باشد.

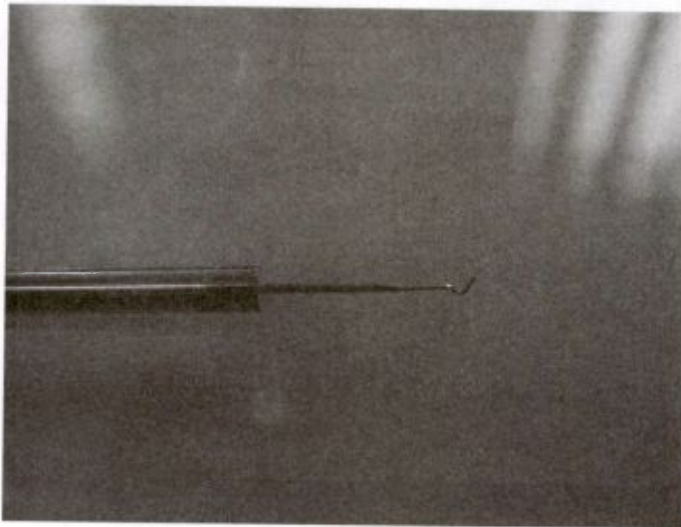


شکل ۴-۸: کپسول گاز کربنیک قابل حمل در دستگاه سوئیتنی

دستگاه تلقیح مصنوعی علاوه بر سرنگ مخصوص انتقال اسپرم، بخش‌های دیگری را به شرح ذیل دارا می‌باشد.

#### ۴-۳-۴. قلاب شکمی

قلاب شکمی برای باز کردن واژن ملکه به کار می‌رود. سر قلاب شکمی از طرف نیم حلقه‌های شکمی به بدن ملکه متصل می‌شود و انتهای بدن ملکه را باز نموده و برای تلقیح مصنوعی آماده می‌کند (شکل ۴-۹).

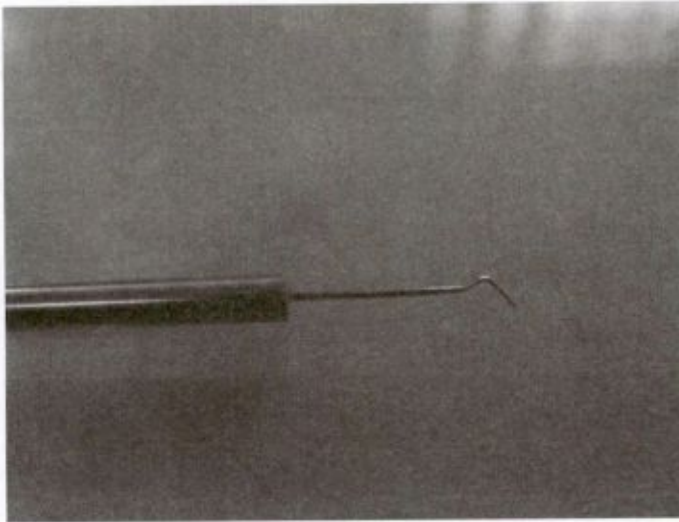


شکل ۴-۹: قلاب شکمی برای بازکردن انتهای بدن ملکه

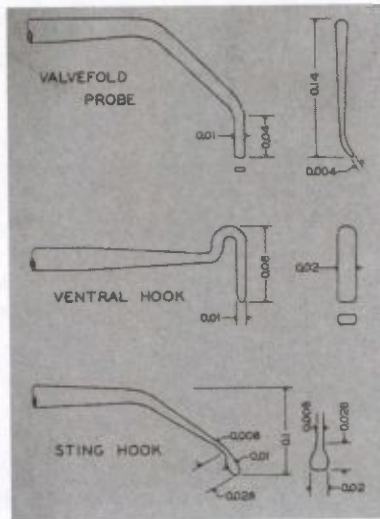
#### ۴-۳-۵. قلاب نیش

قلاب نیش برای باز کردن محفظه نیش و انتهای بدن ملکه و آماده کردن ملکه برای تلقیح مصنوعی به کار می‌رود (شکل ۴-۱۰). شکل و اندازه قلاب‌های نیش، شکمی و سوزن چین مهبلی در شکل ۴-۱۱ نشان داده شده است.





شکل ۴-۱۰: قلاب نیش برای باز کردن انتهای بدن ملکه

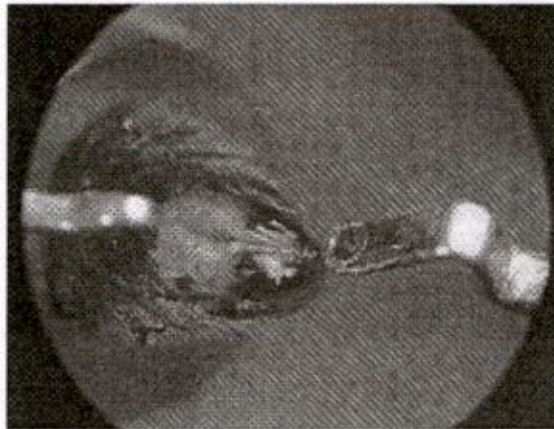


شکل ۴-۱۱: شکل و اندازه قلاب‌های نیش، شکمی و سوزن چین مهلبی در دستگاه تلقیح مصنوعی لیدلا-مکنسن. مقیاس کلیه ارقام ارائه شده برحسب اینچ است (Laidlaw, 1989)



یکی از ابزارهایی که در سال‌های اخیر توسط محققین برای آسان‌تر شدن تلقیح مصنوعی معرفی شده، قلاب نیش منفذدار یا قلاب نیش یاقوتی<sup>۱</sup> است که از نقره ساخته شده و امکان خوردگی و زنگ‌زدن ندارد؛ بر روی این قلاب، منفذی، به قطر ۰/۲ میلی‌متر، طراحی شده که نیش ملکه در آن قرار می‌گیرد؛ این قلاب، نیش را در تمام طول مدت تلقیح بالا نگه داشته و مهبل را برای انجام تلقیح باز نگه می‌دارد؛ نیش باید در منفذ مربوطه قرار بگیرد و در تمام طول مدت تلقیح، بالا و قابل رؤیت باشد (شکل ۴-۱۲).

در دستگاه شلای نیز، قلاب نیش دارای محفظه‌ای است که نیش داخل آن قرار گرفته و در طول مدت تلقیح، انتهای بدن ملکه را باز نگه می‌دارد.



شکل ۴-۱۲: قلاب نیش یاقوتی دارای روزنه نیش برای بازکردن انتهای بدن ملکه (Cobey, 2007)

میله‌ای برای کنار زدن چین مهبلی (شکل ۴-۱۳) مورد استفاده قرار می‌گیرد که گاهی از این وسیله، برای کنار زدن چین مهبلی استفاده می‌شود و گاهی نیز این عمل، با روش‌های دیگر صورت می‌گیرد.



شکل ۴-۱۳: میله لازم برای کنارزدن چین مهلی (Laidlaw, 1989)

۴-۳-۶. نگهدارنده ملکه<sup>۱</sup>

از این وسیله، برای نگهداری ملکه در طول مدت تلقیح مصنوعی استفاده می‌شود. انتهای نگهدارنده ملکه دارای منفذی است که بندهای آخر شکمی ملکه از آن بیرون بیاید. بر روی نگهدارنده ملکه سه شکاف تعبیه شده است که عبور جریان گاز کربنیک و بیهوش نگهداشتن ملکه را میسر می‌سازد (شکل ۴-۱۴).



شکل ۴-۱۴: نگهدارنده ملکه زنبورعسل برای نگهداری ملکه در طول مدت تلقیح مصنوعی (Laidlaw, 1989)



شکل ۴-۱۵: نگهدارنده ملکه اسفنجی (Laidlaw, 1989)

در بعضی دستگاه‌ها از نوع دیگر نگهدارنده ملکه استفاده می‌شود که از دو قسمت اسفنجی تشکیل شده و ملکه را در بین آن دو مهار می‌کند (شکل ۴-۱۵).

#### ۴-۳-۷. لوله برگرداننده ملکه<sup>۱</sup>

لوله برگرداننده ملکه، یک لوله پلاستیکی است که ملکه را از یک طرف با سر وارد آن می‌کنند و در طرف دیگر آن، سوراخی تعبیه شده است که در زمان لازم با فوت کردن در آن، ملکه را به عقب می‌رانند؛ در این وضعیت، نگهدارنده ملکه روبروی این لوله قرار داده می‌شود؛ به طوری که با عقب رفتن ملکه و وارد شدن به نگهدارنده ملکه، انتهای شکم ملکه از طرف دیگر نگهدارنده ملکه خارج شده و برای تلقیح مصنوعی آماده می‌شود (شکل ۶-۳). اگر بندهای انتهایی شکم ملکه از طرف باریک نگهدارنده ملکه به اندازه کافی خارج نشده باشد، با فوت کردن می‌توان ملکه را به انتهای نگهدارنده هدایت کرد که در وضعیت مناسب، برای تلقیح آماده شود.

---

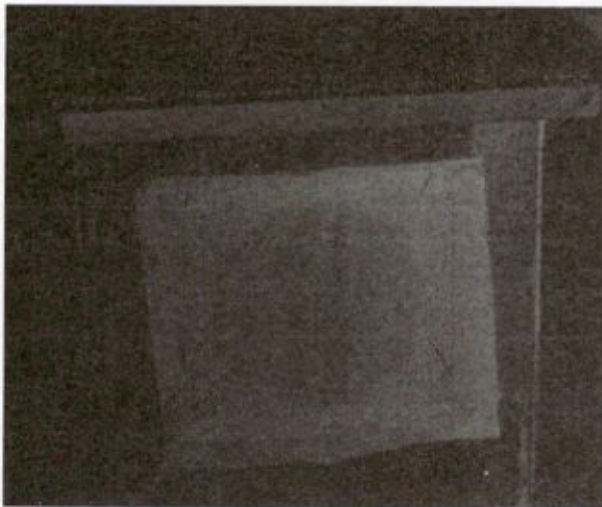
1. Back up tube

**Queen stopper:** وسیله‌ای است که رابط شیلنگ گاز کربنیک و نگهدارنده ملکه است و گاز کربنیک را در اطراف سر و قفسه سینه ملکه توزیع می‌کند و ملکه را بیهوش نگه می‌دارد تا تلقیح مصنوعی به راحتی بر روی آن صورت گیرد.

#### ۴-۳-۸. قفس پرواز نرها

این قفس برای نگهداری کوتاه‌مدت نرهای برداشت شده از کلنی‌های زنبور عسل، قبل از انجام تلقیح مصنوعی لازم است. اطراف و سقف این قفس دارای توری ریزبافت و در جلوی آن، یک دریچه پلاستیکی قرار دارد که دست از بین لایه‌های آن به راحتی داخل شده و نر مورد نظر گرفته می‌شود (شکل ۴-۱۶).

در بالای قفس پرواز نرها، لامپی تعبیه شده است که نور حاصل از آن، باعث تحریک به پرواز و تحرک نرهای داخل قفس می‌گردد؛ در این قفس، نرها، که فتوتاکسیسم مثبت نسبت به نور دارند، به طرف آن پروازهای کوتاهی انجام می‌دهند و در اثر تحرک و پروازهای مذکور، دفع مدفوع آنها در قفس صورت می‌گیرد. دفع مدفوع در قفس باعث می‌شود که در زمان اسپرم‌گیری، با مشکل دفع مدفوع و احتمال انتقال میکروبهایی دستگاه گوارش، مواجه نباشیم.



شکل ۴-۱۶: قفس پرواز نرها (Laidlaw, 1989)

#### ۴-۳-۹. جعبه انتقال نرها

قفس نگهداری نر، جعبه‌ای است با دریچه متحرک که نرها را از جلوی کندوها و یا داخل آنها گرفته و توی آن می‌ریزند و سپس به آزمایشگاه منتقل می‌کنند (شکل ۴-۱۷).



شکل ۴-۱۷: جعبه انتقال نر به اطاق تلقیح مصنوعی

ابعاد این قفس، (۲۵ × ۲۵ × ۵/۵) سانتی‌متر است که یک طرف آن، دارای توری ریزبافت می‌باشد تا هوای کافی به زنبوران نر برسد و در طرف دیگر نیز، یک در کشویی دارد که زنبوران نر برداشتی از کندوها، در داخل آن ریخته می‌شوند.

#### ۴-۳-۱۰. شیشه ساعتی

این شیشه، برای نگهداری مایع سیلینگ، یا مایع ضد عفونی‌کننده، به کار می‌رود و در زمان انجام تلقیح مصنوعی از آن استفاده می‌شود.

#### ۴-۳-۱۱. محفظه بیهوشی ملکه

این وسیله، محفظه‌ای است که گاز کربنیک به آن منتقل شده و ملکه قبل از شروع تلقیح، با فشار زیاد  $CO_2$ ، در آن بیهوش می‌شود و پس از بیهوش شدن، به نگهدارنده ملکه منتقل می‌گردد. حجم این محفظه در حدود ۱۵۰ سانتی‌متر مکعب است و حجم کم آن باعث می‌شود که ملکه با مقدار کمی گاز کربنیک و در زمان کمتری بیهوش شود (شکل ۶-۲).

علاوه بر وسایل فوق الذکر، در آزمایشگاه تلقیح مصنوعی لوازم دیگری نیز به شرح ذیل مورد نیاز است:

- مواد ضد عفونی کننده؛
- کاغذ پاک کننده و گوش پاک کن؛
- حوله؛
- پتری دیش و شیشه ساعتی در اندازه های مختلف؛
- پنس ظریف؛
- قیچی ظریف؛
- سرنگ هایی در اندازه های گوناگون برای انتقال مایع سیلینگ و آب مقطر به سرنگ دستگاه تلقیح مصنوعی؛
- اتوکلاو برای ضد عفونی کردن وسایل؛
- کپسول یدکی  $CO_2$ ؛
- چراغ الکی؛
- رنگ برای علامت زدن بر روی ملکه.



### پرسش‌های فصل چهارم

- ۱- آزمایشگاه تلقیح مصنوعی باید چه شرایطی داشته باشد؟
- ۲- ضدعفونی کردن وسایل تلقیح مصنوعی در آزمایشگاه چگونه صورت می‌گیرد؟
- ۳- مهم‌ترین وسایل موردنیاز را برای انجام تلقیح مصنوعی نام ببرید.
- ۴- قفس نگهداری نرها به چه منظوری به کار می‌رود؟
- ۵- نقش قلاب‌های نیش و شکمی در دستگاه تلقیح مصنوعی چیست؟
- ۶- سرنگ تلقیح مصنوعی از چه قسمت‌هایی تشکیل شده است؟

# فصل پنجم

## پرورش و جمع آوری نرها و گرفتن اسپرم

---

### هدف‌های رفتاری

#### فراگیری گرامی

در پایان این فصل و پس از یادگیری کامل مطالب، از شما انتظار می‌رود:

- ۱- با پرورش زنبوران نر موردنیاز برای تلقیح آشنا شوید.
- ۲- با وسایل پرورش نر در کلنی‌های پدری آشنا شوید.
- ۳- با نحوه جمع‌آوری زنبوران نر از کلنی‌های پدری آشنا شوید.
- ۴- با نحوه اسپرم‌گیری از زنبوران نر آشنا شوید.

## ۵-۱. پرورش نرها

وجود زنبوران نر برای انجام تلقیح مصنوعی بسیار ضروری است؛ لذا پرورش آنها برای انجام این عمل نیز لازم می‌باشد. برخلاف نظر برخی از زنبورداران، که وجود زنبوران نر و پرورش آنها را در کندو اتلاف وقت و هزینه می‌دانند، پرورش نر در کندوها هیچ‌گونه اثر سوئی، روی عملکرد کلنی و فعالیت زنبورهای کارگر و تولید عسل ندارد و جلوگیری از پرورش نرها و حذف شان‌ها و سفیره‌های نر برای کلنی‌ها مضر است. معمولاً کلنی زنبورعسل در فصل معینی اقدام به پرورش نر می‌کند که در صورت حذف شان‌های نر، از شان‌های کارگر برای این کار استفاده کرده و آنها را تخریب می‌کند؛ لذا بهتر است در زمان تولید نر، کلنی را از این کار منع نکنیم و اجازه دهیم که کلنی، پرورش نر را به‌طور طبیعی انجام دهد. زیرا همه کلنی‌ها در یک شرایط مساعد، برای پرورش نر اقدام می‌کنند و نرهای تولید شده توسط بعضی از آنها، در تلاقی‌ها مؤثر است ولی در مجموع، این خصوصیت کلنی باعث حفظ تنوع ژنتیکی زنبوران عسل می‌شود (Cobey, 1983c). لازم به ذکر است که در پروژه‌ها و برنامه‌های اصلاح‌نژادی، معمولاً بهترین و مطلوب‌ترین کلنی‌ها برای تولید زنبوران نر انتخاب می‌شوند؛ زیرا زنبوران نر این کلنی‌ها، کل ملکه‌های تولید شده در آن طرح‌ها را بارور می‌سازند؛ بنابراین، میزان تأثیرگذاری کلنی‌های پدری تولیدکننده نرها، بسیار وسیع و زیاد است و باید بهترین کلنی‌ها برای این منظور انتخاب شوند. کلنی‌های تولیدکننده نر باید بسیار قوی باشند و از ذخیره‌گرده و عسل کافی برخوردار باشند.

دوره تکامل زنبوران نر، از مرحله تخم تا ظهور حشره کامل، ۲۴ روز به‌طول می‌انجامد؛ پس از تولد نیز، به بلوغ رسیدن آنها ۱۰-۱۴ روز و به‌طور متوسط، ۱۲ روز طول می‌کشد و حدود ۱ تا ۲ هفته و گاهی بیشتر از آن نیز، آماده جفت‌گیری هستند و به‌عنوان زنبوران نر بالغ، می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند. طول مدت بلوغ و زنده‌ماندن نرها، وابسته به شرایط محیطی و مدیریت کلنی‌ها و متغیر است. در تلقیح مصنوعی، از زنبوران نر ۱۲-۲۰ روزه استفاده می‌شود که منی بیشتری در کیسه ذخیره منی آنها وجود داشته باشد.

کاهش حرارت، باعث کم شدن سرعت انتقال اسپرم به اندام تناسلی و عقب افتادن بلوغ نرها می‌شود ولی با افزایش گرده گل به رژیم غذایی زنبوران نر، می‌توان آثار کاهش دما را کمتر نمود. اسپرم زنبوران نر کمتر از ۱۰ روز، شفاف و آبکی است، به‌راحتی با ماده مخاطی مخلوط می‌شود و قابل تفکیک نمی‌باشد، اما اسپرم زنبورهای بالای ۱۲ روز، کرم‌رنگ و قابل تفکیک از مخاط سفیدرنگ است. اسپرم زنبورهای نر ۴ هفته‌ای، غلیظ و تیره‌رنگ‌تر است و در سنین بالای ۲۰ روز، تعداد اسپرم در آنها کاهش می‌یابد. نتایج مطالعات انجام شده، که به منظور اسپرم‌گیری

زنبوران نر در سنین ۱۴، ۱۶، ۱۸، ۲۰ و ۲۲ روزگی انجام شد، نشان داد که از زنبوران نر ۲۰ روزه، بهترین نتیجه حاصل می‌شود (Cobey, 1983c).

زنبورهای نر بالغ، از روی شکل ظاهری و محل آنها در کندو قابل تشخیص هستند. زنبورهای نر نابالغ و جوان، دارای بدنی پرزدار و شکمی فربه و بزرگ هستند و در صورت لمس کردن و تحریک شکم، ماهیچه‌های قسمت انتهایی شکم آنها منقبض شده و شکم سفت می‌شود و با ادامه این کار، آلت تناسلی از انتهای روده خارج می‌شود که شاخه‌های کناری آن نارنجی ولی در زنبورهای نابالغ، بی‌رنگ است.

زنبورهای نابالغ و جوان روی قاب نوزادان و سفیره‌ها وجود دارند و با افزایش سن، بر روی قاب‌های کناری کندو و قاب‌های عسل منتقل شده و از عسل تغذیه می‌کنند. زنبوران نر پیرتر، دارای بال‌های آسیب‌دیده و سینه براق بدون پرز هستند (Cobey, 1983c).

زنبوران نر، هاپلوئید بوده و کلیه خصوصیات خود را از مادرشان، یعنی ملکه کلنی، دریافت می‌کنند؛ زیرا تخمک تولید شده توسط تخمدان‌های ملکه، نرها را به‌وجود می‌آورد.

بهترین روش استفاده از نرهای کلنی انتخابی، این است که در اوایل بهار منطقه و در اوج تخم‌ریزی، یک شان در اختیار ملکه قرار داده شود که در یک یا دو روز، داخل آن به‌طور کامل تخم‌های نر بگذارد و بعد از اینکه سلول‌ها سر بسته شد، می‌توان قاب‌های حاوی سفیره نر را به طبقه دوم منتقل کرد و با استفاده از شبکه ملکه، از خروج آنها جلوگیری کنیم تا مطمئن باشیم که از نرهای کلنی مورد نظر، استفاده می‌کنیم.

برای تولید زنبوران نر، می‌توان یک شان نر در وسط کندو قرار داد و پس از تخم‌ریزی، آن را به کلنی پرستار انتقال داد تا پرورش نرها توسط کارگران کلنی پرستار به نحو مطلوب‌تری انجام شود. استفاده از شان‌های قدیمی، به دلیل وجود پيله‌های نسل‌های متعدد، باعث به‌وجود آمدن زنبورهای نر کوچک‌تر می‌شود.

لیدلا معتقد است که پرورش لاروهای نر، باید در کلنی‌های دارای ملکه انجام شود که به‌خوبی تغذیه شوند ولی بلوغ زنبورهای نر متولد شده در کلنی‌های بدون ملکه، مطلوب‌تر است. اگر در کلنی‌های پدري غذای کافی وجود نداشته باشد و یا تعداد زنبورهای نر زیاد شود، در این صورت، کارگران، زنبوران نر پیر را کشته یا از کندو بیرون می‌کنند. یک کلنی می‌تواند به‌طور متوسط، از ۲۰۰۰ زنبور نر به‌طور مطلوب مراقبت کند (Cobey, 1983c).

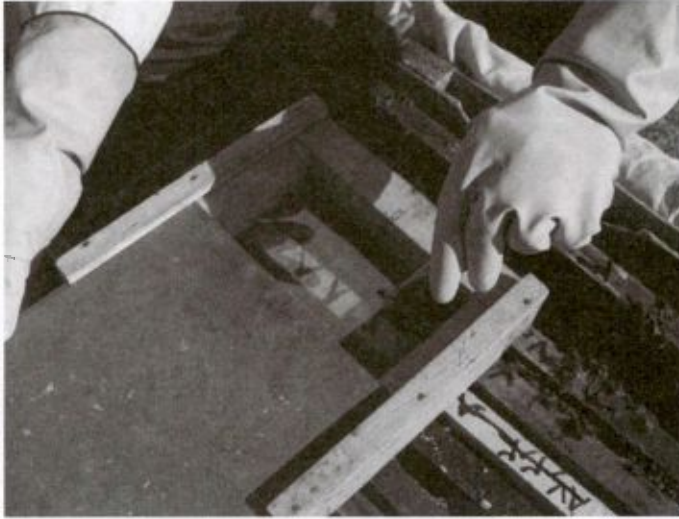
با توجه به زیست‌شناسی زنبوران نر و ملکه، پرورش زنبوران نر باید زودتر آغاز شود. در ایستگاه‌های پرورش ملکه، که تعداد زیادی ملکه و نر برای جفت‌گیری لازم است، باید حتماً برنامه‌ریزی و زمان‌بندی مناسبی برای تقارن زمانی ظهور زنبورهای نر بالغ و ملکه‌های باکره بالغ، انجام شود؛ در واقع باید به‌گونه‌ای برنامه‌ریزی کرد که زمان ظهور نرهای بالغ ۱۲ روزه، با زمان ظهور ملکه‌های باکره ۵-۷ روزه، متقارن شود. به این ترتیب باید ۴۶ روز قبل از ظهور ملکه بالغ، پرورش نر و تغذیه کلنی پدري شروع شود؛ زیرا نرها ۲۴ روز برای تکمیل بیولوژی و ۱۲ روز برای بلوغ نیاز دارند؛ از طرف دیگر باید ۱۰ روز زودتر، تغذیه کلنی‌های پدري با شربت شکر و قرار دادن پوک‌های نر در این کلنی‌ها شروع شود؛ بنابراین باید ۴۶ روز زودتر از ظهور ملکه‌های بالغ سازماندهی و تغذیه کلنی‌های پدري شروع شود.

## ۲-۵. جمع‌آوری نرها

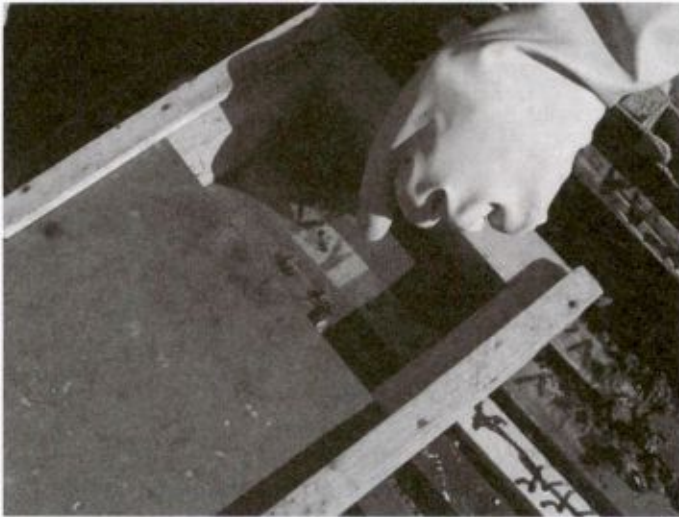
نرها نمی‌توانند نیش بزنند و لذا جمع‌آوری آنها ساده است ولی زمان جمع‌آوری نرها خیلی مهم است؛ اگر در زمان پرواز زنبوران، بخواهیم نرها را بگیریم، نمی‌توانیم در کندو را باز کنیم، زیرا بلافاصله نرها پرواز می‌کنند و از دسترس خارج می‌شوند.

جمع‌آوری زنبوران نر در زمانی که در اثنای پرواز نباشند راحت‌تر است؛ زیرا زنبوران نر بر روی شان‌ها باقی می‌مانند (شکل ۵-۱) و پس از برداشتن شان زنبوران نر، با دست یا با پنس از روی شان، به داخل قفس‌های جمع‌آوری نر منتقل می‌شوند (شکل ۵-۲). در هنگام شب می‌توان قفس‌های مذکور را در داخل یک کندو نگهداری کرد. برای جمع‌آوری زنبوران نر، استفاده از قفس‌هایی که زنبوران نر در هنگام بازگشت از پرواز جفت‌گیری در آن گرفتار شوند نیز، میسر است؛ این قفس‌ها دارای شبکه جداکننده<sup>۱</sup> می‌باشد که زنبوران کارگر، از آن به‌راحتی عبور می‌کنند و فقط زنبوران نر در این قفس‌ها می‌مانند که می‌توان از آنها برای تلقیح استفاده کرد.

گاهی زنبوران نر داخل کندو نیز، توسط قفس‌های جمع‌آوری نر، قابل جمع‌آوری هستند؛ در این قفس‌ها از فتوتروپیسیم مثبت زنبورها و گرایش آنها به طرف نور استفاده می‌شود. در این روش، زنبورهای کارگر از شبکه عبور می‌کنند و وارد قفس می‌شوند؛ ولی زنبوران نر امکان عبور از شبکه جداکننده را ندارند و گرفتار می‌شوند و سپس برای تلقیح مصنوعی از آنها استفاده می‌شود.



شکل ۵-۱: چگونگی جمع‌آوری زنبوران نر از کلنی‌های پدري موردنظر در زمان پرواز زنبوران عسل



شکل ۵-۲: قفس‌های جمع‌آوری نر از کلنی‌های زنبور عسل



چون زنبوران نر باید در پرواز، دفع مدفوع کنند لذا زنبورهایی که از داخل کندو گرفته شده، معمولاً در روده و راست روده انتهایی‌شان، دارای مدفوع بوده و با فشاری که برای گرفتن منی به آنها وارد می‌شود ممکن است مدفوعشان بیرون آمده و منی را آلوده کند که در این صورت، منی آلوده شده به مدفوع به هیچ وجه قابل استفاده نخواهد بود؛ لذا برای جلوگیری از این امر دو راه وجود دارد:

در روش اول می‌توان زنبوران نر را داخل قفس‌های بزرگی به‌نام قفس پرواز به ابعاد (۴۵×۵۰×۶۰) سانتی‌متر رها کرد و یک لامپ بالای قفس روشن کرد. به‌دلیل گرایش مثبت زنبورها به نور، زنبوران نر پرواز کرده و در اثر پرواز و حرکت، در داخل قفس مذکور دفع مدفوع می‌نمایند (شکل ۴-۱۶). علاوه بر دفع مدفوع توسط نرها، تحرک زنبوران در داخل قفس باعث می‌شود که در زمان اسپرم‌گیری، به‌راحتی منی از آنها خارج شود؛ زیرا زنبوران تنبل و بی‌حس و بی‌حرکت به‌سختی منی دفع می‌کنند؛

در روش دوم می‌توان در اثنای روز، نرها را در یک اطاق رها کرد؛ در این صورت، زنبوران نر در اطاق به‌طرف نور، یعنی به اطراف پنجره‌ها، پرواز می‌کنند و پس از مدتی پرواز و دفع مدفوع، در روی شیشه پنجره‌ها استراحت می‌کنند؛ در این هنگام می‌توان به‌سادگی زنبوران نر را با پنس از روی شیشه پنجره‌ها مجدداً جمع‌آوری و به قفس‌ها منتقل کرد. البته چون این روش باعث خستگی و بی‌حالی زنبورها می‌شود، کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد.

### ۳-۵. تعداد نرهای مورد نیاز

برای انجام تلقیح هر ملکه، باید حداقل از هشت زنبور نر، منی گرفته شود ولی چون تعدادی از زنبوران، بالغ نشده یا عقیم هستند و یا منی آنها کم است، لذا باید تعداد بیشتری زنبور نر در اختیار عامل تلقیح مصنوعی باشد.

اگر زنبوران نر طبقه دوم، مربوط به شانی باشند که ملکه در یک یا دو روز داخل آن تخم‌های نر ریخته باشد، از وجود نرهای با سنین مختلف جلوگیری شده و نرهای کمتری تلف می‌شود.

### ۴-۵. جمع‌آوری اسپرم

برای جمع‌آوری اسپرم، ابتدا باید سرنگ اسپرم‌گیری را آماده کرد و سپس زنبوران نر را برای اسپرم‌گیری مهیا نمود تا اسپرم‌گیری در شرایط مطلوب صورت گیرد.

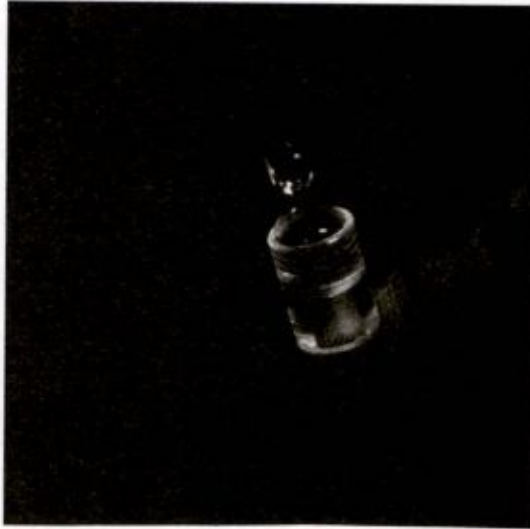
## ۵-۴-۱. آماده کردن سرنگ

سرنگ اسپرم در دستگاه‌های مختلف، متفاوت بوده و به‌خصوص سرسرنگ آنها با هم فرق دارد. در دستگاه لیدلا- مکنسن، قطعات سرنگ کاملاً از هم جدا می‌شود (شکل ۴-۱) که در صورت استفاده از آن، ابتدا باید کلیه قطعات سرنگ را ضدعفونی کنیم. قطعات فلزی را می‌توان با الکل ۷۰٪ و قطعات پلاستیکی را با هیپوکلریت سدیم ضدعفونی نمود و پس از خشک شدن قطعات، ابتدا پیستون بزرگ را در داخل بدنه اصلی قرار داده و چند دور می‌پیچانیم تا در داخل بدنه جا افتاده و محکم شود و پس از آن، پیستون کوچک را از طرف دیگر، داخل بدنه قرار می‌دهیم و آنگاه تبدیل‌کننده (آداپتور) را، که جنس آن فلزی یا اغلب پلاستیکی است، از همان طرف به بدنه پیچ می‌کنیم؛ باید توجه داشت که نباید آن را خیلی محکم ببیچانیم، چون پلاستیکی است و امکان شکستن آن وجود دارد؛ سپس دیافراگم پلاستیکی را، که قبلاً ضدعفونی شده، با یک پنس برداشته و در داخل تبدیل‌کننده قرار می‌دهیم و آن را با کمک نوک پنس، خیلی با دقت در محل اصلی، یعنی انتهای تبدیل‌کننده می‌گذاریم (شکل ۵-۳)؛ به نحوی که پیستون کوچک در پشت دیافراگم قرار گیرد و با حرکت پیستون‌ها، دیافراگم به راحتی در داخل تبدیل‌کننده حرکت کرده و مایع داخل آن را جابه‌جا کند.



شکل ۵-۳: چگونگی قرار دادن دیافراگم در آداپتور سرنگ مکنسن (Laidlaw, 1989)

پس از جاگذاری دیافراگم، مقداری از مایع سرم فیزیولوژیک تهیه شده را توسط سرنگ تزریق معمولی در داخل تبدیل‌کننده می‌ریزیم؛ به‌نحوی که پس از پر شدن مایع، در روی تبدیل‌کننده حالت محدب داشته باشد و اگر این حالت وجود نداشت، یک قطره از سرم فیزیولوژیک باید به محلول اضافه کرد تا حالت محدب ایجاد شود (شکل ۵-۴).

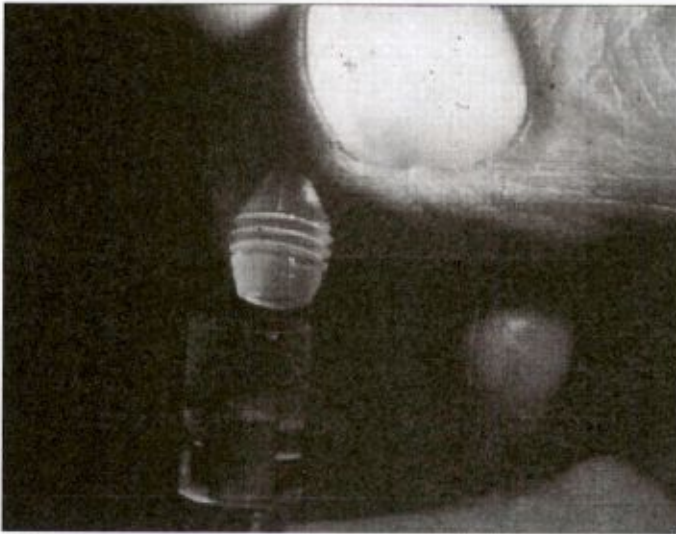


شکل ۵-۴: حالت محدب سرم فیزیولوژیک در سرنگ مکنسن (Laidlaw, 1989)

سرم فیزیولوژیک، یا مایع سیلینگ، را با استفاده از ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۳/۵ گرم نمک طعام و آنتی‌بیوتیک می‌سازیم. به این ترتیب که ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر را با ۳/۵ گرم نمک طعام مخلوط می‌کنیم. pH محلول حاصل، ۷/۳ تا ۷ می‌باشد و به این محلول، مقداری استرپتومايسين اضافه می‌کنیم تا محلول ۰/۲۵٪ به دست آید (Laidlaw, 1989). لازم به ذکر است که مایع سرم فیزیولوژیک ساخته شده، هم برای نرم کردن حرکت پیستون در داخل سرنگ و هم برای جلوگیری از رشد میکروب و ورود میکروب به اسپرم، استفاده می‌شود و بعد از هر اسپرم‌گیری از نر، به‌عنوان حائلی از آلوده شدن اسپرم و خشک‌شدن آن جلوگیری می‌کند.

پس از ریختن سرم فیزیولوژیک به تبدیل‌کننده، سرسرنگ را با دقت در محل تعیین شده بر روی تبدیل‌کننده قرار داده و می‌پیچانیم تا در جای خود محکم شود؛ ضمن پیچاندن آداپتور، مقداری از مایع از اطراف آن می‌ریزد که مشکل‌ساز نیست (شکل ۵-۵)؛ پس از محکم کردن سرسرنگ در محل پیش‌بینی شده، با پیچاندن پیستون بزرگ و حرکت پیستون‌ها، باید مایع در

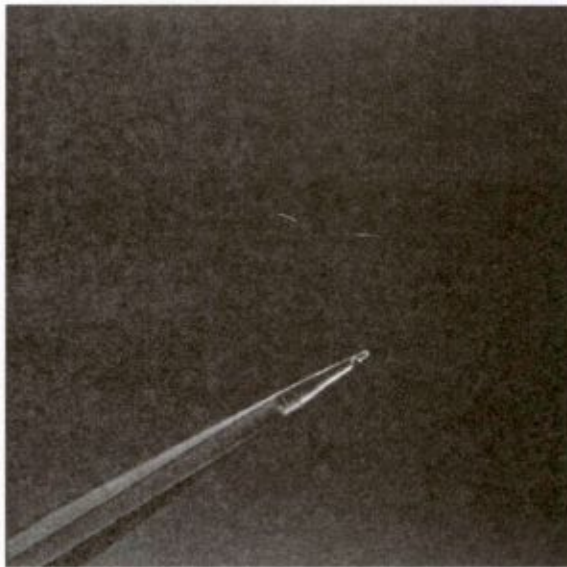
داخل سرنگ جابه‌جا شود؛ ضمن جابه‌جایی مایع، باید دقت کنیم که از محل اتصالات سرسرنگ، مایع پس نزند و در واقع آب‌بندی شده باشد. اگر از محل اتصال تبدیل‌کننده به بدنه اصلی، یا محل اتصال سرسرنگ به تبدیل‌کننده، مایع پس زده شود، باید اجزای سرنگ را مجدداً از هم جدا کرده و پس از ضدعفونی، آنها را مجدداً بسته و آب‌بندی کنیم تا سرسرنگ آماده اسپرم‌گیری شود؛ پس از آب‌بندی و نیز پس از اینکه حرکت مایع در داخل سرنگ به‌راحتی میسر شد، مایع داخل سرنگ را با پیچاندن پیستون بزرگ به‌قدری خالی می‌کنیم تا فضای ۱۰ میکرولیتر پیش‌بینی شده بر روی سرسرنگ خالی شود و در واقع، فضایی به اندازه ۱۰ میکرولیتر را برای اسپرم‌گیری آماده می‌کنیم.



شکل ۵-۵: قرار دادن سرسرنگ بر روی آداپتور پس از ریختن سرم فیزیولوژیک (Laidlaw, 1989)

برای این کار، باید پس از خارج کردن مقداری از مایع با پیچاندن پیچ پیستون بزرگ در جهت عکس، مایع را در سرنگ بالا بکشیم؛ در این حالت، اگر به اندازه ۱۰ میکرولیتر فضا داشتیم که کافی است و گرنه باید مجدداً بخشی از مایع را خارج کنیم تا فضای ۱۰ میکرولیتر در سرسرنگ برای اسپرم‌گیری خالی شود. با توجه به اینکه در اسپرم‌گیری، باید ۸ میکرولیتر اسپرم از زنبوران نر گرفته شود و به ملکه تزریق شود، فضای ۱۰ میکرولیتری، اضافی به‌نظر می‌رسد؛ ولی در زمان اسپرم‌گیری، یک میلی‌لیتر بین اسپرم و سرم داخل سرنگ فاصله انداخته و خلاء ایجاد می‌نماییم

و درضمن، پس از پایان عملیات اسپرم‌گیری نیز، یک میکرولیتر از مایع سرم فیزیولوژیک را مجدداً به داخل سرنگ می‌کشیم تا از تماس مستقیم هوا با اسپرم و خشک شدن و آلوده شدن اسپرم جلوگیری نماید؛ پس از اطمینان از تأمین فضای لازم در سرسرنگ، برای اسپرم‌گیری مجدداً مایع را در سرنگ به جلو می‌رانیم، به نحوی که فقط یک میکرولیتر در نوک سرنگ خالی بماند؛ این فضای یک میکرولیتری نیز، برای تأمین فضای خلاء بین اسپرم و سرم فیزیولوژیک می‌باشد (شکل ۵-۶).



شکل ۵-۶: ایجاد فضای یک میکرولیتری برای تأمین فضای خلاء بین اسپرم و سرم فیزیولوژیک

(Laidlaw, 1989)

در این حالت، سرنگ آماده اسپرم‌گیری است و سرنگ را در محل پیش‌بینی شده بر روی دستگاه تلقیح مصنوعی می‌بندیم تا عملیات اسپرم‌گیری شروع شود. در نمونه‌های اروپایی دستگاه تلقیح مصنوعی، نگهدارنده سرنگ به شکلی تهیه شده که پس از بستن سرنگ بر روی آن و تعبیه کل آنها بر روی دستگاه، حرکت سرنگ به جهت‌های مختلف توسط میکرو اهرم‌هایی صورت می‌گیرد که حرکت انگشت دست عامل راه تا ۱:۱۰ کاهش داده و حرکات سرنگ به دقت کنترل می‌شود؛ این ویژگی، از مزیت‌های دستگاه اروپایی محسوب می‌شود که در آن، حرکات سرنگ بسیار ظریف



بوده و در زمان کار، لطمه‌ای به ملکه وارد نمی‌سازد (شکل ۵-۷).



شکل ۵-۷: میکرو اهرم‌های سرنگ سوئیتی برای دقت بیشتر جابه‌جایی سرنگ و قلاب‌ها

#### ۵-۴-۲. اسپرم‌گیری

برای جمع‌آوری اسپرم، ابتدا محل سرنگ را پس از تعبیه در محل مخصوص، در زیر استرومیروسکوپ تنظیم می‌کنیم؛ به نحوی که نوک سرنگ در کانون دید استریومیکروسکوپ قرار گیرد و در زمان اسپرم‌گیری بتوان از استریومیکروسکوپ استفاده کرد؛ سپس نرهای انتخاب شده را در داخل قفس پرواز نرها ریخته و لامپ بالای آن را روشن می‌کنیم تا نرها پرواز و حرکت کرده و در نتیجه، دفع مدفوع آنها انجام شود تا در زمان اسپرم‌گیری، دفع مدفوع باعث آلودگی اسپرم نشود.

پس از حدود ۵ دقیقه فعالیت نرها در قفس، نرهای فعال را برای اسپرم‌گیری انتخاب می‌کنیم؛ سپس این نرها را گرفته و به جعبه انتقال نر منتقل می‌کنیم. در این زمان، اگر نرها هم‌سن باشند، مشکلی وجود ندارد؛ در غیراین صورت، برای جدا کردن نرهای بالغ، می‌توان از علائمی مثل کرک‌های پشت قفسه سینه استفاده کرد؛ به این ترتیب که زنبوران نری که پشت قفسه سینه آنها بدون کرک باشد، برای اسپرم‌گیری انتخاب می‌شوند؛ به عبارت دیگر، ریزش کرک‌های پشت قفسه سینه نرها، نشان‌دهنده بلوغ آنها می‌باشد و لذا می‌توان آنها را برای اسپرم‌گیری مورد استفاده قرار داد. علامت دیگر بلوغ نرها، این است که شکم زنبوران نری را، که

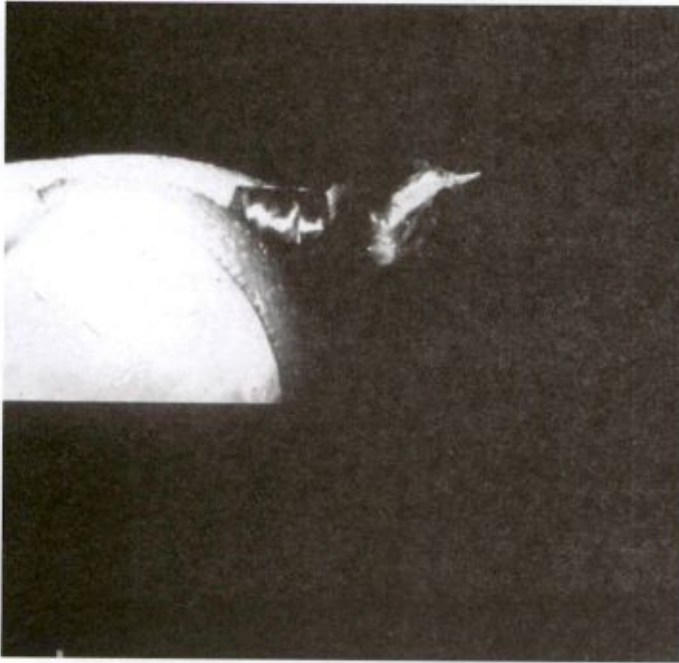


بین انگشتان گرفته‌ایم، سفت باشد؛ این وضعیت نشان‌دهنده بلوغ می‌باشد و اگر شکم زنبور نر شل باشد و با فشار انگشتان دست دیگر به راحتی فرو رود، نشانه عدم بلوغ نر است. پس از خروج آلت تناسلی نر، در صورتی که شاخکهای کناری آن نارنجی رنگ باشد، نشان‌دهنده بلوغ زنبور نر و اگر این شاخکها بی‌رنگ باشد، علامت عدم بلوغ آن است. بنابراین در زنبوران نری که این شاخکها بی‌رنگ باشد، فقط ماده مخاطی از انتهای آلت تناسلی، یا پنیس، خارج می‌شود و اسپرم در روی آن وجود ندارد؛ چون زنبور نر هنوز به سن بلوغ نرسیده است. زمانی که نرهای فعال را می‌گیریم، در بعضی از آنها، قسمت انتهایی دستگاه تناسلی بلافاصله خارج می‌شود ولی در اغلب نرها، برای خروج دستگاه تناسلی<sup>۱</sup> تحریک‌های دیگری، مثل استفاده از کلروفرم، شوک الکتریکی، بریدن سر و مالش سینه و شکم لازم است. برای خارج کردن آلت تناسلی، ساده‌ترین کار این است که زنبور نر را بین انگشتان سبابه و شست دست چپ گرفته، به نحوی که سر زنبور بین انگشتان باشد و شکم در قسمت بالای انگشتان قرار گیرد (شکل ۵-۸)؛ پس از آن با مالش دادن شکم و قفسه سینه زنبور نر، معمولاً پنیس از انتهای شکم نر خارج می‌شود؛ سپس باید این عمل مالش را ادامه دهیم تا آلت تناسلی به‌طور کامل خارج شود و یا حتی با فشار به سر و قفسه سینه، خروج کامل پنیس را ایجاد کنیم. فشار ایجاد شده توسط انگشتان، ماهیچه‌های شکمی را منقبض کرده و فشار خون را در شکم بالا می‌برد و بالا رفتن فشار خون، به نوبه خود، باعث خروج دستگاه تناسلی می‌شود.



شکل ۵-۸: آماده کردن زنبور نر برای اسپرم‌گیری (Laidlaw, 1989)

در زمانی که خروج پنیس بلافاصله پس از گرفتن نر انجام می‌شود، باید دقت کرد که خروج پنیس کامل باشد وگرنه گرفتن اسپرم با مشکل روبه‌رو می‌شود. اگر آلت تناسلی کاملاً خارج نشده باشد، بهتر است با فشار به قفسه سینه و شکم، خروج پنیس را کامل کنیم. گاهی پس از گرفتن نر و فشار در بین انگشتان و حتی مالش قفسه سینه و شکم، خروج پنیس انجام نمی‌شود؛ در این حالت قسمت سر را بین انگشتان فشار داده و له می‌کنیم و اگر خروج پنیس به‌طور کامل انجام نشد، قفسه سینه زنبور نر را نیز فشار داده و له می‌کنیم تا آلت تناسلی از انتهای شکم زنبور نر خارج شود (شکل ۵-۹).



شکل ۵-۹: خروج دستگاه تناسلی نر (Eversion)  
(Laidlaw, 1989)

### ۵-۴-۳. خروج منی<sup>۱</sup>

بعد از خروج آلت تناسلی از انتهای شکم نرها و اطمینان از بلوغ نرها، با ادامه فشار به قفسه سینه و شکم زنبور نر و ادامه تحریک ماهیچه‌های این قسمت، عمل خروج اسپرم نیز انجام می‌شود و

1. *ejaculation*

مایعی محتوای اسپرم و ماده مخاطی همراه اسپرم<sup>۱</sup> در انتهای پنیس ظاهر می‌شود؛ این ماده مخاطی سفید مایل به شیری و اسپرم، که به‌صورت قطره‌ای بر روی ماده مخاطی است و یا بر روی آن به‌صورت لایه‌ای پخش شده، کرم‌رنگ و یا قهوه‌ای کمرنگ می‌باشد (شکل ۵ - ۱۰).



شکل ۵- ۱۰: خروج اسپرم کرم رنگ در روی ماده مخاطی سفیدرنگ (Ejaculation)  
(Laidlaw, 1989)

در زمان اسپرم‌گیری، باید دقت شود که ماده مخاطی به‌هیچ‌وجه وارد سرنگ نگردد؛ زیرا ماده مخاطی خیلی زود خشک و سفت شده و در داخل سرنگ، باعث جلوگیری از حرکت اسپرم در سرنگ می‌شود؛ در این حالت باید کل اسپرم گرفته شده قبلی هم، همراه با آن بیرون ریخته شود؛ لذا باید دقت فراوان کرد که ماده مخاطی همراه اسپرم به‌داخل سرنگ راه نیابد.

از طرف دیگر، باید دقت کرد که اسپرم با دست و وسایل تلقیح مصنوعی به‌هیچ‌وجه تماس پیدا نکند؛ زیرا احتمال آلوده شدن آن بالا می‌رود و اگر اسپرم در زمان خروج اسپرم، با دست تماس پیدا کرد، باید آن اسپرم و زنبور نر را دور بریزیم.

در بعضی اوقات، خروج پنیس و اسپرم زنبورها با شدت انجام می‌شود و اسپرم در اثر تماس، غیرقابل استفاده می‌شود؛ برای جلوگیری از این کار، کنار شکم زنبور نر را با سوزن نوک تیزی سوراخ می‌کنیم تا فشار خون داخل بدن زنبور کمتر شود و اسپرم با شدت به بیرون پرتاب نشود؛ البته باید توجه داشت که این وضعیت به ندرت اتفاق می‌افتد.

#### ۵-۴-۴. جمع‌آوری اسپرم با سرنگ

پس از خروج اسپرم از انتهای پنیس، بلافاصله زنبور نر را به سرنگ نزدیک می‌کنیم؛ به طوری که در زیر استریومیکروسکوپ بتوانیم انتهای بدن زنبور نر، اسپرم و نوک سرنگ را ببینیم؛ سپس زنبور نر را به آرامی به سرنگ نزدیک می‌کنیم و خیلی با دقت، نوک سرنگ را در تماس با اسپرم قرار می‌دهیم؛ در این حالت باید توجه شود که به هیچ وجه نوک سرنگ با ماده مخاطی در تماس نباشد و یا نوک سرنگ، داخل اسپرم فرو نرود و فقط یک تماس سطحی با اسپرم داشته باشد؛ در ضمن، همان طوری که قبلاً توضیح داده شد، در سرنگ آماده شده، مایع سرم فیزیولوژیک تا حدی پائین آورده شود که یک میکرولیتر فضای خالی در نوک سرنگ باقی بماند که این یک میکرولیتر، از تماس اسپرم با مایع سرم فیزیولوژیک جلوگیری می‌کند؛ پس از تماس سرسرنگ با اسپرم، به آرامی و با دقت، با پیچاندن پیچ پیستون بزرگ در جهت چپ، اسپرم را در سرنگ بالا می‌کشیم. اگر اسپرم به صورت قطره‌ای روی ماده مخاطی باشد، عمل اسپرم‌گیری خیلی راحت انجام می‌شود و اسپرم را مانند کفی از روی ماده مخاطی به آرامی جمع‌آوری می‌کنیم و از ورود ماده مخاطی به سرنگ، جلوگیری می‌کنیم؛ در صورتی که اسپرم روی ماده مخاطی پخش شده باشد نیز، با چرخاندن دست و زنبور نر در زیر استریومیکروسکوپ در تماس با سرنگ، سعی می‌کنیم اسپرم را از روی ماده مخاطی جمع‌آوری کنیم (شکل ۵-۱۱). پس از گرفتن اسپرم زنبور نر، معمولاً تا آماده شدن زنبور نر بعدی، اسپرم را در سرنگ مقداری بالا می‌کشیم تا خشک نشود.

برای گرفتن اسپرم از زنبورهای بعدی، باید از چسباندن مجدد سرسرنگ به اسپرم خودداری کنیم، برای اطمینان بیشتر، اسپرم انتهای بدن زنبور نر را به سرسرنگ نزدیک کرده و نگه می‌داریم و سپس یک قطره از اسپرم قبلی را با پیچاندن پیچ، از سرسرنگ خارج کنیم تا قطره خارج شده با اسپرم زنبور نر جدید، تماس پیدا کند (شکل ۵-۱۲)؛ پس از برقراری تماس، باید با احتیاط پیچ را در جهت عکس بچرخانیم و اسپرم زنبور نر بعدی را جمع‌آوری کنیم. اگر در زمان

جمع‌آوری اسپرم، حرکت پیستون‌ها و حرکت اسپرم داخل سرنگ سفت شد، نشان‌دهنده ورود



شکل ۵-۱۱: نحوه جمع‌آوری اسپرم توسط سرنگ تلفیح مصنوعی (Laidlaw, 1989)

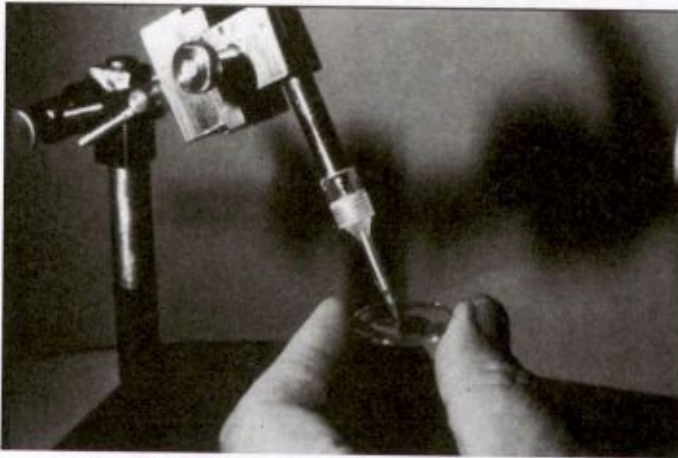


شکل ۵-۱۲: خارج کردن یک قطره اسپرم قبلی برای برقراری تماس با اسپرم زنبور نر بعدی

(Laidlaw, 1989)



ماده مخاطی به سرنگ می‌باشد؛ در این حالت و در صورتی که اسپرم در سرنگ در حال خشک شدن باشد، باید بلافاصله آن را خارج کنیم و با مایع سرم فیزیولوژیک، اطراف سرنگ و قسمت انتهایی داخل سرنگ را شستشو دهیم؛ برای این کار باید مقدار کمی از مایع را به داخل سرنگ بکشیم و در یک شیشه ساعتی دیگر بیرون بریزیم تا از خروج ماده مخاطی، مطمئن شویم؛ اگر نوک سرنگ با زنبور نر، یا با دست، تماس پیدا کرد باید نوک سرنگ را با استفاده از دستمال کاغذی و استفاده از مایع سرم فیزیولوژیک، تمیز کنیم. پس از پایان اسپرم‌گیری از نرها و اطمینان از حرکت نرم و روان اسپرم در داخل سرنگ و جابه‌جایی راحت اسپرم در سرنگ، اسپرم گرفته شده را بالا می‌کشیم و یک میکرولیتر انتهایی را با مایع سرم فیزیولوژیک پر می‌کنیم که هم از خشک شدن اسپرم و هم از آلوده شدن آن جلوگیری شود؛ سپس سرنگ را در روی دستگاه قرار داده و تنظیم می‌کنیم (شکل ۵-۱۳) تا در مرحله بعدی، ملکه در محل اصلی خود قرار گرفته و دستگاه تلقیح، آماده انتقال اسپرم باشد.



شکل ۵-۱۳: سرنگ آماده و حاوی اسپرم برای تلقیح مصنوعی ملکه (Laidlaw, 1989)

#### ۵-۴. نگهداری و ذخیره‌سازی اسپرم زنبورعسل

ذخیره‌سازی موفقیت‌آمیز و نگهداری طولانی مدت اسپرم پستانداران، امکان حفظ نژادها، توده‌های ژنی و ژن‌های با ارزش و مطلوب را برای تولید مثل و اصلاح نژاد حیوانات اهلی فراهم می‌کند. نگهداری طولانی مدت اسپرم، به‌طور قابل ملاحظه‌ای در پائین آوردن هزینه‌های حفظ نژادهای مطلوب و کاهش مشکلات اصلاح نژاد مؤثر است. در دامهای اهلی، مثل گاو، توانسته‌اند با روش‌های مختلف، تا ۲۰ سال، اسپرم را نگهداری و در زمان لازم، استفاده نمایند.



در زنبورعسل، در صورتی که نگهداری طولانی مدت اسپرم‌ها میسر شود، آسیب‌پذیری برنامه‌های اصلاح نژادی را در مقابل شرایط نامطلوب آب و هوایی و محدودیت‌های فصلی کاهش می‌دهد. در این حالت امکان تولید ملکه‌های زودرس برای مناطق شمالی‌تر و سردتر کره زمین نیز، فراهم می‌گردد؛ همچنین تولید ملکه‌های دیررس در پایان فصل پاییز برای مناطق دیگر، امکان‌پذیر می‌شود. در پروژه‌های اصلاح نژادی که از روش تلقیح مصنوعی استفاده می‌شود، به زمان‌بندی و برنامه‌ریزی برای ظهور همزمان ملکه و نرها نیازی نخواهد بود؛ با عملی شدن این امر، محدودیت‌های مربوط به صادرات و واردات زنبورعسل و احتمال انتقال بیماری‌ها و آفات مهم از بین خواهد رفت و امکان حفظ نژادهای مطلوب و صفات مطلوب، با روش خیلی ساده‌تری میسر خواهد شد؛ زیرا حفظ کلنی‌های مطلوب و نگهداری کلنی‌های خالص و جمعیت‌های اصلاح شده در برنامه‌های اصلاح نژادی زنبورعسل، بسیار پیچیده و پرهزینه است. این روش می‌تواند مسیر بسیاری از پیشرفت‌ها را در اصلاح نژاد زنبورعسل هموار سازد.

باید توجه داشت طراحی روش‌ها و ابزارهایی که نگهداری طولانی مدت اسپرم زنبورعسل را فراهم نماید، یک کار سخت و پیچیده‌تر از ذخیره‌سازی منی پستانداران است؛ زیرا در پستانداران، تعداد زیادی از اسپرم ذخیره شده برای باردار نمودن به کار می‌رود و فقط یک یا چند اسپرم زنده، برای بارور شدن تخمک کافی است؛ ولی در زنبورعسل لازم است ۳ تا ۶ میلیون اسپرم زنده بعد از ذخیره‌سازی در تلقیح، به ملکه زنبورعسل منتقل شود؛ زیرا ملکه در طول فصل‌های مناسب، گاهی در هر روز، ۱۵۰۰ تا ۲۰۰۰ تخم می‌گذارد که برای بارورسازی هر یک از آنها، چند اسپرم زنده باید از کیسه ذخیره اسپرم آزاد شود؛ بنابراین تعداد اسپرمی که باید برای تلقیح موفق ملکه زنبورعسل فراهم باشد، خیلی بیشتر از پستانداران است. به هر حال، روش‌های نگهداری موفق منی پستانداران، باید برای نگهداری اسپرم زنبورعسل هم، استفاده شود و مورد بررسی دقیق قرار بگیرد.

اولین تلاش‌ها برای نگهداری اسپرم زنبورعسل، با حفظ اسپرم در دمای یک اتاق معمولی شروع شد و امکان نگهداری اسپرم برای ۲۴ ساعت فراهم گردید؛ سپس با تأمین رطوبت مناسب محیط نگهداری منی، این مدت نگهداری تا سه روز در دمای اتاق معمولی، افزایش داده شد. نگهداری اسپرم غلیظ زنبورعسل در لوله‌های موئین، توانست این مدت نگهداری را به ۲۲ روز افزایش دهد.

معیارهایی که در ارزیابی اسپرم ذخیره شده در پستانداران استفاده می‌شود، حرکت و جهندگی اسپرم می‌باشد؛ ولی در زنبورعسل، علاوه بر آن، تخم‌ریزی منظم، میزان تخم‌های دیپلوئید و عدم بروز جهش‌های خطرناک برای ارزیابی منی ذخیره شده نیز، در نظر گرفته می‌شود.

استفاده از فروکتوز به همراه اسپرم ذخیره شده، مدت نگهداری اسپرم را تا ۶۸ روز افزایش داد. منی آغشته شده به استرپتومایسین، با محدود کردن رشد باکتری‌ها و رفع این محدودیت، مدت نگهداری اسپرم را تا ۱۲-۱۳ هفته افزایش می‌دهد. حفظ اسپرم همراه با استرپتومایسین در دمای ۱۳-۱۵ درجه سانتی‌گراد هم، مدت نگهداری را تا ۳۵ هفته زیاد می‌کند. البته احتمال بروز جهش‌های ژنی در زمان استفاده از این روش‌ها، بررسی شد که نتایج نامطلوبی در بر نداشت. از سرنگ‌های موئین و یک لایه آب نمک و وازلین در نوک سرنگ، برای جلوگیری از تماس اسپرم با هوا و بالابردن مدت نگهداری نیز، به کار گرفته شد؛ همچنین از سرنگ‌های با ظرفیت‌های بالا، که دارای پیچ تنظیم دقیق برای تزریق بودند هم، در همین راستا استفاده گردید؛ ضمناً به کارگیری نیروی گریز از مرکز و خارج کردن حباب‌های هوا در بین اسپرم، از پیشرفت‌های دیگر بود.

کاربرد محافظت‌کننده‌ها برای جلوگیری از صدمات سرمای زیاد در منی پستانداران، از روش‌هایی بود که به همین منظور به کار گرفته شد. استفاده از گلیسرول برای محافظت منی و نگهداری در دمای  $^{\circ}\text{C} -79$ ، استفاده از همولنف زنبورعسل و نگهداری مخلوط منی و همولنف نرها در نیتروژن مایع و دمای  $^{\circ}\text{C} -196$  نیز، امتحان شد و در آزمایشات و تحقیقات مختلف به منظور کاهش آثار نامطلوب سرما تلاش گردید؛ به کارگیری دی‌متیل‌سولفوکسید (DMSO) برای محافظت منی در مقابل سرما، نتایج مطلوب‌تری را نشان داد. ترکیبی از ۶۰ درصد منی، ۳۰ درصد نمک و ۱۰ درصد دی‌متیل‌سولفوکسید توسط هاربو پیشنهاد شد که با استفاده از چند محافظت‌کننده‌های مذکور، توانست تا یک سال، اسپرم را نگهداری کند. گاهی استفاده از چند زنبور نر در طرح‌های اصلاح نژادی زنبورعسل ضرورت دارد ولی استفاده از اسپرم ذخیره شده در نیتروژن مایع، در مواقعی، با نرزایی بیشتر ملکه تلقیح شده همراه می‌باشد؛ دلیل این امر کاهش اسپرم‌های منتقل شده به کیسه اسپرم، در مقایسه با ملکه‌های شاهد است (Harbo, 1977).

کاربرد رقیق‌کننده‌های مختلف و ایجاد یک مخلوط هموزن از اسپرم تهیه شده از نرهای متفاوت، می‌تواند موفقیت تلقیح با اسپرم ذخیره شده را افزایش دهد؛ در این حالت، پس از رقیق کردن و شستشوی اسپرم، می‌توان با استفاده از سانتریفوژ ۲۵۰۰ دور در دقیقه، مجدداً اسپرم مذکور را به غلظت مناسب رساند و مورد استفاده قرار داد (Cobey, 1983c).

در بین رقیق‌کننده‌های مختلف، استفاده از تریس‌بافر همراه با آرژنین‌ولیزین برای هموزن کردن اسپرم‌های تهیه شده از نرهای مختلف، نتایج مطلوبی را در تلقیح مصنوعی ملکه‌های باکره نشان داده است (Cobey, 1983c).

تحقیقات بیشتر و الگو گرفتن از کیسه ذخیره اسپرم و استفاده از اسپرم‌دان مصنوعی برای ذخیره‌سازی و نگهداری اسپرم، در حال انجام است، ولی برای رسیدن به شرایط مطلوب، هنوز مسیر پر پیچ و خمی در پیش روی انسان است که باید برای رفع مشکلات نگهداری اسپرم زنبور عسل طی شود.

### پرسش‌های فصل پنجم

- ۱- طول مراحل مختلف زیستی را در زنبوران نر توضیح دهید.
- ۲- زمان لازم برای بالغ شدن زنبورهای نر پس از ظهور حشره کامل چه مدتی طول می‌کشد؟ و نرها چه مدتی برای تلقیح مصنوعی قابل استفاده خواهند بود؟
- ۳- برای جلوگیری از دفع مدفوع زنبوران نر در زمان اسپرم‌گیری، چه روش‌هایی به کار گرفته می‌شود؟
- ۴- چگونگی آماده کردن سرنگ جمع‌آوری اسپرم را توضیح دهید.
- ۵- وادار کردن زنبوران نر به خروج پنیس با چه روش‌هایی صورت می‌گیرد؟
- ۶- علائم متمایزکننده زنبوران نر بالغ را از زنبوران نر نابالغ شرح دهید.
- ۷- تفاوت اسپرم و ماده مخاطی همراه اسپرم را شرح دهید.
- ۸- چرا ذخیره‌سازی اسپرم زنبورعسل پیچیده‌تر و مشکل‌تر از ذخیره‌سازی اسپرم پستانداران است؟
- ۹- پیشرفت‌های به دست آمده را برای امکان ذخیره‌سازی اسپرم زنبورعسل شرح دهید.

# فصل ششم

## آماده کردن ملکه و انجام تلقیح مصنوعی ملکه

---

### هدف‌های رفتاری

#### فراگیر گرامی

- در پایان این فصل و پس از یادگیری کامل مطالب، از شما انتظار می‌رود:
- ۱- با روش‌های آماده کردن ملکه برای تلقیح مصنوعی آشنا شوید.
  - ۲- چگونگی بیهوش کردن ملکه را توضیح دهید.
  - ۳- با قسمت‌های مختلف دستگاه تلقیح مصنوعی آشنا شوید.
  - ۴- چگونگی تنظیم دستگاه تلقیح مصنوعی را برای انجام تلقیح شرح دهید.
  - ۵- با آماده کردن ملکه در زیر دستگاه تلقیح مصنوعی برای انجام این عمل آشنا شوید.
  - ۶- با چگونگی انجام تلقیح مصنوعی و انتقال اسپرم به دستگاه تناسلی ملکه آشنا شوید.

## ۶-۱. روش‌های آماده کردن ملکه برای تلقیح مصنوعی

آماده کردن ملکه باکره برای تلقیح به سه روش انجام می‌شود:

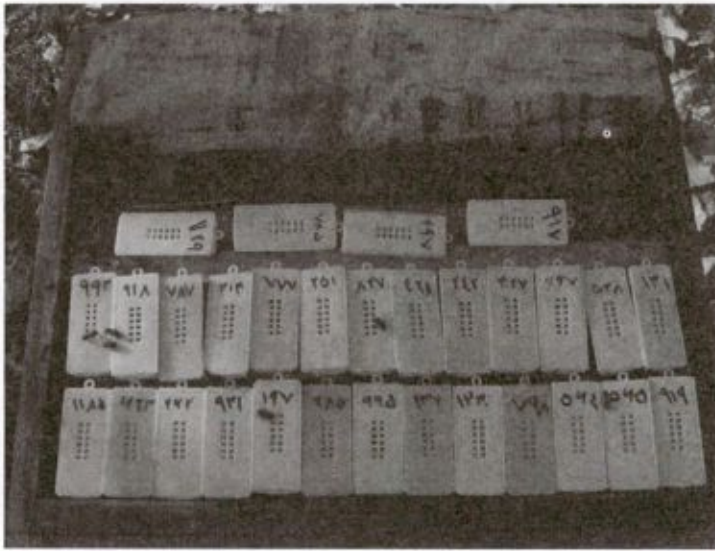
۱- ملکه‌های باکره را برای تلقیح مصنوعی می‌توان پس از پرورش، به نوکلئوس‌های کوچک معرفی کرد و در زمان لازم آنها را در قفس محبوس کرده و به اطاق تلقیح مصنوعی آورد و پس از تلقیح، مجدداً به کلنی برگرداند و منتظر تخم‌ریزی آنها شد؛ در این وضعیت، دریچه پرواز نوکلئوس با شبکه ملکه برای خروج ملکه مسدود می‌گردد و یا یک سوم یکی از بال‌های ملکه چیده می‌شود (Rinderer, 1986).

۲- در روش دوم می‌توان تعداد زیادی ملکه (گاهی بیش از ۷۰ ملکه باکره) پرورش داده شده را در قفس‌های جداگانه (شکل ۶-۱) محبوس و در داخل کلنی بانک ملکه نگهداری و در زمان لازم، ملکه‌ها را برای تلقیح به آزمایشگاه تلقیح مصنوعی انتقال داد. در این روش، انتقال ملکه‌ها در کمترین زمان ممکن باید انجام شود. ملکه‌ها در این روش، به دلیل عدم تماس با کارگران و عدم حرکت آزاد ملکه در کلنی، حالت طبیعی ندارند که این مسئله می‌تواند باعث بروز عوارض و مشکلات خاصی شود (Rinderer, 1986).

۳- در روش سوم، ملکه‌های باکره در انکوباتور نگهداری می‌شوند. در این روش، که اولین بار توسط وویکه<sup>۱</sup> و جاسینسکی<sup>۲</sup> (۱۹۷۹) معرفی شد، ملکه‌های باکره در قفس‌های جداگانه نگهداری می‌شوند و در هر قفس هم، ۱۵۰ کارگر وجود دارد. ملکه باکره برای تلقیح مصنوعی باید جوان باشد و بهترین سن برای تلقیح مصنوعی، مربوط به ملکه‌های تلقیح شده در سن ۴-۸ روزگی است که در این سنین، امکان جذب بیشترین اسپرم را در کیسه ذخیره اسپرم خود دارا می‌باشند. بنابراین با توجه به محدودیت‌های موجود، توصیه می‌شود که ملکه‌های باکره ۴-۱۴ روزه، تلقیح شوند. سن ملکه‌ها در زمان تلقیح مصنوعی درموقفیت، بسیار مهم است. براساس نظر روتنر (۱۹۷۶)، ملکه‌های ۶-۱۲ روزه برای انجام تلقیح مناسب هستند (لازم به ذکر است که بیشترین پروازهای جفت‌گیری در این محدوده سنی انجام می‌شود)، ولی وویکه (۱۹۷۶)، بهترین سن ملکه‌ها را برای تلقیح، ۵-۱۰ روزگی می‌داند. فرزناز (۱۹۶۶) مدعی وجود تفاوت در رسیدن ملکه‌های باکره به سن بلوغ بود و اعتقاد داشت که فصل در بلوغ ملکه مؤثر است؛ به طوری که به نظر وی، در شروع فصل پرورش، بلوغ ملکه‌ها در ۱۰-۱۲ روزگی اتفاق می‌افتد و بهترین سن ملکه برای تلقیح، در ابتدای فصل این محدوده سنی می‌باشد ولی در اواخر فصل پرورش، سن بلوغ و بهترین زمان تلقیح، ۵-۶ روزگی است. این امر می‌تواند به عوامل زیادی، از جمله درجه حرارت،



در این دو زمان متفاوت وابسته باشد (Cobey, 1983 b). اگر ملکه جفت خورده تخم‌ریز، تلقیح شود معمولاً پس از تلقیح می‌میرد (Rinderer, 1986).

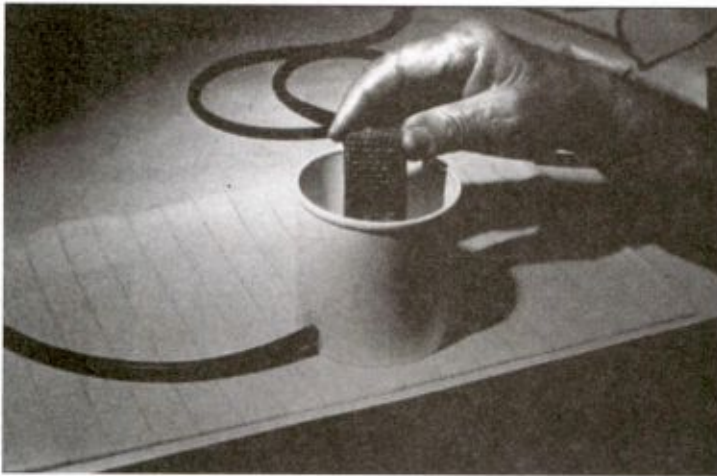


شکل ۶-۱: نگهداری ملکه‌های باکره در کلنی‌های زنبور عسل

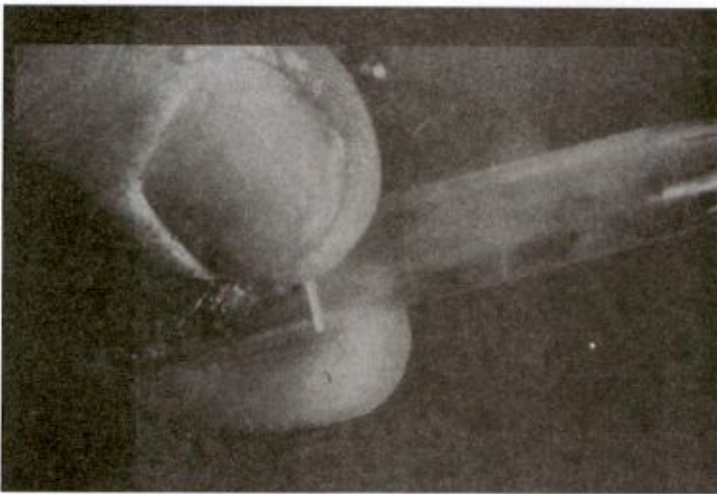
### ۶-۱-۱. آماده کردن ملکه

ملکه باکره یک یا دو روز قبل از تلقیح مصنوعی، ۵ دقیقه در معرض گاز کربنیک قرار می‌گیرد و پس از آن، در یک قفس ملکه همراه با قطعه‌ای شیرینی ملکه به محل تلقیح انتقال می‌یابد. ملکه باکره در قفس، به محفظه گاز کربنیک منتقل و در مدت یکی دو دقیقه، بی‌هوش و بی‌حرکت می‌شود (شکل ۶-۲)؛ آنگاه ملکه را ابتدا با سر در داخل لوله پلاستیکی برگرداننده ملکه (Back up tube) وارد می‌کنیم؛ در این حالت، قفسه سینه ملکه را باید به آرامی در بین انگشتان دست گرفته و منتقل کرد و مراقب بود که قسمت شکم ملکه، بین انگشتان قرار نگیرد؛ زیرا به تخمدان‌ها آسیب می‌رساند؛ سپس قید یا نگهدارنده ملکه<sup>۱</sup> را روبه‌روی لوله مذکور قرار می‌دهیم (شکل ۶-۳)؛ در انتهای این لوله، منفذی وجود دارد که از طریق آن منفذ با فوت کردن، ملکه را به داخل نگهدارنده ملکه

1. Queen holder



شکل ۶-۲: بیهوش کردن ملکه با کره در محفظه مخصوص با کمک گاز کربنیک (Laidlaw, 1989)



شکل ۶-۳: انتقال ملکه با کره به نگهدارنده ملکه (Laidlaw, 1989)

هدایت می‌کنیم؛ به طوری که انتهای بدن ملکه از منفذ انتهایی نگهدارنده ملکه خارج شود. قسمت انتهایی نگهدارنده ملکه، دارای منفذ باریک‌تری است که انتهای شکم ملکه از آن خارج می‌گردد؛ البته ملکه به طور طبیعی با حرکت پاها به سمت عقب آمده، به نحوی که انتهای بدن آن از انتهای

نگهدارنده ملکه بیرون می‌آید و با یک فوت کاملاً بیرون قرار می‌گیرد؛ سپس شیلنگ گاز کربنیک با رابط متوقف‌کننده ملکه (Queen stopper) به نگهدارنده ملکه متصل می‌شود و جریان آرامی از گاز کربنیک برقرار می‌شود تا ملکه را در حین تلقیح مصنوعی، بیهوش نگهدارد (شکل ۶-۴). شدت جریان گاز کربنیک باید قبلاً تنظیم گردد و در حدی باشد که حباب‌های ایجاد شده در ظرف شیشه‌ای رابط و پر از آب، پشت سرهم، به آرامی و مجزا از هم، از آب بیرون آید.

اگر جریان گاز کربنیک را روی لب بگیریم، باید جریان آرام و قابل تشخیصی از آن بر روی لب احساس شود. در واقع نباید فشار  $CO_2$  خیلی زیاد و یا خیلی کم و غیرقابل حس باشد. شدت جریان گاز کربنیک باید ۳۵ میلی‌لیتر در دقیقه باشد (Rinderer, 1986) و اگر بعد از ۵ دقیقه، ملکه کاملاً بی‌حرکت نشد، می‌توان به آرامی فشار را افزایش داد. براساس مطالعات عبادی و گری (۱۹۸۰)، استفاده از گاز کربنیک ۷۵٪، نسبت به گاز کربنیک خالص، ضمن کاهش عوارض سوء آن در ملکه، باعث ترغیب ملکه به تخم‌ریزی سریع‌تر می‌شود. اگر فشار گاز کربنیک خیلی زیاد باشد، ملکه از انتهای نگهدارنده ملکه بیرون می‌زند و بدن ملکه باد می‌کند؛ بنابراین جریان آرامی از گاز، ملکه را بیهوش نگه می‌دارد. سه بند انتهای شکم ملکه باید از انتهای نگهدارنده ملکه بیرون زده باشد، زاویه نگهدارنده ملکه نیز باید حدود ۵۶-۵۸ درجه باشد و ملکه باید در نگهدارنده ملکه، روبه پایین و یا پشت قرار گرفته باشد (شکل ۶-۴).



شکل ۶-۴: ملکه در موقعیت صحیح در داخل نگهدارنده ملکه (Laidlaw, 1989)

۱. منظور از گاز کربنیک ۷۵٪، مخلوط گاز کربنیک و اکسیژن به نسبت ۷۵٪ گاز کربنیک و ۲۵٪ اکسیژن است.

محل نگهدارنده ملکه را در زیر استریومیکروسکوپ، طوری تنظیم می‌کنیم که انتهای بدن ملکه در میدان دید استریومیکروسکوپ قرار گیرد؛ آنگاه انتهای بدن ملکه را با کمک پنس باز می‌کنیم (شکل ۶-۵)، قلاب شکمی<sup>۱</sup> را به صورت افقی به ملکه نزدیک کرده و به لبه بخش شکمی متصل کرده و آن را می‌کشیم (شکل ۶-۶)؛ سپس قلاب نیش<sup>۲</sup> را به ملکه نزدیک کرده، به طوری که نوک پهن قلاب، بین تیغه‌های قسمت قاعده‌ای نیش قرار گیرد (شکل ۶-۷) و نیش به طرف پشت کشیده شود؛ در این حالت، در انتهای بدن ملکه، یک فضای مثلثی سفید تشکیل می‌شود (شکل ۶-۷) که نوک سرنگ باید در قسمت مثلثی شکل و در روزنه مهبل<sup>۳</sup> قرار گیرد؛ فضای مثلثی باید قرینه‌دار باشد و اگر پیچ داشته باشد، باید با حرکت قلاب‌ها، این حالت را در انتهای بدن ملکه به وجود آوریم؛ کشیدن دو دیواره انتهای بدن ملکه باید در حدی باشد که ملکه آماده تلقیح گردد و روزنه مهبل دیده شود.



شکل ۶-۵: باز کردن انتهای بدن ملکه با کمک پنس (Laidlaw, 1989)

در این زمان باید نوک سرنگ در روزنه مهبل طوری قرار گیرد که اسپرم به داخل لوله تخم‌بر عمومی<sup>۴</sup> هدایت شده و به داخل لوله تخم‌بر جانبی<sup>۵</sup> برود؛ البته پس از ۱۵ تا ۲۴ ساعت، اسپرم به کیسه ذخیره اسپرم برمی‌گردد.

1. Ventral hook
2. Sting hook
3. Vaginal orifice
4. Common oviduct
5. Lateral oviduct





شکل ۶-۶: انتهای بدن ملکه پس از باز شدن به وسیله قلاب شکمی با دستگاه تلقیح مصنوعی لیدلا  
(Laidlaw, 1989)



شکل ۶-۷: انتهای بدن ملکه پس از باز شدن به وسیله قلاب شکمی و قلاب نیش  
(Laidlaw, 1989)

### ۶-۱-۲. آماده کردن سرنگ تلقیح مصنوعی در دستگاه برای تلقیح مصنوعی

پس از آماده کردن ملکه برای انجام تلقیح مصنوعی، باید سرنگ و نگهدارنده ملکه را در زاویه مناسب و صحیح قرار داد؛ برای این کار، راهنما و الگویی وجود دارد که می‌توان آن را بر روی دستگاه قرار داد و زاویه نگهدارنده ملکه و نیز سرنگ را طوری تنظیم کرد که انتقال اسپرم از سرنگ به داخل دستگاه تناسلی ملکه، میسر باشد.

در دستگاه تلقیح مصنوعی لیدلا، درحالی‌که نگهدارنده ملکه و سرنگ تنظیم باشد، زاویه نگهدارنده ملکه با میز کار، حدود ۵۶-۵۸ درجه و زاویه سرنگ با میز، حدود ۵۵ درجه است که پس از تنظیم آنها با راهنمای دستگاه، وقتی که این دو قطعه در جای خود قرار گرفتند، پیچ آنها را محکم می‌کنیم تا زاویه تغییر نکند (شکل ۶-۸).



شکل ۶-۸: تنظیم زاویه صحیح قید ملکه و سرنگ برای انجام تلقیح موفق  
(Laidlaw, 1989)

قلاب شکمی و قلاب نیش را پس از ضدعفونی کردن توسط حرارت و الکل، در محل پیش‌بینی شده بر روی دستگاه نصب می‌کنیم؛ قلاب‌ها باید طوری قرار گیرند که نوک آنها به راحتی به محل نگهدارنده ملکه برسد و بتواند انتهای بدن ملکه را باز کند.

### ۶-۱-۳. تلقیح مصنوعی

پس از اینکه ملکه بیهوش در نگهدارنده ملکه قرار گرفت و زاویه نگهدارنده ملکه و سرنگ تنظیم گردید، سرنگ را به آرامی به انتهای بدن ملکه، که توسط قلاب‌ها باز شده، نزدیک می‌کنیم. نوک



سرنگ باید در روزنه مهبل به اندازه یک میلی‌متر فرو رود و در این حالت، اگر بافت‌های اطراف روزنه حرکت کند، سرنگ در محل صحیح قرار نگرفته است و در صورتی که بافت‌ها حرکت نکرد و سرنگ به آرامی داخل روزنه فرو رفت، تا یک میلی‌لیتر سرنگ را داخل می‌کنیم تا زمانی که بافت‌های اطراف روزنه شروع به بدشکل شدن و تغییر وضعیت نماید؛ روزنه، در زمانی که قلاب شکمی و قلاب نیش به خوبی بدن ملکه را باز کرده باشد، در قسمت مثلثی شکل به صفحات نیش نزدیک‌تر است.

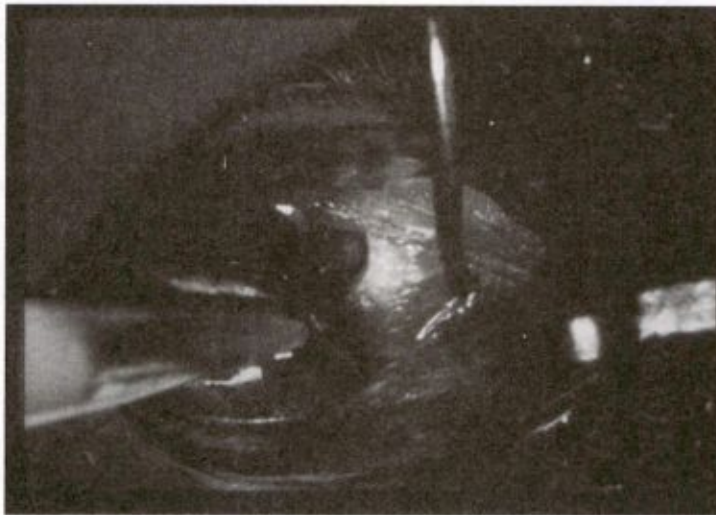
پس از اینکه سرنگ در محل مناسب قرار گرفت، با پیچاندن پیچ انتهای سرنگ، به آرامی و با احتیاط، جریان آرامی از اسپرم را به داخل روزنه و دستگاه تناسلی ملکه هدایت می‌کنیم؛ در این حالت، اگر اسپرم به راحتی جریان داشت و در کناره‌های سرنگ پس نزد، کار صحیح انجام شده و باید تلقیح را ادامه دهیم تا اسپرم کافی وارد بدن ملکه شود (شکل ۶-۹). اما اگر در زمان تزریق، اسپرم در اطراف لوله پس زد و جریان اسپرم در لوله به راحتی انجام نشد، چهار حالت زیر متصور است: ۱- سرنگ در محل مناسب قرار نگرفته است؛ ۲- سرنگ به اندازه کافی در روزنه داخل نشده است؛ ۳- سرنگ بیش از حد به داخل روزنه وارد شده است؛ ۴- چین مهبلی<sup>۱</sup> کنار نرفته و مانع ورود اسپرم به دستگاه تناسلی ملکه می‌شود.



شکل ۶-۹: وضعیت صحیح ملکه و سرنگ و جریان آرام اسپرم به داخل دستگاه تناسلی ملکه (Laidlaw, 1989)

گاهی عدم جریان آرام و راحت اسپرم به مهبل، به دلیل وارد شدن ماده مخاطی در داخل سرنگ، در زمان اسپرم‌گیری، است که می‌توان مخاط را در قسمت نوک سرنگ مشاهده نمود؛

در چنین حالتی، تزریق غیرممکن می‌شود. به‌هر حال در این وضعیت، سرنگ باید به آرامی خارج و انتهای بدن ملکه تمیز شود تا اسپرم خشک شده، باعث آسیب به ملکه نشود؛ سپس با جابه‌جا کردن قلاب‌ها سعی می‌کنیم روزنه مشخص شود و چین مهبلی کنار رود تا امکان ورود اسپرم به داخل دستگاه تناسلی ملکه فراهم گردد. گاهی چین مهبلی را با کمک یک میله کنار می‌زنند (شکل ۶-۱۰) و سپس تلقیح صورت می‌گیرد. در کناره‌های روزنه مهبلی، دو دهانه کیسه‌های بورسای قرار گرفته که اگر سرنگ وارد این دهانه شود، پس از تزریق، اسپرم پس می‌زند؛ در این حالت باید بلافاصله سرنگ را خارج کرد و انتهای بدن ملکه را تمیز نمود.



شکل ۶-۱۰: کنار زدن چین مهبلی به کمک میله (Laidlaw, 1989)

چون ملکه‌ها معمولاً در زمان تلقیح استفراغ می‌کنند، بهتر است پس از چند دقیقه، نگهدارنده ملکه را بشوییم تا چسبناک نشود. در ضمن گاهی هم در زمان تلقیح، ملکه‌ها دفع مدفوع می‌نمایند که در این حالت بهتر است با بستن جریان  $CO_2$ ، اجازه دهیم دفع مدفوع ملکه صورت گرفته و ملکه را تمیز نماییم. باید توجه کرد که ملکه‌ها با هم فرق دارند و بعضی به‌سادگی تلقیح می‌شوند و در بعضی دیگر، تلقیح خیلی به‌سختی صورت می‌گیرد. براساس مطالعات مکنسن (۱۹۶۴)، برای انجام تلقیح موفق، تعدد تلقیح کمک مؤثری است. بررسی‌های او نشان داد که در دو نوبت تلقیح با ۳ میکرولیتر اسپرم، میزان اسپرم منتقل شده به

کیسه ذخیره اسپرم، بیشتر از زمانی است که ملکه در یک نوبت و با ۸ میکرولیتر اسپرم، تلقیح شود. البته باید توجه داشت که تعدد تلقیح در یک ملکه، خطراتی مثل آسیب دیدن و صدمه به ملکه و نیز خطر انتقال بیماری و آلودگی را هم در بر دارد که در صورت استفاده از آن، رعایت موارد بهداشتی، قبل و بعد از تلقیح، بسیار ضروری است (Cobey, 1983b).

ملکه تلقیح شده نسبت به ملکه جفت‌خورده طبیعی، دیرتر تخم‌ریزی را شروع می‌کند؛ به طوری که ملکه‌های جفت‌خورده طبیعی، ۳-۴ روز بعد از جفت‌گیری، تخم‌ریزی را شروع می‌کنند ولی ملکه‌های تلقیح شده، تا یک ماه تأخیر تخم‌ریزی دارند. در تلقیح مصنوعی، اگر ملکه‌ها دوبار در معرض گاز کربنیک قرار گیرند، گاز کربنیک در تحریک غدد مترشحه و هورمون جوانی و تحریک تخمدانها برای تخمک‌سازی مؤثر بوده و تخم‌ریزی ملکه‌های تلقیح شده را جلو می‌اندازد؛ به طوری که ملکه‌های تلقیح شده، تخم‌ریزی را زودتر شروع می‌کنند.

یکی از نوبت‌های گازدهی به ملکه در زمان انجام تلقیح مصنوعی، برای بیهوش کردن ملکه‌باکره صورت می‌گیرد. لیدلا (۱۹۷۹) گازدهی دوم را یک روز قبل از تلقیح مصنوعی پیشنهاد می‌کند ولی انجام گازدهی در روزهای بعد از تلقیح مصنوعی نیز، توصیه می‌شود (Cobey, 1983b).

### پرسش‌های فصل ششم

- ۱- زمان لازم برای بالغ شدن ملکه و سن مناسب تلقیح مصنوعی ملکه را توضیح دهید.
- ۲- نحوه بیهوش کردن ملکه را برای انجام تلقیح مصنوعی شرح دهید.
- ۳- چگونگی تنظیم میزان جریان گاز کربنیک را در زمان بیهوش کردن ملکه و انجام تلقیح مصنوعی شرح دهید.
- ۴- تنظیم نگهدارنده ملکه و سرنگ در دستگاه تلقیح مصنوعی چگونه انجام می‌شود؟
- ۵- مراحل باز کردن انتهای بدن ملکه و وارد کردن سرنگ به دستگاه تناسلی ملکه را شرح دهید.
- ۶- اگر در زمان تزریق اسپرم به ملکه، اسپرم پس بزند نشان‌دهنده چه اشکالاتی است؟ و چگونه باید آن را برطرف کنیم؟

# فصل هفتم

## نگهداری و معرفی ملکه‌های تلقیح‌شده به کلنی زنبور عسل

---

### هدف‌های رفتاری

#### فراگیر گرامی

- در پایان این فصل و پس از یادگیری کامل مطالب، از شما انتظار می‌رود:
- ۱- با چگونگی نگهداری و مواظبت از ملکه تلقیح‌شده آشنا شوید.
  - ۲- با نحوه ارزیابی موفقیت تلقیح مصنوعی آشنا شوید.
  - ۳- چگونگی تحریک ملکه‌های تلقیح‌شده به تخم‌ریزی را توضیح دهید.
  - ۴- نحوه معرفی ملکه تلقیح‌شده را به کلنی زنبور عسل توضیح دهید.

## ۱-۷. نگهداری و مراقبت از ملکه‌های تلقیح شده

برای نگهداری و مراقبت از ملکه‌های تلقیح شده، باید آنها را در کلنی‌های پرستار بدون ملکه حفظ نمود. چنین کلنی‌هایی برای تولید و مواظبت ملکه باکره، بالغ کردن و مواظبت از زنبور نر و پرستاری از ملکه‌های تلقیح شده در قفس، مورد استفاده قرار می‌گیرد. این کندوها دارای ۹ قاب است که در کندو، در هر طرف یک قاب عسل و گرده‌دار، یک قاب حاوی نوزادان در وسط، یک قاب دارای نوزاد در جای سوم هر طرف و ۴ قاب حاوی قفس ملکه در جای دوم و چهارم از هر طرف، قرار دارد. این کندو را می‌توان با دادن لارو جدید و زنبور کمکی تقویت و مرتب با شربت تغذیه نمود. باید دقت کرد که قفس ملکه‌های تلقیح شده با یک توری حائل، از کارگران جدا باشد که به آن آسیب نرسانند، زیرا آنها ملکه تلقیح شده را از کلنی خود ندانسته و به آن صدمه می‌زنند. قرار دادن چند کارگر جوان پرستار در هر قفس ملکه، ضریب اطمینان را بالا می‌برد.

نتایج تحقیقات نشان داده است که زمان نگهداری ملکه‌های تلقیح شده در کلنی‌های بانک و بدون ملکه و نیز چگونگی رسیدگی و نگهداری از ملکه‌های تلقیح شده، در عملکرد ملکه‌های تلقیح شده تأثیر به‌سزایی دارد. محبوس شدن ملکه‌ها در قفس‌های معرفی و نگهداری ۲ تا ۳ هفته‌ای آنها در کلنی‌های بانک، باعث کاهش عملکرد و تخم‌ریزی دیرتر در ملکه‌های مذکور می‌شود (Woyke & Ruttner, 1976).

بعضی تحقیقات نشان داده که محبوس کردن طولانی ملکه‌ها در قفس‌های معرفی ملکه، باعث آسیب رساندن بیشتر ملکه‌ها توسط کارگران مهاجم در زمان معرفی به کندوی اصلی می‌شود. معمولاً کارگران مهاجم با گازگرفتن پاها، بال‌ها، پنجه‌ها، بالشک بین ناخن‌ها و حتی شاخک‌های ملکه، به وی آسیب می‌رسانند که در نتیجه، ملکه‌های مذکور دارای عدم تعادل و حرکت ناموزون بر روی قاب و بقا محدودتری در مقایسه با ملکه‌های سالم می‌شوند (Jasinsky, 1987 & Woyke, 1988).

بر اساس تحقیقات (Woyke) در سال ۱۹۷۹، کاهش زمان محبوس شدن ملکه‌ها در قفس‌های معرفی ملکه، باعث کمتر صدمه دیدن آنها در زمان معرفی به کندوهای اصلی و کم‌شدن تأخیر تخم‌ریزی می‌شود؛ به‌طوری‌که نتایج حاصل از تحقیقات وی نشان داد که اگر متوسط زمان حبس ملکه، از ۱۰ روز به ۴ روز کاهش یابد، میانگین ملکه‌های صدمه دیده از ۵۴ درصد به صفر کاهش می‌یابد.

دوره زمانی بعد از تلقیح، یک دوره بحرانی برای ملکه تلقیح شده است که در این مدت، باید اسپرم از لوله‌های تخم‌بر به کیسه ذخیره اسپرم برگردد.



تحرك ملکه و فعالیت ماهیچه‌های شکمی در انتقال بهتر و بیشتر اسپرماتوزوئیدها به کیسه ذخیره اسپرم مؤثر می‌باشد؛ به طوری که اگر ملکه بعد از تلقیح بر روی قاب‌های نوکلئوس حرکت داشته باشد، انتقال اسپرماتوزوئیدها از لوله‌های تخم‌بر جانی به کیسه ذخیره اسپرم، سریع‌تر اتفاق افتاده و لذا در افزایش اسپرم ذخیره‌شده و شروع تخم‌ریزی سریع‌تر، مؤثر خواهد بود (Ruttner & Koeniger, 1971).

در انتقال اسپرم به کیسه ذخیره اسپرم، گرما بسیار ضروری و مراقبت‌های کارگران کلنی پرستار در این مرحله، از ملکه تلقیح شده، بسیار حیاتی است. مقدار اسپرمی که به کیسه ذخیره اسپرم برمی‌گردد، می‌تواند تحت تأثیر مراقبت‌هایی که از ملکه تلقیح شده می‌شود، کم و زیاد شود. ملکه تلقیح شده پس از طی یک دوره در قفس، در نوکلئوس خود می‌تواند آزاد شود و فعالیت طبیعی خود را در روی شان داشته باشد.

ملکه تلقیح شده بیهوش ابتدا در قفس و در انکوباتور، یا کلنی انکوباتور، قرار داده می‌شود تا به هوش آید و اگر مستقیماً به کندوی اصلی خود معرفی شود، احتمال آسیب رساندن به ملکه توسط کارگران وجود دارد.

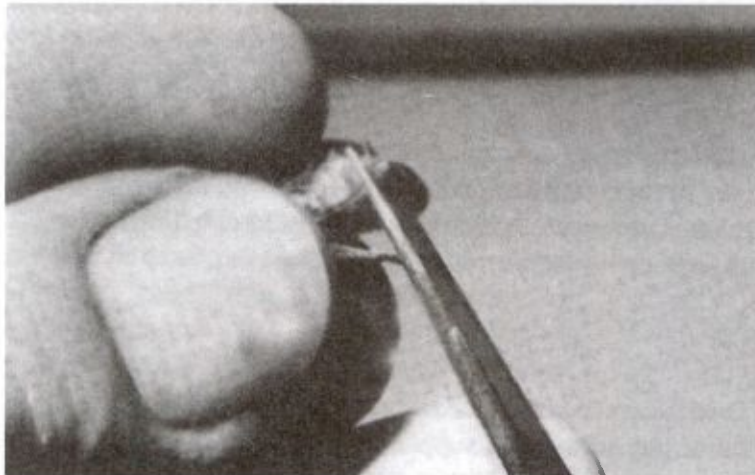
در معرفی ملکه، درجه حرارت اتاق یا کندوی نگهداری ملکه‌ها، حرکت آزاد ملکه‌ها، تماس با زنبوران کارگر و نرها و در معرض فرمون‌ها بودن ملکه پس از انجام تلقیح مصنوعی، از فاکتورهایی است که باید به آنها توجه نمود. بررسی وضعیت این فاکتورها در ملکه‌های جفت‌خورده طبیعی<sup>۱</sup> و تقلید از آن در ایجاد شرایط مذکور برای ملکه‌های تلقیح شده، در بالا بردن موفقیت‌ها بسیار حائز اهمیت است.

نتایج تحقیقات انجام شده نشان داد که اگر حرارت اتاق نگهداری ملکه‌ها، یا کندوها،  $34^{\circ}\text{C}$  باشد، انتقال اسپرم از لوله‌های تخم‌بر به کیسه ذخیره اسپرم، ۲۶٪ بیشتر از زمانی است که اتاق با کندوی نگهداری، دارای حرارت  $24^{\circ}\text{C}$  باشد. به عبارت دیگر، نگهداری ملکه‌های تلقیح شده در حرارت‌های پایین‌تر از حرارت منطقه نوزادان، باعث کاهش عملکرد و کیفیت ملکه‌ها می‌گردد (Woyke & Jasinsky 1973).

در آزمایش دیگری ثابت شده اگر ملکه‌های باکره متولدشده در کلنی‌ها، به‌طور طبیعی با کارگران کلنی تماس داشته باشند و ملکه بلافاصله پس از تلقیح مصنوعی به کندو بازگردانده شود، به طوری که در ۴۸ ساعت اول با کارگران در تماس طبیعی بوده و کارگران، مانند ملکه جفت‌خورده طبیعی به آن رسیدگی نموده و او را بلیسند، انتقال اسپرم از لوله‌های تخم‌بر به کیسه ذخیره اسپرم، ۷۵٪ بیشتر از حالتی است که ملکه‌ها پس از تلقیح در قفس نگهداری شوند

(Woyke 1979)؛ بنابراین بهتر است که ملکه‌ها پس از تلقیح، بدون هیچ محدودیتی بلافاصله به کندوی خود برگردانده شوند. بر اساس تحقیقات وسلی<sup>۱</sup> در سال ۱۹۷۰، باقی‌ماندن اسپرم در تخمدان و لوله‌های تخم‌پر ملکه، باعث صدمات و زیان‌های جبران‌ناپذیر و حتی مرگ ملکه می‌شود و لذا نگهداری ملکه در درجه حرارت مناسب، حرکت آزاد ملکه و تماس با کارگران و نرها می‌تواند از بروز این وضعیت جلوگیری کند.

درباره تأثیر هورمون‌ها در دوره تخم‌گذاری و افزایش سرعت تخم‌ریزی ملکه‌های تلقیح شده نیز، پنگ<sup>۲</sup> مطالعات وسیعی را در دانشگاه کالیفرنیا انجام داده است (Cobey, 1983b). بعد از تلقیح می‌توان یک دوم تا یک سوم بال ملکه را با قیچی جدا کرد؛ معمولاً در سال‌های زوج، بال راست و در سال‌های فرد، بال سمت چپ را قیچی می‌کنند (شکل ۷-۱).



شکل ۷-۱: چیدن انتهای بال ملکه‌های تلقیح شده برای مشخص شدن سن آنها (Laidlaw, 1989)

گاهی نیز به ملکه‌های تلقیح شده، شماره می‌زنند. برای زدن شماره باید دیسک‌های شماره‌دار مخصوصی را در پشت قفس سینه ملکه چسباند که برای این کار، باید مقداری چسب به پشت قفس سینه ملکه مالید و سپس دیسک شماره‌دار را به آرامی در پشت قفسه سینه ملکه چسباند؛ درحین کار باید دقت کرد که چسب، روزنه‌های تنفسی ملکه را مسدود نکند (شکل ۷-۲).

1. Vesely  
2. Peng



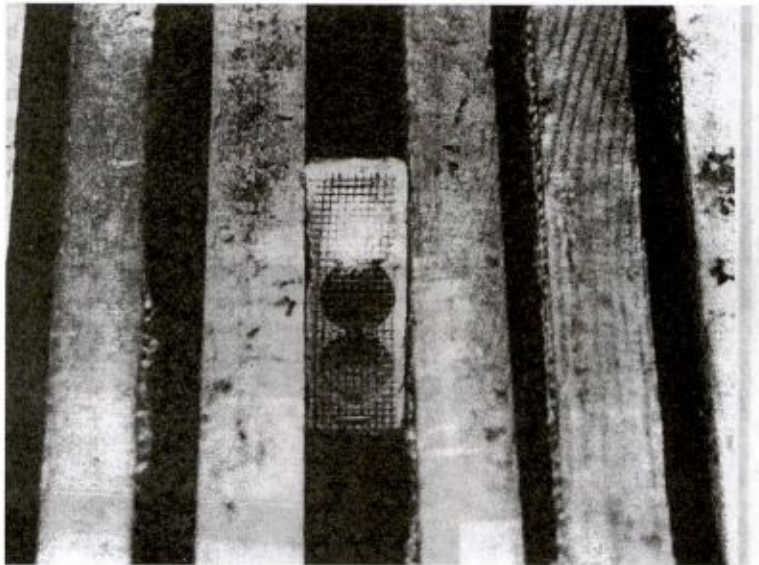
شکل ۷-۲: چگونگی نصب دیسک شماره‌دار روی قفس سینه ملکه زنبور عسل  
(Laidlaw, 1989)

با توجه به اینکه دیسک‌ها دارای شماره‌های دورقمی بوده و از ۱ تا ۹۹ شماره‌گذاری شده‌اند، برای زدن شماره اگر تعداد ملکه‌ها کمتر از ۱۰۰ عدد باشد، می‌توان شماره را رو به ساعت ۱۲ به‌طور عادی بر روی قفسه سینه آنها نصب کرد. اگر تعداد ملکه‌ها بیشتر باشد، باید قفسه سینه ملکه را مانند صفحه ساعت فرض نموده و شماره ۱۰۰ تا ۱۹۹ را رو به ساعت ۱، شماره‌های ۲۰۰ تا ۲۹۹ و ۳۰۰ تا ۳۹۹ را رو به ساعت ۲ و ساعت ۳ در روی قفس سینه ملکه نصب کرد. در این وضعیت، وقتی دیسک‌های دو رقمی به سمت ساعت ۱ باشد، عدد یک به‌عنوان رقم صدگان در نظر گرفته می‌شود؛ مثلاً وقتی شماره ۵۵ رو به ساعت ۱ نصب گردد، شماره ملکه ۱۵۵ خوانده می‌شود و اگر رو به ساعت ۲ باشد، شماره ملکه ۲۵۵ در نظر گرفته می‌شود. چنانچه تعداد ملکه‌ها بیشتر باشد، می‌توان از ساعات بعدی در روی قفسه سینه ملکه نیز استفاده نمود؛ به این ترتیب می‌توان تا ۹۹۹ ملکه را شماره‌گذاری نمود.

#### ۲-۷. معرفی ملکه تلقیح شده

برای معرفی ملکه تلقیح شده، می‌توان از قفس معرفی ملکه استفاده کرد. برای معرفی ملکه باید ۲-۳ روز زودتر کلنی را یتیم کرد و سپس ملکه را معرفی نمود. در کندویی که ملکه تلقیح شده

معرفی می‌شود، باید زنبوران پیر کمتر باشند و همیشه شربت کافی در اختیار کلنی باشد، زیرا جریان شهد در کندو به پذیرش بالاتر ملکه‌های معرفی شده کمک می‌کند. اگر ملکه به‌طور نامطلوبی معرفی شود، ممکن است کارگران، ملکه را ناقص کنند و یا باعث کشته شدن آن شوند؛ بنابراین دقت در معرفی صحیح ملکه بسیار ضروری است. کارگران، ملکه محبوس را تغذیه می‌کنند و برای احتیاط باید در قفس، خمیر یا شیرینی ملکه قرار بدهیم که اگر کارگران کلنی، ملکه را تغذیه نکردند مشکلی به‌وجود نیاید (شکل ۷-۳) و ملکه با کمک کارگران همراه، از شیرینی تهیه شده تغذیه کند. در هر حال پس از ۲-۳ روز مصرف شیرینی، با پخش شدن فرمون در کلنی و هم‌بو شدن با کلنی، امکان پذیرش ملکه برقرار شده و پذیرش انجام می‌شود. معرفی ملکه‌ها با قفس‌های معرفی مختلف، با روش‌های متفاوتی صورت می‌گیرد که استفاده از قفس فشاری، از درصد موفقیت بالاتری برخوردار است (طهماسبی، ۱۳۸۶). موفقیت در معرفی ملکه و پذیرش ملکه در کلنی اصلی، تا حد زیادی به نحوه آماده شدن و نگهداری ملکه تلقیح شده وابسته می‌باشد.



شکل ۷-۳: معرفی ملکه با قفس معرفی و خمیر ملکه

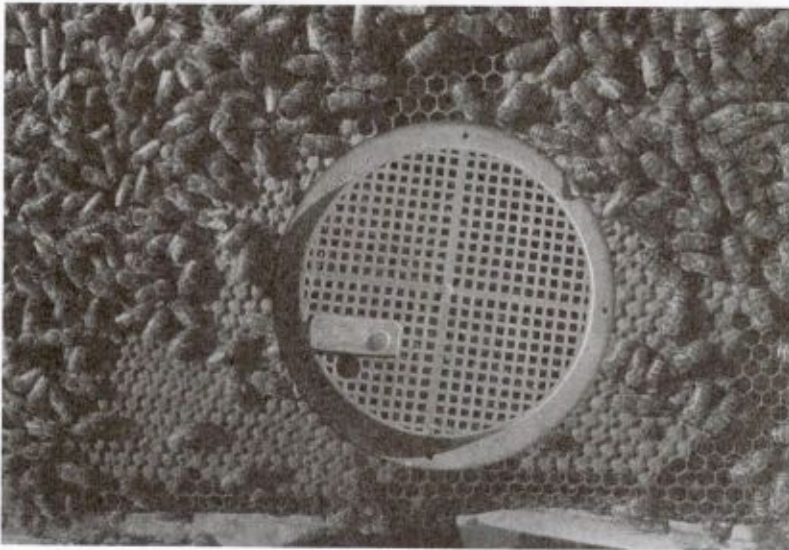


بعضی محققین معتقدند که نگهداری ملکه‌های تلقیح شده در نوکلئوس‌های کوچک جفت‌گیری در کنار کارگران زیاد، باعث موفقیت بیشتر آنها در زمان معرفی به کندوی اصلی شده و در تأمین کلنی‌های قوی‌تر نیز، مؤثر است (Rodes et al., 2004).

نتایج حاصل از تحقیقات اسمیت و همکاران در سال‌های ۱۹۹۱ و ۱۹۹۳، نشان داد که پرواز جفت‌گیری، یک محرک قوی در ترشح فرومون TGS<sup>۱</sup> است که این فرومون، توسط غدد پشتی شکمی ملکه ترشح شده و در پذیرش بیشتر ملکه در کلنی اصلی، نقش مهمی دارد. علاوه بر پرواز جفت‌گیری، چگونگی نگهداری ملکه‌های تلقیح شده توسط کارگران نیز، در ترشح این فرومون و موفقیت بیشتر در پذیرش ملکه‌ها و بقاء و طول عمر آنها مؤثر می‌باشد. نگهداری ملکه‌های تلقیح شده در نوکلئوس‌های جفت‌گیری، در بالا بردن این موفقیت، اهمیت فراوانی دارد.

#### ۷-۲-۱. معرفی ملکه با قفس فشاری

استفاده از قفس فشاری در روی قاب‌های حاوی شفیره‌های در حال تولد، باعث می‌شود که کارگران متولد شده از شفیره‌های روی قاب نیز، ضمن هم‌بو شدن با ملکه به‌عنوان مدافع ملکه، همراه با کارگران ملازم دیگر، در پذیرش ملکه توسط کلنی مؤثر باشند (شکل ۷-۴).



شکل ۷-۴: استفاده از قفس فشاری برای معرفی ملکه

در این روش، با توجه به فضای بیشتر قفس فشاری برای پخش فرومون ملکه، امکان موفقیت در معرفی ملکه افزایش می‌یابد. در هر حال، با نصب قفس فشاری بر روی قاب شفیره نزدیک به تولد در طی ۲-۳ روز محبوس بودن ملکه، تعدادی زنبورکارگر نیز از شفیره‌های زیر قفس متولد می‌شوند و در کنار ملازمین ملکه، از او مراقبت می‌کنند. معمولاً پس از ۲-۳ روز، زنبوران بیرون قفس به داخل قفس راه می‌یابند که در غیراین صورت، با باز کردن دریچه روی قفس، می‌توان ملکه را پس از سه روز آزاد کرد.

### ۳-۷. ارزیابی عملکرد ملکه‌های تلقیح مصنوعی شده

ارزیابی ملکه‌های تلقیح شده از نظر شروع تخم‌ریزی، وضعیت و میزان تخم‌ریزی و نیز صفات عملکردی، مثل تولید عسل انجام می‌شود. ارزیابی ملکه‌های تلقیح شده و مقایسه آنها با ملکه‌های جفت‌خورده طبیعی، توسط رابرتس (۱۹۴۶) و روتنر (۱۹۷۶) نشان داد که ملکه‌های تلقیح شده، به‌طور متوسط، از عملکرد بالاتری برخوردار هستند؛ البته تفاوت دو گروه تلقیح شده و جفت‌خورده طبیعی، خیلی زیاد نبود ولی پائین‌تر نبودن عملکرد ملکه‌های تلقیح شده در این مقایسه، امتیازی مثبت برای آنها تلقی می‌شود.

بر اساس نتایج تحقیقات مختلف، ملکه‌های تلقیح شده در تأسیس کلنی، پذیرش ملکه در زمان معرفی به کلنی و حتی تخم‌گذاری در مقایسه با ملکه‌های جفت‌خورده طبیعی، از موفقیت نسبتاً کمتری برخوردار هستند که این امر با تلقیح صحیح، نگهداری مطلوب ملکه‌های تلقیح شده و رسیدگی مناسب توسط زنبورداران به حداقل می‌رسد (Cobey, 2007). (Cremak, 2004) در جمهوری چک نشان داد که تولید عسل در ملکه‌های تلقیح شده، بالاتر از ملکه‌های جفت‌خورده طبیعی است. بررسی‌های ولسلی در بین سال‌های ۱۹۶۱ تا ۱۹۸۰ مشخص ساخت که ملکه‌های تلقیح‌شده از نظر بقاء و طول عمر، اختلاف معنی‌داری با ملکه‌های جفت‌خورده طبیعی ندارند (Cobey, 2007).

تلقیح ملکه‌ها از ۴ روزگی تا چند ماهگی میسر است، ولی بین ۴ تا ۱۳ روزگی، جفت‌گیری طبیعی ملکه‌ها از موفقیت بالایی برخوردار است. ملکه‌های تلقیح شده در ۱-۳ روزگی، مرگ و میر بالایی دارند و ملکه‌های تلقیح شده در ۵ تا ۱۰ روزگی، دارای اسپرم بیشتر و بقای بالاتری هستند (Woyke & Jasinsky, 1978).

تحقیقات مکنسن و رابرتس (۱۹۴۸) نشان داد ملکه‌های تلقیح شده ۱۰ روزه و بالاتر، کمتر توسط کارگران کشته می‌شوند که علل آن ترشح فرومون‌های ملکه و تغییر pH مایع کیسه ذخیره



اسپریم می‌باشد (Cobey, 2000). ملکه‌های نگهداری شده در قفس و کلنی بانک، از اسپرم کمتر و تخم‌ریزی دیرتری برخوردار بوده و کارگران به آنها آسیب بیشتری می‌زنند (Woyke, 1989). محبوس شدن و عدم تحرک ملکه بر روی قاب‌ها، باعث کاهش انتقال اسپرم به کیسه ذخیره اسپرم می‌شود؛ لذا نگهداری ملکه تلقیح شده در نوکلئوس‌های کم جمعیت، درصد موفقیت را بالا می‌برد (Vesely, 1970).

ملکه‌های محبوس شده، توسط کارگران مهاجم آسیب بیشتری می‌بینند که بیشتر این آسیب‌ها به پنجه پا، بالشک پاها و شاخک ملکه‌ها وارد می‌شود (Jasinsky, 1987). کاهش زمان محبوس شدن ملکه‌ها، از ۱۰ روز به ۴ روز، صدمه وارده به ملکه‌ها را در اثر حمله کارگران از ۵۰ درصد آسیب‌دیدگی، به صفر می‌رساند (Woyke, 1989). تلقیح ملکه با ۷/۵ تا ۱۲ میکرولیتر اسپرم، بهترین نتیجه را نشان می‌دهد و ملکه‌های تلقیح شده با اسپرم کمتر از ۷ میکرولیتر، موفقیت کمتری داشته‌اند (Cremak, 2004).

#### ۷-۴. تخم‌ریزی ملکه تلقیح شده

ملکه‌هایی که به‌طور طبیعی در فضا جفت‌گیری می‌کنند، معمولاً ۲-۴ روز بعد از جفت‌گیری، تخم‌ریزی خود را شروع می‌کنند که این تأخیر تخم‌ریزی، طبیعی است. تأخیر تخم‌ریزی در ملکه‌هایی که تلقیح مصنوعی می‌شوند خیلی بیشتر است و گاهی تا یک ماه طول می‌کشد (Cobey, 2007)؛ ولی اگر روز بعد از تلقیح مصنوعی، ملکه را مجدداً در معرض گاز کربنیک قرار دهیم، این تأخیر تخم‌ریزی به ۲-۶ روز کاهش می‌یابد (Cobey, 2007). برای این کار، صبح روز بعد از تلقیح مصنوعی، ملکه‌ها را جمع‌آوری و هر ملکه را در یک قفس و در ظرفی مخصوص قرار می‌دهیم و گاز کربنیک را به‌وسیله لوله‌ای به انتهای ظرف وارد می‌کنیم تا ملکه بیهوش شود؛ پس از ۱۰ دقیقه، که ملکه‌ها آرام و بی‌حرکت شدند، جریان گاز کربنیک را قطع می‌کنیم و روزانه قفس را با شیرینی ملکه مسدود کرده و سپس قفس را به نوکلئوس خود برمی‌گردانیم (Rinderer, 1986).

البته باید دقت کرد که ملکه قبل از معرفی به نوکلئوس، به هوش آمده باشد. در طی این مدت، ملکه می‌تواند در انکوباتور، یا حتی در شرایط اتاق تلقیح یا آزمایشگاه، باشد؛ سپس تاریخ دومین گازدهی را یادداشت کرده و در طی هفته بعد، تخم‌ریزی ملکه‌ها را کنترل می‌کنیم. تخم‌ریزی ملکه نشانه موفقیت تلقیح است. موفقیت یک تلقیح‌کننده حرفه‌ای، ۸۶-۹۲٪ و حتی بیشتر است، در حالی که در جفت‌گیری طبیعی، درصد موفقیت حدود ۷۵٪ است. باید توجه

داشت که حدود ۲۵٪ از ملکه‌های تلقیح شده، در زمستان تلف می‌شوند که علت این امر ناشناخته است.

گاز کربنیک باعث می‌شود که تخمدان‌های ملکه به تخم‌ریزی تحریک شوند و لذا تخم‌ریزی را جلو می‌اندازد. لازم به ذکر است که در عملیات اصلاح نژاد زنبورعسل نیز، گاهی ملکه باکره را سه نوبت به فواصل ۲-۳ روز با  $CO_2$  تحریک به تخم‌ریزی می‌کنند تا تخم نر بگذارد و سپس نرها را می‌توان با ملکه مذکور، که مادر خودشان است، تلقیح نمود (Rinderer, 1986). در تحریک ملکه برای بکرزایی و تخم‌ریزی نر، لازم است ملکه سه بار در معرض گاز کربنیک قرار بگیرد و در ملکه‌ای که تلقیح شده باشد نیز، با یک بار گازدهی، تأخیر تخم‌ریزی کاهش می‌یابد (Rinderer, 1986).

ملکه‌های تلقیح شده، که به کلنی معرفی می‌گردند، در یک یا دو روز اول با  $CO_2$  گازدهی می‌شوند و معمولاً ۴ روز پس از آخرین گازدهی، تخم‌ریزی را شروع می‌کنند؛ البته این میزان تأخیر تخم‌ریزی، مربوط به ملکه‌هایی است که در زمان تلقیح، حداقل ۷ روزه باشند و زودتر از آن تلقیح نشده باشند (Rinderer, 1986).

اما ملکه‌هایی که با هم و در قفس‌های جداگانه در یک کلنی نگهداری می‌شوند، لازم نیست حتماً در روزهای اول بعد از تلقیح، با  $CO_2$  گازدهی شوند؛ برای اطمینان بیشتر، بهتر است این ملکه‌ها در همان روزی که قرار است از کلنی بانک ملکه به نوکلئوس معرفی شوند، با  $CO_2$  گازدهی شوند تا تخم‌ریزی را شروع کنند؛ در این وضعیت، برای موفقیت بیشتر، ملکه‌ها باید حداقل تا ۲-۳ هفته در کلنی بانک نگهداری و سپس به نوکلئوس معرفی شوند. اگر ملکه‌های مذکور تا دو ماهگی در کلنی بانک نگهداری شوند، دیگر قبل از معرفی به نوکلئوس، نیازی به گازدهی با  $CO_2$  ندارند (Rinderer, 1986).

بر اساس مطالعات مکسنن و رابرتس، استفاده از  $CO_2$  در دو نوبت پس از تلقیح، در تسریع تخم‌ریزی لازم است. به‌نظر کوبی، با توجه به خطرات استفاده از  $CO_2$ ، کاهش زمان استفاده از  $CO_2$  تا دو دقیقه در هر نوبت، می‌تواند ضمن تسریع شروع تخم‌ریزی، خطرات کمتری برای ملکه داشته باشد (Cobey, 2007).

استفاده از مخلوط ۷۵٪ گاز کربنیک و ۲۵٪ اکسیژن، ضمن تسریع شروع تخم‌ریزی، خطرات ناشی از استفاده  $CO_2$  را نیز کاهش می‌دهد (Ebadi & Gary, 1980).

پذیرش ملکه‌های تلقیح شده به‌وسیله کارگران کلنی اصلی، گاهی با مشکلاتی همراه است و پذیرش به خوبی انجام نمی‌شود و به ملکه آسیب می‌رسانند، برای کاهش خطرات و تلفات ملکه‌های مذکور، باید ملکه‌های تلقیح شده، حداقل ۴ روز در نوکلئوس‌ها تخم‌ریزی کنند و سپس

به کلنی اصلی و پر جمعیت معرفی شوند. این کلنی‌های تازه تأسیس شده، باید حدود ۲۰۰۰ تا ۵۰۰۰ زنبور کارگر داشته و فاقد تخم و لارو باشند. در زمان معرفی ملکه‌ها، باید ۳ روز بعد از قرار دادن ملکه در کلنی، آن را آزاد کنیم و اگر در بعضی کلنی‌ها توسط کارگران مورد حمله قرار گرفتند، باید ۱-۲ روز دیگر در قفس معرفی ملکه، یا زیر قفس فشاری، باقی بمانند. ملکه‌های ۳-۴ هفته‌ای، معمولاً ۱-۲ روز بعد از آزادسازی، تخم‌ریزی می‌کنند (Rinderer, 1986).

## ۷-۵. روش‌های خاص در تلقیح مصنوعی

### ۷-۵-۱. تلقیح با اسپرم یک زنبور نر

این روش بیشتر مربوط به بررسی‌های تحقیقاتی و علمی است؛ زیرا کل اسپرم‌های تولید شده توسط زنبور نر هاپلوئید، مشابه بوده و ملکه‌های تلقیح شده با اسپرم یک زنبور نر، زنبوران کارگری تولید می‌کنند که رابطه خویشاوندی آنها نزدیک‌تر از خواهران تنی<sup>۱</sup> بوده که به آنها سوپرخواهر<sup>۲</sup> گفته می‌شود.

در این روش، کلیه اقدامات انجام شده مشابه تلقیح معمولی است ولی در سرنگ، فقط اسپرم حاصل از یک زنبور نر جمع‌آوری می‌شود. در این شیوه، ۵/۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژیک برداشت شده و سپس اسپرم زنبور نر در سرنگ، جمع‌آوری می‌شود؛ به‌دلیل محدود بودن اسپرم جمع‌آوری شده، معمولاً نری انتخاب می‌گردد که بتوان بیشترین اسپرم را از آن گرفت (Rinderer, 1986).

گاهی چندین ملکه با اسپرم جمع‌آوری شده از یک زنبور نر، تلقیح می‌شوند که همه آنها زنبوران کارگر سوپرخواهر تولید می‌کنند؛ برای این کار، به هر ملکه، ۲/۰ میکرولیتر اسپرم تزریق می‌گردد (Rinderer, 1986).

### ۷-۵-۲. تلقیح ملکه‌ها با مخلوط یکنواخت اسپرم زنبوران نر

برای این منظور، اسپرم‌های جمع‌آوری شده را رقیق نموده و سپس آنها را مخلوط می‌کنند تا نهایتاً پس از بازیابی توسط سانتریفیوژ، برای تلقیح ملکه‌ها استفاده شود (Kanftanoghlu & peng, 1980).

ویلیامز و هاربو (۱۹۸۲) و موریتس (۱۹۸۴) نشان دادند که در این روش، ملکه مخلوطی از لاروهای متفاوت را به‌صورت یکنواخت تولید می‌کند.

1. Full sister  
2. Super sister

#### ۷-۵-۳. جمع‌آوری اسپرم از کیسه‌های اسپرم<sup>۱</sup> یک زنبور نر

این روش در زمانی به کار می‌رود که عمل خروج اسپرم با استفاده از روش معمول میسر نیست و به دلایلی، از قبیل جوان بودن زنبور نر، اسپرم‌ها از کیسه اسپرم به انتهای آلت تناسلی نر منتقل نمی‌شوند.

مکنسن و روتنر (۱۹۷۶)، چگونگی تشریح بخش شکم و جدا کردن کیسه اسپرم و سپس جمع‌آوری اسپرم درون آنها را با سرنگ شرح داده‌اند.

#### ۷-۵-۴. استفاده از اسپرم درون کیسه ذخیره اسپرم ملکه برای تلقیح ملکه‌ای دیگر

این روش در زمانی که نیاز به تلاقی برگشتی باشد و در بررسی‌های تحقیقاتی استفاده می‌شود. در این روش، پس از باز کردن بخش پشتی شکمی ملکه و کنار هم زدن تراشه‌ها، کیسه ذخیره اسپرم (اسپرماتکا) را جدا کرده و پس از قرار دادن آن در سطح صاف، با سوراخ کردن اسپرماتکا، اسپرم درون آن را با سرنگ جمع‌آوری نموده و با روش معمولی برای تلقیح ملکه دیگری استفاده می‌کنند (Rinderer, 1986).

#### ۷-۵-۵. تلقیح ملکه‌های خیلی پیر

ملکه‌های با سن بیش از ۸ هفته، به‌عنوان ملکه پیر در نظر گرفته می‌شوند ولی هنوز تلقیح آنها امکان‌پذیر است و حتی تا سن ۵ ماهگی نیز می‌توان ملکه را تلقیح نمود. سن ملکه به‌طور مطلق، عامل محدودکننده به‌شمار نمی‌رود. برای تلقیح ملکه‌های خیلی پیر، باید ملکه را همراه با پنج تا هشت زنبور کارگر، به مدت حدود ۳ روز در قفس‌های معرفی محبوس نمود تا شکم ملکه کوچک شود؛ اگر تلقیح این ملکه‌ها با ۲ میکرولیتر اسپرم، یا کمتر از آن، صورت بگیرد، امکان زنده‌مانی ملکه بیشتر می‌شود؛ پس از تلقیح، باید ملکه را با قفس به یک کلنی معرفی نمود و پس از ۲-۳ روز، آن را آزاد نمود. طبعاً در این شرایط سنی، برای تحریک تخم‌ریزی نیازی به استفاده از گاز CO<sub>2</sub> نمی‌باشد. در ملکه‌های پیر، درصد انتقال اسپرم‌ها به کیسه ذخیره اسپرم کمتر است و تعداد زیادی از ملکه‌های تلقیح شده ۴ ماهه یا بیشتر، تخم‌های هاپلوئید زیادی می‌گذارند (Rinderer, 1986).

۷-۵-۶. تلقیح مصنوعی ملکه با پسران خودش

تلقیح ملکه با پسران خودش، یک روش اصلاح نژادی خاص است که اولین بار مکنسن (۱۹۵۱) برای سرعت به خلوص رساندن توده تحت بررسی، از آن استفاده کرد. برای این کار، ملکه باکره را با گازهی  $CO_2$  تحریک به تخم‌ریزی می‌کنند که طبعاً تخم‌های نر تولید می‌کند؛ اگر در این زمان، قاب‌های با سلول‌های درشت در اختیار ملکه باشد، ملکه، تخم‌های نر را در این سلول‌ها قرارداده و پس از تولد نرها و بلوغ آنها، در حدود ۲ هفتگی، اسپرم آنها را می‌توان برای تلقیح ملکه مادری آنها مورد استفاده قرار داد؛ در این حالت نیز، باید ملکه مادری را، که پیر شده است، ابتدا با چندکارگر در قفس معرفی محبوس کنیم تا اندازه شکم ملکه کوچک‌تر شود و سپس با حجم حدود ۲ میکرولیتر از اسپرم جمع‌آوری شده از نرهای مذکور، ملکه را تلقیح نمود.

### پرسش‌های فصل هفتم

- ۱- نحوه مراقبت از ملکه تلقیح شده را توضیح دهید.
- ۲- چگونگی معرفی ملکه تلقیح شده را به کلنی زنبورعسل توضیح دهید.
- ۳- چگونگی علامت‌گذاری و شماره زدن ملکه را شرح دهید.
- ۴- منظور از تأخیر تخم‌ریزی ملکه چیست؟
- ۵- تفاوت تأخیر تخم‌ریزی در ملکه‌هایی که به‌طور طبیعی جفت‌گیری می‌کنند و ملکه‌های تلقیح شده در چیست؟
- ۶- روش کاهش تأخیر تخم‌ریزی را در ملکه‌های تلقیح شده توضیح دهید.



## فصل هشتم

# آفات و بیماری‌های ملکه زنبور عسل

---

### هدف‌های رفتاری

#### فراگیر گرامی

در پایان این فصل و پس از یادگیری کامل مطالب، از شما انتظار می‌رود:

- ۱- با آفات و بیماری‌های مهم ملکه زنبور عسل آشنا شوید.
- ۲- با روش‌های کنترل آفات و بیماری‌های ملکه آشنا شوید.

### ۸-۱. عوامل خسارت‌زای غیر ژنتیکی

کلنی زنبورعسل به دلیل وجود مواد غذایی مختلف و شرایط خاص داخل کندو و فراهم بودن محیط لازم برای فعالیت موجودات مختلف، مورد هجوم بسیاری از آفات و بیماری‌ها قرار می‌گیرد که انواع پستانداران، بندپایان، انواع باکتری‌ها، قارچ‌ها، پروتوزوئوها و ... به کلنی‌های زنبورعسل حمله کرده و خساراتی ایجاد می‌کنند.

بعضی از آفات و بیماری‌های ذکر شده به‌طور اختصاصی به کلنی پرورش ملکه زنبورعسل خسارت می‌زنند و باعث خسارت جبران‌ناپذیری در این کلنی‌ها می‌شوند که مهم‌ترین آنها به شرح ذیل می‌باشد:

### ۸-۱-۱. شپش زنبورعسل

این حشره، که اشتباهاً شپش زنبورعسل نامیده می‌شود، از راسته دوبالان می‌باشد که به دلیل سازش با شرایط محیطی خاص، شبیه شپش‌ها شده است. طبق مطالعات انجام شده، ۵ گونه و ۲ زیرگونه از جنس برائولا، روی زنبورعسل گزارش شده است که براساس مناطق انتشار، برائولا کوهلی<sup>۱</sup> در کنگو، برائولا اورینتالیس<sup>۲</sup> در روسیه و ترکیه و اسرائیل، برائولا اشمیتزی<sup>۳</sup> در آسیا، جنوب اروپا و امریکای جنوبی، برائولا پورتورینسیس<sup>۴</sup> در افریقا و برائولا کوئکا<sup>۵</sup> در اروپا، افریقا، استرالیا و امریکا پراکنده است (راجر مورس، ۱۳۷۴).

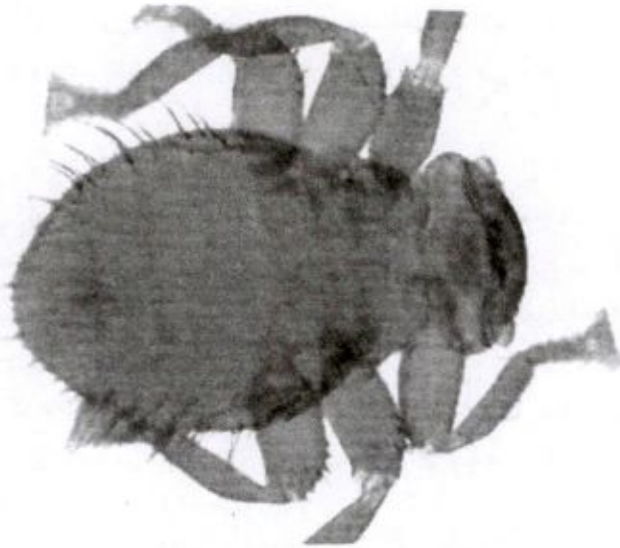
با توجه به اینکه در خیلی مواقع، این آفت بر روی بدن ملکه مشاهده می‌شود، لذا اهمیت خاصی دارد که به‌عنوان آفت ملکه شناخته شده و زنبورداران از وجود آن نگران می‌شوند؛ زیرا وجود این حشره از میزان تخم‌ریزی ملکه می‌کاهد.

با توجه به مطالب فوق‌الذکر، احتمال وجود گونه اورینتالیس و اشمیتزی در ایران وجود دارد؛ هرچند که اصولاً در بعضی مناطق، به‌طور کلی این آفت تحت عنوان برائولا کوئکا معرفی شده است. رابطه این آفت با زنبورعسل از سال ۱۷۴۰ گزارش شده است (راجر مورس، ۱۳۷۴).

1. *Braula kohli* Schmitz
2. *B. orientalis* Orosi
3. *B. Schmitzi* Orosi
4. *B. pretoriensis* Orosi
5. *B. coeca*

### شکل شناسی خارجی

این حشره از نظر شکل ظاهری، شبیه به کنه واروآ ولی اندازه آن کوچکتر است و مهم‌ترین وجه تمایز آنها در تعداد پاهاست که شپش زنبور عسل ۶ پا و کنه ۸ پا دارد. حشره کامل، بدون بال، به رنگ قهوه‌ای متمایل به قرمز و به طول  $1/5$  و عرض  $0/75\text{mm}$  است (شکل ۸-۱).



شکل ۸-۱: حشره کامل شپش زنبور عسل

چشم‌های مرکب این حشره تحلیل رفته ولی چشم ساده ندارد و حلقه‌های سینه آن کوتاه و فشرده شده است؛ در آخرین بند پا دارای قطعه سخت شانه‌مانندی است که ۱۵-۱۶ دندانه دارد که در واقع، ناخن تغییرشکل یافته است و حشره با همین ناخن، به زنبور می‌چسبد.

### زیست‌شناسی

حشره بالغ این‌گونه با کمک ناخن‌ها در میان موهای قفس سینه بدن میزبان می‌چسبد و از شهد و گرده مورد تغذیه میزبان و نیز از ترشحات آن تغذیه می‌کند. حشره ماده، تخم‌ها را در سطح داخلی یا خارجی سرپوش سلول‌ها قرار می‌دهد و پس از ظهور لارو و تغذیه از عسل و موم، تونلی ایجاد می‌کند و در نزدیکی انتهای تونل، به سفیره و سپس حشره کامل تبدیل می‌شود. حشره کامل بعد از ظهور و بلوغ به سطح شان می‌آید.

بعضی محققین، دوره زندگی گونه اورینتالیس را ۶۳ تا ۶۷ روز و برخی نیز، دوره زندگی گونه کونکا را ۱۶ تا ۲۳ روز ذکر کرده‌اند (Hassanein and Abd El-Salaam, 1962). تخم این حشرات در زیر سرپوش سلول‌ها، یا دیواره سلول‌ها، گذاشته می‌شود و سپس لارو آن تونلی ایجاد می‌کند، از موم و گرده تغذیه می‌کند و در همان تونل، تبدیل به شفیره شده و حشره کامل از شفیره خارج می‌شود. بر روی بدن ملکه، تعدادی از حشرات کامل آنها دیده می‌شود که روی سینه، نزدیک قطعات دهانی مستقر می‌شوند و در موقع تغذیه ملکه توسط کارگران، از محل بازشدن غدد بزاقی و پایه زبان، از مواد غذایی، مثل عسل و ترشحات غدد بزاقی تغذیه می‌کنند (Cantwell, 1974 Philips, 1925).

### کنترل

استفاده از داروهای دودزا، که علیه کنه واروا به کار می‌رود، در ریزش حشره کامل این آفت و کنترل آن مؤثر بوده و استفاده از دود تنباکو نیز، در کنترل این حشره مؤثر است و برداشتن سرپوش‌شان‌ها نیز، از جمعیت آن می‌کاهد. کاربرد فولبکس علاوه بر کنه واروا، این آفت را هم کنترل می‌کند. استفاده از چوب کبریت آغشته به عسل و جدا کردن آن از ملکه نیز، پیشنهاد شده است.

### ۸-۱-۲. مورچه‌ها<sup>۱</sup>

مورچه‌ها، رژیم همه‌چیزخواری دارند و از دانه گیاهان، حشرات دیگر، مایعات شیرین و غیره تغذیه می‌کنند و لانه خود را در سطح و زیر زمین، یا داخل چوب‌های خشک و تنه درختان، می‌سازند. این حشرات از شکارچیان زنبورعسل هستند و در نیمکره شمالی هر چه به نواحی گرمسیر نزدیک می‌شویم، تنوع و اهمیت خسارت آنها بیشتر می‌شود.

گونه‌های متفاوت مورچه‌ها در مناطق مختلف با وارد شدن به کندوهای زنبورعسل، گرده گل و عسل را همراه خود به لانه‌هایشان منتقل می‌کنند و گاهی با زنبوران کارگر درگیر شده و یکدیگر را از بین می‌برند. حمله مورچه‌های زیرخانواده دوریلینه<sup>۲</sup> و اکتیونینه<sup>۳</sup> به کلنی‌های زنبورعسل در آفریقا، طی چند ساعت باعث نابودی آنها شد و حمله مورچه‌های جنس فورمیکا<sup>۴</sup> در کانادا و آلمان، موجب از بین رفتن کلنی‌های زنبورعسل شد.

1. *Ants*
2. *Dorylinae*
3. *Ectioninae*
4. *Formica SPP*

این مورچه آفت مهم کلنی‌های جفت‌گیری در زمان پرورش ملکه است و نمی‌تواند به کلنی معمولی خسارت بزند، لذا در بحث ملکه به آن اشاره شده است. در بررسی‌های انجام شده در جنوب ایران، گونه‌هایی از مورچه‌ها، از کلنی‌ها زنبورعسل جمع‌آوری شد که بعضی از آنها برای کلنی‌ها زنبورعسل، خسارت‌زا بودند. در این بررسی، گونه *Lepisiota semenovi* برای اولین بار از ایران گزارش شد (طهماسبی و همکاران، ۱۳۸۲) و گونه‌هایی از زنبورهای نجار نیز به‌عنوان گونه‌های خسارت‌زا معرفی شدند.

### مورچه‌های نجار<sup>۱</sup>

گونه‌های مختلف مورچه‌های نجار، از جنس کامپونوتوس<sup>۲</sup> به کلنی‌های زنبورعسل حمله می‌کنند و با تغذیه از عسل و گرده و نیز درگیری با زنبورهای کارگر و کشتن آنها، به کلنی‌های زنبورعسل خسارت می‌زنند.

گونه‌ای از مورچه‌های نجار، آفت کلنی‌های جفت‌گیری در فلوریدای امریکا معرفی شده‌اند و گونه‌ای دیگر از آنها را در آرژانتین، مهاجم به تله‌های گرده نصب شده در جلو کندوهای زنبورعسل، می‌دانند.

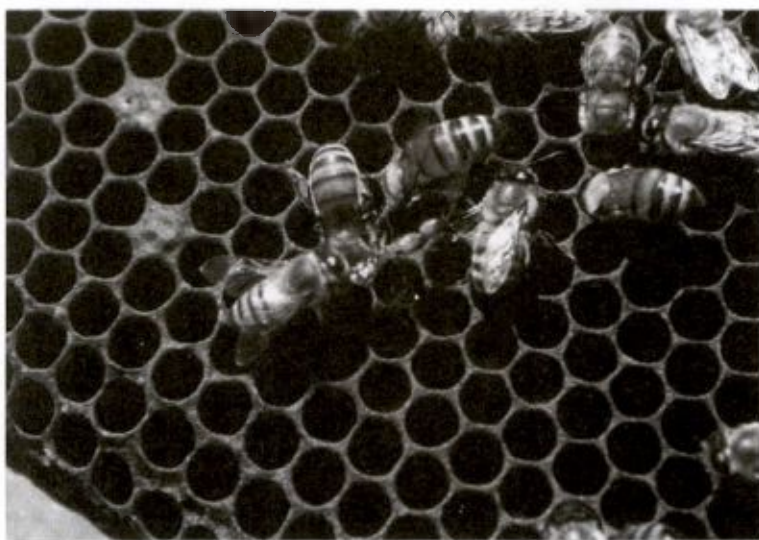
در ایران، دو گونه از مورچه‌های کامپونوتوس از کلنی‌های زنبورعسل جمع‌آوری شده است که گونه کامپونوتوس سنکتوس<sup>۳</sup>، خسارت قابل توجهی به کلنی‌های جفت‌گیری زنبورعسل وارد می‌کند و آفت کلنی‌های جفت‌گیری معرفی شده است. گونه‌ای دیگر از جنس کامپونوتوس اوژیوم<sup>۴</sup> نیز، از کلنی‌های جفت‌گیری در منطقه جنوب کشور جمع‌آوری شد که از لحاظ رفتاری و زیست‌شناسی، شباهت‌های زیادی به گونه خسارت‌زای ایران دارد، ولی در حال حاضر آفت جدی برای کلنی‌های جفت‌گیری زنبورعسل به شمار نمی‌آید (طهماسبی و همکاران، ۱۳۸۲).

### مورچه نجار در ایران

این گونه که برای نخستین بار در سال ۱۳۸۱ از ایران گزارش شد، با حمله به کلنی‌های جفت‌گیری در جنوب کشور، باعث نابودی تعدادی از آنها گردید (طهماسبی و همکاران، ۱۳۸۲). کارگران این گونه، در اطراف شهرستان رودان از توابع استان هرمزگان، با حمله به کلنی‌های جفت‌گیری، برای تغذیه از عسل موجود در کندو، با زنبورهای کارگر به شدت درگیر شدند

1. Carpenter Ants
2. Camponotus SPP
3. Camponotus sanctus
4. Camponotus oasium

(شکل ۸-۲) و بعضی از کلنی‌های جفت‌گیری را کاملاً نابود کردند و تعداد زیادی از مورچه‌ها نیز، در این درگیری از بین رفتند (شکل ۸-۳).



شکل ۸-۲: درگیری مورچه‌های نجار با زنبورهای کارگر داخل کندوی زنبورعسل

این گونه دارای کاست‌های متفاوت است و علاوه بر ملکه و نر، مورچه‌های کارگر به دو شکل بزرگ و کارگران کوچک مشاهده می‌شوند. در این گونه، کارگران کوچک دارای بدنی قهوه‌ای رنگ هستند و بندهای انتهایی شکم قهوه‌ای تیره و پاها و قفس سینه و سایر بندهای شکم، به رنگ قهوه‌ای روشن است.

مورچه‌های کارگر بزرگ، دارای سر و بدنی بزرگ‌تر و بدنی به رنگ قهوه‌ای تیره هستند. به‌طور کلی، مورچه‌های این گونه ضمن دارا بودن جثه بزرگ‌تر، از رنگ تیره‌تری نیز برخوردارند.





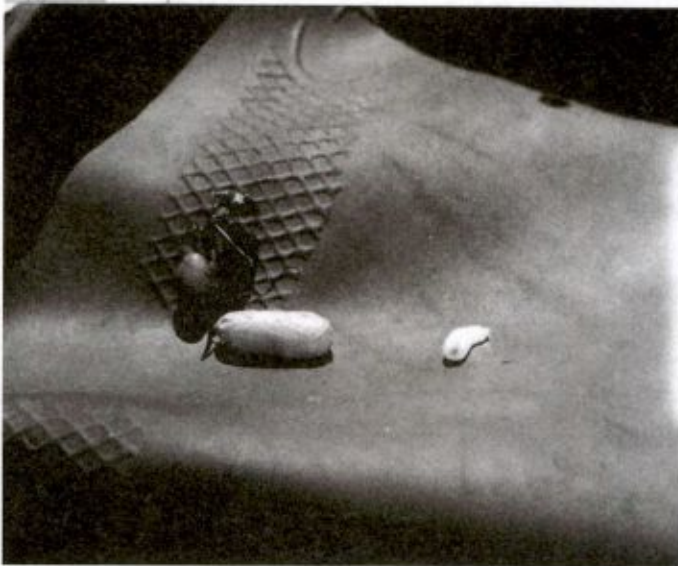
شکل ۸-۳: مورچه‌های نجار و زنبورهای عسل کشته شده در درگیری مورچه‌های نجار با کارگران کلنی‌های جفت‌گیری

این مورچه‌ها در طول شب به کلنی‌های زنبور عسل رفت و آمد می‌کنند و با حمل شهد و عسل داخل کلنی به لانه‌های خود، به کلنی‌ها خسارت می‌زنند، در مواردی نیز، درگیری شدیدی بین آنها و زنبورهای کارگر کلنی‌های زنبور عسل به وجود می‌آید (شکل ۸-۴). در طول روز، وقتی که کلنی‌ها مورد بازدید قرار می‌گیرند، کارگران این گونه به بخش‌های تاریک کلنی پناه می‌برند و به ظاهر اثری از آنها دیده نمی‌شود، ولی طی شب، رفت و آمد آنها به کلنی‌ها بیشتر می‌شود اما در شب‌های مهتابی، رفت و آمد آنها کمتر از شب‌های تاریک است.

اگر کلنی در نزدیکی لانه این مورچه‌ها قرار گرفته باشد، شدت حمله بیشتر است و کلنی‌هایی که بر روی لانه این مورچه‌ها قرار گرفته باشند، ممکن است کاملاً نابود شوند.

این گونه، مانند مورچه‌های دیگر، دارای دگردیسی کامل و مراحل تخم، لارو، شفیره و حشره کامل است و کلنی آنها از چهار کاست ملکه، نر، کارگران بزرگ و کارگران کوچک تشکیل شده است که کارگران کوچک و بزرگ آنها، در حمله به کلنی‌های زنبور عسل شرکت می‌کنند. حمله این مورچه‌ها به کلنی‌های ضعیف، سبب نابودی کلنی می‌شود اما کلنی‌های قوی در مقابل حمله آنها مقاومت می‌کنند و آنها را از کندو بیرون می‌اندازند؛ به همین دلیل، حمله آنها به کلنی‌های جفت‌گیری، که از زنبورهای کارگر کمتری برخوردار است، می‌تواند خسارت‌زا یا حتی با نابودی

کامل کلنی‌های جفت‌گیری همراه باشد. در ایران نیز، حمله این گونه به کلنی‌های جفت‌گیری در منطقه رودان (استان هرمزگان) باعث نابودی تعدادی از آنها گردید؛ به طوری که بعضی از آنها در اثر حمله مورچه‌ها نابود شدند و بعضی از کلنی‌ها نیز، مجبور به ترک کندو شدند. درباره زیست‌شناسی این آفت، در کشور ما اطلاعات کافی وجود ندارد و لازم است مطالعات تکمیلی انجام شود.



شکل ۸-۴: مراحل لاروی، شفیرگی و حشره کامل در مورچه نجار (*Camponotus sanctus*)

### کنترل

با توجه به اینکه کلنی‌های ضعیف در مقابل حمله این مورچه‌ها آسیب‌پذیر می‌باشند، قوی نگهداشتن کلنی‌ها و سازماندهی کلنی‌های جفت‌گیری قوی‌تر و پر جمعیت‌تر، از خسارت جدی آنها جلوگیری می‌کند. محل قرار گرفتن کندوها نیز نقشی مهمی در میزان خسارت دارد؛ به طوری که قرار گرفتن کندو نزدیک لانه مورچه‌ها، یا روی لانه مورچه‌ها، باعث دسترسی بیشتر آنها به کندو و خسارت بیشتر و حتی نابودی کندو می‌شود؛ بنابراین دقت در محل استقرار کندوها می‌تواند از شدت خسارت آنها بکاهد. در بعضی مناطق امریکا، برای جلوگیری از خسارت مورچه‌ها به کندوهای جفت‌گیری، آنها را با سیم به ستونی آویزان می‌کنند که از دسترس مورچه‌ها خارج شوند (Walshaw, 1967).

قرار دادن کندوها بر روی پایه‌های مخصوص و قرار گرفتن پایه‌ها در ظرف‌های آغشته به روغن سوخته، یا حتی آب، می‌تواند باعث جلوگیری از ورود مورچه‌ها به کندو شود. در بسیاری از مناطق، از چنین شیوه‌هایی و آغشته کردن پایه‌ها به گریس و روغن سوخته استفاده می‌کنند (Dalton, 1931).

زنبورهای عسل نیز، با ساختن لایه‌ای از بره موم جلو دریچه پرواز، از ورود مورچه‌ها جلوگیری می‌کنند. بنابراین با توجه به توضیحات فوق‌الذکر، زنبورداران با رعایت نکات مدیریتی و ایجاد تمهیداتی می‌توانند از خسارت مورچه‌ها جلوگیری نمایند؛ همچنین پیدا کردن لانه مورچه‌ها در محل زنبورستان‌ها و تخریب آن با سموم حشره‌کش، می‌تواند در کنترل و جلوگیری از خسارت آنها به کلنی‌های زنبورعسل مؤثر باشد.

#### ۸-۱-۳. سیاه شدن سلول ملکه

سیاه شدن شاخون یا سلول ملکه، یک بیماری ویروسی است که همراه با دو بیماری ویروسی دیگر، در زمان ابتدای کلنی به بیماری نوزما و ضعیف شدن کلنی، شرایط برای فعالیت آنها مهیا شده و باعث خسارت می‌شوند؛ این ویروس موجب آلودگی لارو ملکه می‌شود و لاروها پس از آلودگی، به رنگ قهوه‌ای یا سیاه درمی‌آیند؛ نهایتاً این بیماری باعث مرگ لاروها و شفیره‌ها در داخل شاخون می‌گردد (Bailey et al, 1980).

شفیره بیمار در اوایل آلودگی، زرد روشن است و پوست سخت کیسه‌ای، مثل لارو کیسه‌ای دارد. این بیماری در اوایل فصل معمول بوده و در مناطقی که تعدادی ملکه در یک کلنی پرورش داده می‌شود، شیوع دارد؛ اگر ویروس این بیماری توسط زنبوران کارگر خورده شود تکثیر می‌یابد (احمدی و عبادی، ۱۳۶۵).

#### ۸-۱-۴. سپتی‌سمی<sup>۱</sup>

سپتی‌سمی، نوعی بیماری عفونی است که مخصوص زنبوران بالغ است. این بیماری نخستین بار توسط برن‌ساید<sup>۲</sup> در سال ۱۹۲۸ معرفی شد. بیماری سپتی‌سمی بیماری عفونت خون در حشرات است که در زنبورعسل و سایر حشرات، در واقع، عفونت مایع درونی بدن یا همولنف آنها می‌باشد. این بیماری در زمان تلقیح مصنوعی، به علت عدم دقت افراد عامل توسط وسایل آلوده، مثل سرنگ، قلاب نیش و قلاب شکمی می‌تواند به ملکه‌های تحت تلقیح منتقل شود و آنها را از بین

1. *Septicemia*

2. *Burnside*

ببرد. در گذشته، علت مرگ ملکه را به نرهای پیر جفت‌خورده با ملکه نسبت می‌دادند، ولی امروزه مشخص شده که علت مرگ، سموم تولید شده توسط باکتری عامل این بیماری است که در حالت معمولی در بدن ملکه، غیربیماری‌زاست ولی در انتهای دستگاه تناسلی ملکه، بیماری‌زا می‌شود (راجر مورس، ۱۳۷۴).

عامل بیماری، باکتری باسیلوس آپی‌سپتیکوس<sup>۱</sup> است که برای زنده ماندن در بیرون کندو به رطوبت نیاز دارد. در سال ۱۹۵۹، عامل بیماری مجدداً نام‌گذاری شد و به پسودوموناس آپی‌سپتیکا<sup>۲</sup> تغییر نام داد (مورس، ۱۳۷۴)؛ این باکتری از گروه باکتری‌های گرم منفی و بدون اسپور است و امکان بروز بیماری در زمان تنش تغذیه‌ای، مثل تغذیه زیاد و تنش رفتاری و روی هم جمع شدن زنبورها، بیشتر می‌باشد (مورس، ۱۳۷۴).

### علائم بیماری

زنبوران آلوده به این بیماری قدرت پرواز را از دست می‌دهند، کلنی ضعیف می‌شود و زنبوران بیمار، غذا نمی‌خورند و رنگ همولنف آنها از قهوه‌ای روشن به شیری (سفیدگچی)، تغییر پیدا می‌کند؛ مشخص‌ترین علامت بیماری، استحاله سریع عضلات است؛ زنبوران آلوده، به سرعت می‌پوسند، لاشه آنها متلاشی می‌شود، برداشتن زنبور کامل مرده میسر نیست و قطعات بدن جدا می‌شود. مجاری و روزنه‌های تنفسی یکی از راه‌های نفوذ باکتری‌ها است. در زمان بروز این بیماری، زنبورها بی‌قرار بوده و بی‌اشتها می‌شوند. در زمستان، عامل بیماری در بدن زنبورهای بالغ به زندگی ادامه می‌دهد و در بهار سال بعد، با مساعد شدن شرایط، مجدداً بیماری اوج می‌گیرد؛ این بیماری همراه با بیماری نوزما دیده می‌شود و در زمان خسارت کنه واروا نیز، شرایط بروز آن بیشتر فراهم می‌گردد (مورس، ۱۳۷۴).

### کنترل بیماری

به منظور کنترل بیماری در ملکه‌های تحت تلقیح، باید دقت شود که اطاق تلقیح مصنوعی عاری از ملکه و کارگر باشد و در اطاق تلقیح مصنوعی، ضدعفونی وسایل پلاستیکی با هیپوکلریت سدیم و ضدعفونی وسایل فلزی، با الکل ۷۰٪ انجام شود. وجود آنتی‌بیوتیک در سرم فیزیولوژیک مورد استفاده در تلقیح مصنوعی و رعایت موازین و نکات بهداشتی، در جلوگیری از انتقال بیماری به ملکه بسیار مؤثر است.

1. *Bacillus apisepeticus*  
2. *Pseudomonas apisepeticus*

استفاده از استرپتومایسین در کنترل بیماری موفقیت‌آمیز بوده ولی به دلیل مقاومت باکتری، اثر آن محدود شده است. مقاومت به این بیماری در نژادهای مختلف زنبورعسل دیده نشده است ولی حساسیت کلنی‌ها به بیماری، متفاوت است؛ به طوری که بعضی کلنی‌ها، حساسیت خیلی بالاتری را نشان می‌دهند (Wille, 1961).

استفاده از اسیدسیتریک در گذشته مرسوم بوده است. استفاده از سولفونامیدها نیز برای کنترل این بیماری عفونی رایج می‌باشد (Heinze, 1968).

#### ۸-۱-۵. ملانوزیس

ملانوزیس، بیماری دستگاه تناسلی زنبورعسل است که باعث نازایی ملکه می‌شود و عامل آن می‌تواند در زمان انجام تلقیح مصنوعی، به ملکه‌های در حال تلقیح منتقل شود؛ لذا دقت و پیشگیری‌های لازم برای جلوگیری از انتقال این بیماری باید در زمان تلقیح مصنوعی مدنظر محققین و عاملین باشد (مورس، ۱۳۷۴).

عامل این بیماری، قارچ ملانوزلامورس آپیس<sup>۱</sup> است که از طریق غذا و خوردن به زنبوران عسل، آلودگی ایجاد نمی‌شود ولی اگر از طریق دریچه مهلبلی و غلاف نیش به دستگاه تناسلی راه یابد، عوارض بیماری زایی آن در لوله‌های تخم‌بر و تخمدان‌ها، به صورت سیاه شدن این قسمت‌ها بروز می‌کند؛ برجستگی‌های سیاه رنگ در دستگاه تناسلی به لوله‌های تخم‌بر فشار می‌آورد و تخم‌ریزی ملکه را متوقف می‌کند و باعث عقیم شدن و نازایی ملکه می‌شود؛ معمولاً در چنین شرایطی، کارگران کلنی ملکه را تعویض می‌نمایند. گاهی نیز در ملکه‌های آلوده، وجود ماده قهوه‌ای رنگی، که اطراف نیش را احاطه و محوطه انتهایی دستگاه تناسلی را مسدود نموده، موجب عقیمی و نازایی ملکه می‌شود و تخم‌ریزی را متوقف می‌نماید. (Fyg, 1964).

گاهی نیز عامل این بیماری، از طریق ترشحات غدد زیرحلقی به ملکه منتقل می‌شود که احتمال آلوده بودن گرده‌های مورد استفاده در این وضعیت، بیشتر می‌باشد (مورس، ۱۳۷۴).

#### ۸-۱-۶. بیماری فلج زنبوران بالغ (فلج مزمن<sup>۲</sup>)

این بیماری، از بیماری‌های ویروسی زنبورعسل است که علائم آن به دو شکل زیر در زنبوران بالغ دیده می‌شود:

1. *Melanosella mors apis*
2. *Chronic bee paralysis*



۱- زنبورها به دلیل حالت غیرعادی بال‌ها، قادر به پرواز نبوده و روی زمین می‌خزند که این علائم با بیماری نوزما، مسمومیت حاصل از سمپاشی گیاهان و عوارض کنه تراشه‌ای مشابه است؛ ولی وجه تمایز این زنبورها این است که دارای شکمی متورم و بال‌هایی نامنظم هستند؛ از عوارض دیگر این بیماری، حالت اسهال زنبوران کارگر است و زنبورها پس از چند روز می‌میرند (Bailey, 1964).

۲- چون زنبوران آلوده قادر به پرواز نیستند، توسط زنبوران دیگر مورد حمله قرار می‌گیرند، موهای خود را از دست داده و بدن آنها بی‌مو، تیره‌رنگ، کوچک و سیاه و براق و چرب به نظر می‌رسد؛ لذا به دلیل جلوگیری از ورود آنها، دزدانه وارد کلنی می‌شوند که به آنها، دزدان سیاه یا سیاهان کوچک می‌گویند (Bailey, 1964).

علاوه بر کارگران زنبور عسل، ملکه نیز به این بیماری مبتلا می‌شود. علائم این بیماری در ملکه بدین صورت است که ملکه پس از جفت‌گیری، یا تلقیح، شروع به تخم‌ریزی نمی‌کند و پس از چند روز ناپدید می‌شود؛ و از علائم دیگر این بیماری، پف کردن ملکه از مایع شفاف داخلی بدن است که پس از چند روز، در کف کندو می‌میرد (Bailey, 1964).

### کنترل

به‌طور کلی برای درمان بیماری ویروسی، راهی وجود ندارد و در مواردی که بیماری شدت داشته باشد، می‌توان با تعویض ملکه و استقرار ملکه سالم و قوی، بیماری را کنترل کرد. البته ملکه جدید باید از محل دیگری تأمین شود.

### ۸-۲. بیماری‌های غیر میکروبی و ژنتیکی

#### ۸-۲-۱. عدم یکنواختی<sup>۱</sup> سطح پرورش نوزادان

یکی از علائم ملکه خوب و مطلوب، یکنواختی سطح تخم‌ریزی در روی شان است و وجود سلول‌های خالی در بین سفیره‌ها، از علائم نامطلوب بودن ملکه می‌باشد. دلایل عدم یکنواختی سطح تخم‌ریزی ملکه عبارتند از:

الف) مهم‌ترین عامل عدم یکنواختی سطح تخم‌ریزی، مربوط به نرهای دیپلوئید است. با توجه به اینکه تعیین جنسیت در زنبور عسل، توسط آلل‌های جنسی مختلف در یک جایگاه ژنی صورت می‌گیرد، در زمانی که آلل‌های مشابه در جایگاه مذکور کنار هم قرار می‌گیرند، نر دیپلوئید به وجود



می‌آید که معمولاً چند ساعت پس از تفریخ تخم، توسط کارگران خورده می‌شود؛ دلیل خورده شدن این لاروها، فرومون است و وجود یا عدم وجود این فرومون در نر دیپلوئید، باعث حذف آن می‌شود (Woyke, 1977). در اثر آمیزش‌های خویشاوندی زیاد و بالا رفتن هموزیگوتی آلل‌های جنسی در یک جمعیت و در ملکه، تعداد این سلول‌های خالی بیشتر می‌شود که گاهی هموزیگوتی، به بالاتر از ۵۰٪ می‌رسد؛ این یک مشکل ژنتیکی است و باید با دقت در انتخاب کلنی‌های پدري و مادري و جلوگیری از آمیزش‌های خویشاوندی، درصد هموزیگوتی آلل‌های جنسی و سلول‌های خالی را پائین آورده و راندمان کلنی را بالا ببریم؛

ب) گاهی تخم ملکه‌های جوان بارور نیست، قابلیت رشد و نمو ندارد و مراحل جنینی آنها طی نمی‌شود؛ معمولاً کارگران، این نوع تخم‌ها را بیرون می‌ریزند یا تخم خشک می‌شود. این عارضه را در زنبوران، ملکه تخم عقیمی<sup>۱</sup> می‌نامند (Fyg, 1959). این حالت به ندرت اتفاق می‌افتد ولی باعث کاهش جمعیت می‌شود که دلیل آن ژنتیکی است؛

ج) گاهی ملکه از نظر رفتاری، ذاتاً به صورت یکنواخت تخم‌ریزی نمی‌کند و تخم‌ریزی آن پراکنده است؛

د) گاهی بعضی کارگران اقدام به همخواری می‌کنند و لاروهای داخل سلول‌ها را می‌خورند و لذا در شان‌ها، شفیره‌ها یکدست و یکنواخت نخواهند بود. معمولاً چنین حالتی در مواقعی رخ می‌دهد که گرده در محیط کم باشد؛

ه) پرورش نرها در داخل سلول‌های کارگر که وقتی ملکه تخم‌های نر را داخل سلول‌های کارگر می‌گذارد، لاروهای حاصل قدرت ادامه حیات ندارند و می‌میرند و در نتیجه، سطح تخم‌ریزی شده از یکنواختی برخوردار نخواهد بود.

و) عدم نظافت سلول‌ها توسط کارگران، هنگامی که لاروها به دلایلی می‌میرند، باعث عدم یکنواختی می‌شود.

#### ۸-۲-۲. عارضه کارگر تخم‌گذار<sup>۲</sup>

هنگامی که کندو یا کندوچه مدتی بی‌ملکه می‌ماند، در بعضی از کارگران، تخمدان‌ها فعال شده و کارگران شروع به تخم‌ریزی بسیار نامنظم در دیواره‌ها می‌کنند. کارگر تخم‌گذار، در هر سلول چند تخم می‌ریزد که این عمل به دلیل عدم آشنایی آنها با تخم‌ریزی است؛ این تخم‌ها، منجر به تولید زنبور عسل نر می‌شود؛ چون کارگران، جفت‌گیری نداشته و اسپرم هم ندارند، تخمک آنها نیز تولید

1. Sterile eggs

2. Laying Workers

لارو هاپلوئید و زنبور نر می‌کند که در صورت ادامه چنین حالتی، کلنی از بین می‌رود. معمولاً تخم‌های زنبوران کارگر تخم‌گذار، لاغرتر و کوچک‌تر از تخم‌های معمولی است.

### معالجه

چون کارگران تخم‌گذار، ملکه بارور جدید را نمی‌پذیرند، باید کارگران را در ۴ کیلومتری کندوها بیرون ریخت و از شان‌ها استفاده کرد. در روش دیگر، که تا حدی موفقیت‌آمیز است، زنبوران کلنی نرزا را در کندوهای زنبور پاکتی ریخته و دو شبانه‌روز در محل تاریک خنک و بی‌غذا قرار می‌دهیم؛ پس از آن، را به کندوهای حاوی چند عدد شان سفیره و نوزاد ریخته و به آنها ملکه بارور می‌دهیم و چون تخمدان‌های کارگران در این حالت تحلیل رفته، ملکه بارور را می‌پذیرند؛ سپس آنها را از محل تاریک به مزرعه می‌آوریم (Orosi Pal, 1929).

### ۸-۲-۳. غش کردن ملکه<sup>۱</sup>

گاهی وقتی ملکه را از روی قاب می‌گیرند، حالت شوک، یا غش کردن، به او دست می‌دهد و چند دقیقه بیهوش بر روی شان می‌افتد، ولی معمولاً پس از مدتی به هوش آمده و حالت طبیعی خود را باز می‌یابد. این حالت به دلیل تشنجات عصبی رخ می‌دهد که گاهی باعث مرگ ملکه هم می‌شود (مورس، ۱۳۷۴).

### پرسش‌های فصل هشتم

- ۱- مهم‌ترین بیماری‌های غیر میکروبی ملکه زنبور عسل را نام ببرید.
- ۲- بیماری‌های میکروبی ملکه زنبور عسل را نام ببرید.
- ۳- آفات مهم ملکه زنبور عسل را نام ببرید.
- ۴- خسارت شپش زنبور عسل را توضیح دهید.
- ۵- علائم بیماری سپاه شدن سلول ملکه را توضیح دهید.
- ۶- علائم بیماری سپتی‌سمی را در ملکه زنبور عسل نام ببرید.
- ۷- راه‌های پیشگیری از بیماری سپتی‌سمی ملکه را بنویسید.
- ۸- علائم بیماری فلج زنبوران بالغ را در ملکه زنبور عسل نام ببرید.
- ۹- عدم یکنواختی سطح پرورش نوزادان به چه دلایلی اتفاق می‌افتد.
- ۱۰- عارضه کارگر تخم‌گذار در چه مواقعی اتفاق می‌افتد؟ و روش‌های کنترل آن کدام است؟

## فهرست منابع

۱. احمدی، علی اصغر و رحیم عبادی. ۱۳۶۵. بیماری‌ها، آفات و شکارچی‌های زنبورعسل. چاپ اول. چاپخانه راه نجات اصفهان. ۲۳۲ صفحه.
۲. باقری‌زنوز، ابراهیم، ۱۳۷۲، اصول مرفولوژی و فیزیولوژی حشرات. چاپ اول. تهران: دانشگاه تهران. ۴۵۰ صفحه
۳. بینفلد، ک. ۱۳۷۷. اصلاح نژاد زنبورعسل (جزوه درسی). تهران: وزارت جهاد سازندگی.
۴. جواهری، سیدداوود. ۱۳۶۹. تلقیح مصنوعی زنبورعسل. مؤسسه تحقیقات دامپروری. نشریه فنی شماره ۴۷. ۶۱ صفحه
۵. طهماسبی، غلامحسین. ۱۳۸۶. پرورش ملکه. کرج: دفتر تکنولوژی آموزشی، نشر آموزش کشاورزی، چاپ اول. ۱۷۲ صفحه
۶. طهماسبی، غلامحسین، هلن عالی‌پناه، رسول بحرینی و سیدداوود جواهری. ۱۳۸۲. معرفی مورچه‌های نجار *Camponotus SPP (Hym. Formicidae)* به‌عنوان آفت کلنی‌های زنبورعسل ایران. پژوهش و سازندگی، ۵۸: ۹۵-۱۰۱
۷. طهماسبی، غلامحسین و هلن عالی‌پناه. ۱۳۸۲. گزارش گونه جدید مورچه *Lepisiota semenovi* Ruzsky در کلنی‌های زنبورعسل ایران. نامه انجمن علمی حشره‌شناسی ایران. ۲۲(۱): ۸۳-۸۴
۸. عبادی، رحیم و علی اصغر احمدی. ۱۳۸۷. پرورش زنبورعسل. چاپ چهارم. اصفهان: انتشارات ارکان دانش. ۵۷۲ صفحه
۹. لیدلا، هاری و اکرت جی‌وی. ۱۳۶۵. پرورش ملکه. ترجمه حسین عراقی. چاپ اول. اصفهان: تهران: امیرکبیر ۲۲۱ صفحه.
۱۰. مورس، راجر. ۱۳۷۴. زنبورعسل، آفات، شکارچیان و بیماری‌های آن. ترجمه غلامحسین وثوقی و صدیقه نبیان. چاپ اول. تهران: مرکز نشر دانشگاهی. ۴۳۲ صفحه
11. Bailey, L. 1965. Paralysis of the honey bee, *Apis mellifera* Linnaeus. *Journal of Invertebrate Pathology* 7: 132-140
12. Bailey, b., B.V. Ball and J.N. Perry. 1980. *Ann. Appl. Biology*. 97: 109-118
13. Burnside, C. E. 1928. A septicemic condition of adult bees. *Journal of Economic Entomology*. 21: 379-386
14. Cantwell, G. E. 1974. Honey bee diseases, parasites, and pests. In *Insect diseases*, vol. 2. G. E. Cantwell, editor. New York: Marcel Dekker.
15. Currie, R.W. 1987. The biology and behaviour of drone. *Bee world*, 68(3): 129-143
16. Cremak K. 2004. Evaluation of artificially inseminated and naturally mated bee queens in Zurbri, Czech Republic (in Czech), *Veelarovstvi* 57: 148-149

17. Cobey, S. 1983a. The development of Instrumental Insemination. American bee Journal. 123(2): 108-111.
18. Cobey, S. 1983b. Instrumental Insemination: current developments and its application today. American bee Journal. 123 (3): 182-186.
19. Cobey, S. 1983c. Drone rearing for Instrumental Insemination. American bee Journal. 123 (4): 284-289.
20. Cobey, S. 1983d. Instrumental Insemination: The possibility of semen storage. American bee Journal. 123 (5): 389-395
21. Cobey, S. 2007. Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honeybee queens and factors affecting their performance. Apidologie. 38: 390-410
22. Currie, R. W. 1987. The biology and behaviour of drones. Bee world, 68(3): 129-143.
23. Dadant and Sons (editors). 1992. The hive and the honey bee. 10<sup>th</sup> ed. Dadant and sons Hamilton, 1324 pp.
24. Dalton, J. 1931. How to control ants. American Bee Journal 71: 159
25. Ebadi, R. and Gary, N.E. 1980. Factors effecting the survival, migration of spermatozoa and onset of oviposition in instrumentally inseminated queen honey bees, Journal of Apicultural Research. 19: 196-204
26. Free, J. B. 1987. Pheromones of social bees. New York Chapman and hall. 218 pp.
27. Fyg, W. 1959. Normal and abnormal development in the honey bee. Bee world 40: 57-66, 85-96
28. Fyg, W. 1964. Anomalies and diseases of the queen honey bee. Annual Review of Entomology 9: 207-224
29. Harbo, J. H. 1977. Survival of honey bee spermatozoa in liquid Nitrogen. Annual Entomological Society of America (70): 257-258
30. Hassanein, M. H., and A. L. Abd El-Salaam. 1962. Biological studies on the bee louse, Braula Coeca Nitzsch. Bulletin de la Société Entomologique d'Egypte 46: 87-95
31. Heinze-gerhard, W. 1968. Mit Zitronensaure gegen die septikämie [Citric acid for septicemia]. Nordwestdeutsche Imkerzeitung 20: 123-124
32. Holme. E. 1986. Artificial insemination of the honey bee. Denmark. 67.p.
33. Jasinski, Z. 1987. Injuries of queens caged in the queenless honey bee colonies, Proc. XXXIst International Apimondia Congress, Wasaw. 126
34. Kaftanoglu, O., and Peng, Y. S. 1980. A washing technique for collection of honeybee semen. Journal of Apicultural Research. 19: 205-211
35. Ladilaw. H. 1989. Instrumental insemination of honey bee queen. Dadnat and sons Hamilton. 144 pp.
36. Laidlaw. B. H. 1979. Contemporary queen rearing. Dadant and Sons Inc. Hamilton, Ill.



37. Mackensen O., Roberts W.C. 1948. A Manual for the artificial insemination of queen bees: US Bur. Entomology. Plant Quar. ET-250 p.
38. Mackensen O. 1951. Self fertilization in the honey bee. Glean. Bee Cult. 79: 273-275.
39. Mackensen O. and Ruttner F. 1976. The insemination procedure. In "The Instrumental Insemination of the Queen Bee" (F. Ruttner, ed.), 69-86. Apimondia, Bucharest, Rumania.
40. Moritz, R.F.A. 1984. The effect of different diluents on insemination success in the honeybee using mixed semen. Journal of Apicultural Research. 23(2): 164-167.
41. Oreosi-Pal, Z. 1929. [On laying workers]. From an abstract in Bee World 10: 134 p.
42. Otis, W.G. 2005. The biological basis for breeding the honey bee.
43. Phillips, E. 1925. The bee-louse *Braula Coeca* in the United States. United States Department of Agriculture circular 334.
44. Rhodes J.W., Somerville D.C., Harde S. 2004. Queen honey bee introduction and early survival-effects of queen age at introduction. Apidologie. 35: 383-388.
45. Rinderer, T. 1986. Bee genetic and breeding. Academic press. 425 p.
46. Ruttner. F. 1988. Biogeography and Taxonomy of the honey bee. Springer Verlag. 284 p.
47. Ruttner., F., Koeniger G. 1971. The filling of the spermatheca of the honey bee queens: active migration or passive transport of the spermatozoa? Z. Vergl. Physiol. 72: 411-422.
48. Ruttner. F. 1988. Breeding technique and selection for breeding of the honey bee. G Beard & Sons. 151 p.
49. Smith R. K., Spivak M., Taylor O.R. 1991. Chemical differences between naturally mated and instrumentally inseminated queens, Proc, American bee Journal, Conf. 13: 781.
50. Smith R. K. 1993. Maturation of tergal gland alkenes profiles in European honey bee queens, *Apis mellifera* L., J. Chem. Ecol. 19, 133-142
51. Snodgrass. R.E. 1984. Anatomy of the honey bee. 4<sup>th</sup> ed. Cornel University. 334 p.
52. Vesely V. 1970. Retention of semen in the lateral oviducts in artificially inseminated honey bee queens, Acta Entomology, Bohemolov. 67: 83-92
53. Walshaw, E. R. 1967. The raiders. American Bee Journal 107: 14-15.
54. Wille, H and L. Pinter. 1961. Untersuchungen ueber bakterielle Septikaemie der erwachsenen Honigbiene in der Schweiz [Investigation on bacterial septicemia of the adult honey bee in Switzerland]. Bulletin Apicole. 4: 141-180
55. Williams, J. L., and Harbo, J. R. 1982. Bioassay for diluents of honey bee semen. Ann. Entomol. Soc. Am. 75: 457-459
56. Woyke J. 1988. Problems with queen banks. American bee Journal. 128: 276-278



57. Woyke J. 1979. Effects of access of worker honeybees to the queen on the results of instrumental insemination. *Journal of Apicultural Research*. 19(2): 136-143
58. Woyke J. 1977. Cannibalism and brood rearing efficiency in the honeybee. *J. Api. Res.* 16(1): 84-94
59. Woyke J. and Z. Jasinski. 1973. Influence of external conditions of the number of spermatozoa of instrumentally inseminated queens. *Journal of Apicultural Research*. 12: 145-149
60. Woyke J., Ruttner F. 1976. Results, in: Ruttner F. (ed.), *The instrumental insemination of queen honey bee*, Apimondia, Bucharest. 87-92

گروه علوم دامی

# **Instrumental Insemination of Honeybee Queen**

By:  
Gholam hosein Tahmasbi

ISBN: 978-964-8748-68-0



9 789648 748680