



## "مقاله پژوهشی"

# بررسی اثر استفاده از اسید آلی، پری بیوتیک و پروبیوتیک به عنوان مکمل در شربت تحریکی بر عملکرد کلنی‌های زنبور عسل ایرانی

محمد طاهری<sup>۱</sup> و منصور رضایی<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی دکترای تغذیه دام، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: Mohammad.taheri1989@gmail.com)

۲- استاد دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۲۴

صفحه: ۱۷۲ تا ۱۷۸

### چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** این مطالعه به منظور بررسی اثرات تغذیه‌ای اسید آلی، پری بیوتیک، پروبیوتیک و ترکیب (پری بیوتیک+پروبیوتیک) بر افزایش جمعیت زنبور بالغ، پرورش نوزاد، موم بافی، ذخیره گرده و افزایش وزن کندو پیش از فصل برداشت عسل در زنبور عسل ایرانی انجام شد.  
**مواد و روش‌ها:** این آزمایش با استفاده از ۲۵ کلنی زنبور عسل نژاد ایرانی با ملکه خاوه‌ری همسن و دارای شرایط یکسان در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار آزمایشی شامل، تیمار شاهد (شربت شکر ۱:۱)، اسید آلی (۸ سی‌سی در ۱ لیتر شربت ۱:۱)، پری بیوتیک (۱۰ گرم در ۱ لیتر شربت ۱:۱)، پروبیوتیک (۵ گرم در ۱ لیتر شربت ۱:۱) و ترکیب پری بیوتیک + پروبیوتیک (۱۰ گرم + ۵ گرم در ۱ لیتر شربت ۱:۱) و ۵ تکرار به مدت ۳۰ روز پیش از فصل برداشت عسل انجام شد.

**یافته‌ها:** جمعیت زنبور بالغ در کلنی‌هایی که اسید آلی و ترکیب پری بیوتیک + پروبیوتیک دریافت کردند به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد بود ( $p < 0.05$ ). پرورش نوزاد و موم بافی در کلنی‌هایی که اسید آلی، پری بیوتیک، پروبیوتیک و ترکیب پری بیوتیک + پروبیوتیک دریافت کردند، نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). اثر تیمارهای آزمایشی بر ذخیره گرده معنی دار نبود ( $p > 0.05$ ). افزایش وزن کندو در تمام تیمارهای آزمایشی به جز کلنی‌هایی که پروبیوتیک دریافت کردند، نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ( $p < 0.05$ ).  
**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که استفاده از اسید آلی، پری بیوتیک، پروبیوتیک و ترکیب (پری بیوتیک+پروبیوتیک) در تغذیه تحریکی زنبور عسل پیش از فصل برداشت عسل می‌تواند سبب بهبود عملکرد کلنی‌های زنبور عسل ایرانی شود.

**واژه‌های کلیدی:** اسید آلی، پروبیوتیک، پری بیوتیک، زنبور عسل، عملکرد کلنی

### مقدمه

با توجه به اهمیت زنبورهای عسل در طبیعت (خدمت به گرده افشانی) و صنعت زنبورداری به عنوان تولیدکننده غذای سالم در سراسر جهان (۳۰)، ممنوعیت استفاده از آنتی بیوتیک‌ها توسط اتحادیه اروپا به عنوان عامل درمانی و همچنین دانش روزافزون در مورد ترکیب و عملکرد میکروارگانیسم‌های روده زنبور عسل و ارتباط بین تعادل میان آن‌ها و وضعیت سلامتی روده، ما را به سوی یافتن جایگزین‌های طبیعی برای بهبود سلامت زنبور عسل و بهره‌وری بیشتر از کندو تشویق می‌نماید (۲). امروزه به طور گسترده از پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی‌های در تغذیه دام و به خصوص طیور استفاده می‌شود (۳۱،۳۲،۳۳). تولید عسل بیشتر با رشد جمعیت زنبور عسل و سلامت آن‌ها ارتباط نزدیکی دارد. در عین حال برای نگهداری کلنی زنبور عسل در سطح تولید بالا نیاز به وجود مقدار کافی شهد و گرده در کل فصل فعالیت می‌باشد. در نتیجه نیاز به تغذیه تکمیلی کلنی در دوره‌هایی است که مواد محدودی در طبیعت در دسترس است، یا اینکه شرایط محیطی مساعد نبوده و زنبورها قادر به بهره‌برداری از شهد و گرده موجود نیستند (۲۱).

اسیدهای آلی ترکیباتی با فعالیت‌های ضد میکروبی بوده و به عنوان جایگزین بالقوه برای آنتی بیوتیک‌ها پیشنهاد می‌شوند. این اسیدها می‌توانند به دیواره سلولی باکتریایی مضر نفوذ کرده و باعث تخریب عملکرد طبیعی برخی از آن‌ها را (سالمونلا، اشرشیاکلی، کلستری‌دیا، لیستریا) و برخی از انواع کلی فرم را شوند (۳۵). محققان گزارش کردند که باکتری‌های اسید لاکتیکی به دلیل خواص متابولیکی و نقش آن‌ها در

سیستم ایمنی بدن، با ایجاد سدی در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، برای سلامتی حیوانات ضروری‌اند (۲۸،۱۳). تغذیه کلنی‌های زنبور عسل با شربت شکر حاوی مواد اسیدی‌کننده با هدف کاهش pH روده با عواقب مطلوب برای مهار فلور میکروبی بیماری‌زا و بهبود سلامت کلنی انجام می‌شود (۲۵). باکتری‌های اسیدلاکتیکی، لاکتوز و سایر قندها را تخمیر کرده و اسیدهای لاکتیک و استیک را به عنوان محصولات نهایی تولید می‌کنند، در نتیجه دستگاه گوارش را اسیدی کرده و از رشد برخی از باکتری‌های مضر جلوگیری می‌کنند (۱۶،۱۸،۱۱،۷). علاوه بر این، مواد اسیدی تولید شده به عنوان پری بیوتیک عمل نموده، و با ایجاد یک محیط اسیدی، باکتری‌های پروبیوتیک را تشویق به رشد کرده و محیط مساعدی برای آن‌ها فراهم می‌کنند (۱۷،۱۰). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که می‌توانند تأثیر مفیدی بر سلامت دستگاه گوارش در پستانداران و حشرات داشته باشند. آن‌ها به ایجاد ثبات در تعادل میکروفلور موضعی کمک کرده و در عین حال سدی ایمنولوژیکی در روده ایجاد می‌کنند (۱۷،۱۰). در نتیجه پس از رسیدن باکتری‌های پروبیوتیک به روده، در اثر تعامل آن‌ها با سلول‌های روده پاسخ ایمنی ایجاد می‌گردد (۲۱). نتایج مطالعات گذشته نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها در تغذیه زنبور عسل اثرات مثبتی بر افزایش جمعیت، کاهش تلفات و افزایش تولید عسل و به طور کلی سلامت آن‌ها بر جای می‌گذارد (۶،۲). علاوه بر تأثیر مطلوب بر سلامت کلنی‌های زنبور عسل که توسط محصولات پری بیوتیکی و پروبیوتیکی ایجاد می‌شود، مشخص شده که آن‌ها باعث تحریک باروری

شکر مورد تغذیه کلنی‌ها قرار گرفتند. برای تهیه شربت شکر، آب مقطر و شکر با نسبت مساوی ۱:۱ با همدیگر ترکیب شدند. برای آماده‌سازی شربت شکر حاوی تیمارهای آزمایشی، مقادیر مورد نیاز تیمارها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و به شربت شکر اضافه شدند. برای تغذیه کلنی‌ها شربت شکر حاوی تیمارهای آزمایشی و شربت شکر خالی (شاهد) به‌طور روزانه با مقدار مشخص در زنبورستان تهیه گردید و بین کلنی‌ها پخش شد. درون هر کندو یک ظرف شربت‌خوری وجود داشت که شربت به صورت دستی در داخل آن ریخته می‌شد و در اختیار کلنی‌ها قرار می‌گرفت. مقدار شربت برای تمام کلنی‌های آزمایش یکسان بود. در پایان آزمایش (۳۰ روز پس از شروع تغذیه) مقدار جمعیت زنبور بالغ، پرورش نوزاد، موم‌بافی، ذخیره‌گرده و مقدار افزایش وزن کندو اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری میزان جمعیت زنبورهای بالغ به صورت قابی انجام گرفت، یعنی بر بودن دو طرف قاب پوشیده از جمعیت یک قاب کامل در نظر گرفته شد و کمتر از آن کسری از عدد یک تلقی گردید. برای صفات پرورش نوزاد، موم‌بافی و گرده گل از یک کادر تقسیم شده به مربع‌ها ۵ در ۵ سانتی‌متر مربع (در داخل هر مربع صد سلولشان به مساحت ۲۵ سانتی‌متر مربع) استفاده شد. بدین صورت که کادر تقسیم‌شده را روی قاب‌ها قرار داده و با توجه به پر بودن کادرها از نوزادهای موجود در حجره‌ها و میزان گرده‌گل جمع‌آوری شده توسط زنبورعسل، تعداد کادرها شمارش شدند و سپس مجموع آن‌ها محاسبه گردید. مقدار برگه موم عاج‌دار که توسط زنبور بافته شد، مبنای میزان موم‌بافی زنبوران قرار داده شد، که به وسیله کادر مزبور اندازه‌گیری و محاسبه گردید. مقدار افزایش وزن خالص کندو، از اختلاف وزن ابتدا و انتهای کلنی‌ها، محاسبه شد. همچنین وزن شان‌ها و موم‌های اضافه شده در طول آزمایش محاسبه و از وزن نهایی کسر گردید. داده‌های جمع‌آوری شده در نرم‌افزار Excell ثبت و مرتب شدند. در نتیجه این داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی در نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۳۴). مقایسه میانگین‌ها در بین تیمارها با آزمون آماری توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت.

ملکه نیز می‌شوند (۲۲، ۲۳، ۲۷). مصرف همزمان محصولات پری‌بیوتیک و پروبیوتیک اثر هم‌افزایی (سینرژیسم) داشته و منجر به کاهش جمعیت باکتری‌های مضر و افزایش جمعیت باکتری‌های مفید در روده می‌گردد (۲۱). این مطالعه با هدف ارزیابی اثر استفاده از اسیدآلی، پری‌بیوتیک، پروبیوتیک و ترکیب پری‌بیوتیک + پروبیوتیک به عنوان مکمل در شربت تحریکی بر عملکرد کلنی‌های زنبورعسل کارگر ایرانی طراحی و انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه به‌منظور بررسی اثر تغذیه‌ای اسیدآلی<sup>۱</sup> (اسید سیتریک، اسیدفرمیک و اسیدفسفریک)، پری‌بیوتیک<sup>۲</sup> (مخمر ساکرومایسس سروزیه)، پروبیوتیک<sup>۳</sup> (پدیوکوکوس اسید لاکتیک) و ترکیب پری‌بیوتیک و پروبیوتیک بر عملکرد کلنی زنبورهای عسل کارگر ایرانی<sup>۴</sup> طراحی شد. به‌منظور نیل به این هدف، آزمایشی در مرحله جنگل به مدت ۳۰ روز (از ۱۵ خردادماه ۱۴۰۰ تا ۱۵ تیرماه ۱۴۰۰) در منطقه جنگلی درازنو شهرستان کردکوی واقع در استان گلستان انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۵ تکرار برای هر تیمار آزمایشی انجام شد. کلنی‌های زنبورعسل در شروع آزمایش از نظر جمعیت زنبورهای بالغ و نوزاد، میزان تخم‌ریزی و ذخیره‌گرده و عسل یکسان‌سازی شدند. کلنی‌های مزبور در اوایل بهار تهیه شدند و جهت اجتناب از اثر تفاوت‌های ژنتیکی بین کلنی‌ها، از ملکه‌های خواهری همسن و یکسان استفاده شد. در این تحقیق، ۲۵ کلنی زنبورعسل در نقاط مختلف زنبورستان به صورت تصادفی پخش شدند و تیمارهای آزمایشی نیز به صورت تصادفی به آن‌ها تخصیص یافتند. همچنین برای شناسایی کندوهای آزمایشی، روی کندوها اسم و تیمارهای آزمایشی ثبت شده بود. بازدید و بررسی کلنی‌ها در زنبورستان به صورت روزانه انجام می‌گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل پری‌بیوتیک، پروبیوتیک، اسیدآلی، ترکیب (پری‌بیوتیک+پروبیوتیک) و یک تیمار شاهد (شربت شکر) بودند. تیمارهای آزمایشی طبق توصیه شرکت‌های سازنده آن‌ها (جدول ۱)، به همراه شربت

جدول ۱- تیمارهای آزمایشی تغذیه شده در کلنی‌های زنبور عسل

Table 1. Experimental treatments fed in bee colonies

تیمار	سطح مصرف
شاهد	یک لیتر شربت در روز
اسیدآلی	۸ سی‌سی در یک لیتر شربت در روز
پری‌بیوتیک	۱۰ گرم در یک لیتر شربت در روز
پروبیوتیک	۵ گرم در یک لیتر شربت در روز
پری‌بیوتیک+پروبیوتیک	۱۰ گرم + ۵ گرم در یک لیتر شربت در روز

طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ )، اما تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و کلنی‌های تغذیه شده با پری‌بیوتیک و پروبیوتیک مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). بیشترین مقدار جمعیت زنبور بالغ ۳۵۸۰/۰۲ سانتی‌متر مربع در زنبورهای تغذیه‌شده با ترکیب پری‌بیوتیک + پروبیوتیک مشاهده گردید. تفاوت معنی‌داری برای جمعیت زنبور بالغ بین کلنی‌های تغذیه‌شده با اسیدآلی، پری‌بیوتیک، پروبیوتیک و ترکیب (پری‌بیوتیک + پروبیوتیک) مشاهده نشد. کمترین

## نتایج و بحث

نتایج تغذیه تحریکی اسیدآلی، پری‌بیوتیک، پروبیوتیک و ترکیب (پری‌بیوتیک + پروبیوتیک) بر عملکرد کلنی‌های زنبورعسل کارگر ایرانی در روز ۳۰ پس از شروع تغذیه (مرحله برداشت عسل) در جدول ۲ ارائه شده است.

## جمعیت زنبور بالغ

نتایج آزمایش نشان داد که مقدار جمعیت زنبور بالغ کلنی‌های تغذیه‌شده با اسیدآلی و ترکیب (پری‌بیوتیک + پروبیوتیک) به

بیشترین میزان پرورش نوزاد ۶۶۵۱/۴۲ سانتی متر مربع در زنبورهای تغذیه شده با ترکیب (پری بیوتیک + پروبیوتیک) مشاهده گردید. تفاوت معنی داری برای میزان موم بافی بین کلنی های تغذیه شده با اسید آلی در مقایسه با کلنی های تغذیه شده با پری بیوتیک و ترکیب (پری بیوتیک + پروبیوتیک)، و کلنی های دریافت کننده پری بیوتیک در مقایسه با پروبیوتیک مشاهده نشد. کمترین میزان موم بافی ۴۰۷۶/۹۶ سانتی متر مربع مربوط به گروه شاهد بود.

#### ذخیره گرده

اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان ذخیره گرده معنی دار نبود. تفاوت معنی داری بین گروه شاهد با سایر تیمارها مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). بیشترین مقدار ۴۳/۶۳ سانتی متر مربع ذخیره گرده مربوط به کلنی های تغذیه شده (پری بیوتیک + پروبیوتیک) و کمترین مقدار ۴۱/۸۱ سانتی متر مربع مربوط به گروه شاهد بود.

#### افزایش وزن کندو

نتایج آزمایش نشان داد که افزایش وزن کندو کلنی ها تغذیه شده با اسید آلی، پری بیوتیک و ترکیب (پری بیوتیک + پروبیوتیک) به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین مقدار افزایش وزن کندو ۷/۶۹ کیلوگرم مربوط به زنبورهای تغذیه شده با ترکیب (پری بیوتیک + پروبیوتیک) بود. تفاوت معنی داری برای مقدار افزایش وزن کندو بین کلنی های تغذیه شده با اسید آلی در مقایسه با کلنی های تغذیه شده با پری بیوتیک، پروبیوتیک و ترکیب (پری بیوتیک + پروبیوتیک) مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). علاوه بر این تفاوت معنی داری بین کلنی های تغذیه شده با پروبیوتیک و گروه شاهد نیز مشاهده نشد. کمترین مقدار افزایش وزن کندو ۶/۳۹ کیلوگرم مربوط به گروه شاهد بود.

مقدار جمعیت زنبور بالغ ۲۹۱۰/۳۳ سانتی متر مربع مربوط به گروه شاهد بود.

#### پرورش نوزاد

اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان پرورش نوزاد معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). به طوری که میزان پرورش نوزاد کلنی های تغذیه شده با اسید آلی، پری بیوتیک، پروبیوتیک و ترکیب (پری بیوتیک + پروبیوتیک) به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $p < 0.05$ ). علاوه بر این میزان پرورش نوزاد کلنی هایی که ترکیب (پری بیوتیک + پروبیوتیک) را دریافت کردند، به طور معنی داری بیشتر از کلنی های تغذیه شده با پروبیوتیک بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان پرورش نوزاد ۴۴۶۶/۵۰ سانتی متر مربع در زنبورهای تغذیه شده با ترکیب (پری بیوتیک + پروبیوتیک) مشاهده گردید. تفاوت معنی داری برای میزان پرورش نوزاد بین کلنی های تغذیه شده با اسید آلی و پری بیوتیک در مقایسه با کلنی های تغذیه شده با ترکیب (پری بیوتیک + پروبیوتیک) مشاهده نشد. کمترین میزان پرورش نوزاد ۳۴۶۹/۴۳ سانتی متر مربع مربوط به گروه شاهد بود.

#### موم بافی

اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان موم بافی معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). به طوری که میزان موم بافی در کلنی های تغذیه شده با ترکیب اسید آلی، پری بیوتیک، پروبیوتیک و ترکیب (پری بیوتیک + پروبیوتیک) به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد ( $p < 0.05$ )، علاوه بر این میزان موم بافی در کلنی های دریافت کننده ترکیب (پری بیوتیک + پروبیوتیک) به طور معنی داری بیشتر از کلنی های تغذیه شده با پری بیوتیک و پروبیوتیک ( $p < 0.05$ )، و کلنی های دریافت کننده اسید آلی به طور معنی داری بیشتر از پروبیوتیک بودند ( $p < 0.05$ ).

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد کلنی های زنبور عسل کارگر ایرانی

Table 2. The effect of experimental treatments on the performance of Iranian worker bee colonies

تیمار	جمعیت زنبور بالغ (سانتی متر مربع)	پرورش نوزاد (سانتی متر مربع)	موم بافی (سانتی متر مربع)	ذخیره گرده (سانتی متر مربع)	افزایش وزن کندو (کیلوگرم)
شاهد	۳۱۱۰/۳۳ <sup>c</sup>	۳۴۶۹/۴۳ <sup>c</sup>	۴۰۷۶/۹۶ <sup>d</sup>	۴۱/۸۱	۶/۳۹ <sup>b</sup>
اسید آلی	۳۵۰۵/۸۵ <sup>ab</sup>	۴۳۸۰/۲۶ <sup>ab</sup>	۶۵۲۴/۲۸ <sup>ab</sup>	۴۳/۲۸	۷/۴۳ <sup>a</sup>
پری بیوتیک	۳۳۰۲/۹۴ <sup>abc</sup>	۴۱۰۶/۰۵ <sup>ab</sup>	۶۰۸۸/۷۱ <sup>bc</sup>	۴۲/۰۲	۷/۱۷ <sup>a</sup>
پروبیوتیک	۳۲۵۵/۳۴ <sup>bc</sup>	۳۹۵۲/۴۸ <sup>b</sup>	۵۸۹۷/۵۰ <sup>c</sup>	۴۱/۸۷	۶/۹۵ <sup>ab</sup>
پری بیوتیک+پروبیوتیک	۳۵۸۰/۰۲ <sup>a</sup>	۴۴۶۶/۵۰ <sup>a</sup>	۶۶۵۱/۴۲ <sup>a</sup>	۴۳/۶۳	۷/۶۹ <sup>a</sup>
معیار خطای آزمایش	۱۰۹/۳۵	۱۱۰/۳۴	۱۱۰/۸۲	۰/۹۷	۰/۱۷
p-value	۰/۰۴	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۵۴	۰/۰۰۰۵

abcd: میانگین های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف آماری معنی دار هستند ( $p < 0.05$ ).

افزایش تعداد زنبورهای کارگر خواهد شد. ساباتنه و همکاران (۳۲) گزارش کردند که تغذیه کلنی ها با باکتری باسیلوس ساتلیس ترکیب با شرب نیشکر، منجر به تحریک تخم گذاری ملکه و افزایش تولید نوزادهای باز و پر شده و در نتیجه افزایش جمعیت کلنی شد. این باکتری عمدتاً از شاخون های درون کندو حمایت می کند و با تحریک قوی تخم گذاری و کاهش بیماری های واروا و نوزما باعث افزایش جمعیت زنبورهای بالغ کلنی می شود. در نتیجه پروبیوتیک ها می توانند به زنبوردار در مدیریت کلنی و ایجاد هسته دیررس کمک کنند.

در مطالعه حاضر افزودن اسید آلی، پری بیوتیک و پروبیوتیک در شربت تحریکی زنبور عسل کارگر ایرانی، بر افزایش جمعیت زنبورهای بالغ مؤثر بود. به طور مشابه، پاترویکا و همکاران (۲۶، ۲۱) گزارش کردند که استفاده از اسیدهای آلی، پری بیوتیک ها و پروبیوتیک ها در تغذیه زنبور عسل منجر به افزایش جمعیت زنبورهای کارگر و افزایش پرورش نوزاد گردید. از سوی دیگر بنیتز و آدیسو (۵) و مگی و همکاران (۱۵) گزارش کردند که تأثیر استفاده از باکتری های اسیدلاکتیکی در شربت تغذیه ای زنبورهای عسل، باعث تحریک تخم گذاری ملکه شده و در نتیجه باعث

مکمل‌های غذایی مناسب جایگزین گرده گل در تغذیه کلنی‌های زنبورعسل که بتوانند باعث غالب شدن باکتری‌های مفید در دستگاه گوارش این حشرات شوند، می‌توانند باعث بهبود عملکرد تولید زنبورعسل شوند. همسو با نتایج ما محققان نشان دادند که استفاده از اسید آلی در شربت تحریکی زنبورهای عسل منجر به افزایش میزان باکتری‌های اسید لاکتیکی در دستگاه گوارش میزبان می‌شود، در نتیجه این باکتری‌ها لاکتوز و سایر قندها را تخمیر می‌کنند و با تولید اسید لاکتیک و اسیداستیک به‌عنوان محصولات نهایی، دستگاه گوارش زنبورعسل را اسیدی کرده و از رشد برخی باکتری‌های مضر جلوگیری می‌کنند (۱۹،۱۸،۱۱،۷). گزارش‌های دیگر حاکی از آن است که باکتری‌های اسیدلاکتیکی با تولید مواد ضد میکروبی، میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را از بین می‌برند (۳۶، ۱۹، ۴). این باکتری‌های اسید لاکتیکی که ساکنان طبیعی دستگاه گوارش زنبورعسل هستند، نقش ویژه‌ای در حفظ اکوسیستم میکروبی روده این حشره ایفا می‌کنند (۱۹، ۱۱، ۹). همچنین رابطه همزیستی این باکتری‌های با زنبورعسل باعث افزایش جذب مواد مغذی توسط میزبان، بهبود عملکرد پاسخ ایمنی زنبورها و حفظ هموستاز میکروفلوری روده آن‌ها می‌گردد (۲۹، ۴). پاترویکا و همکاران (۲۶) گزارش کردند که افزودن اسیدهای آلی یا پروبیوتیک به شربت تحریکی زنبورهای عسل در فصل بهار به دلیل اثرات مفیدی که بر جمعیت میکروفلور روده زنبور دارند، منجر به بهبود سلامت دستگاه گوارش زنبورعسل و در نتیجه افزایش راندمان تولید عسل در کلنی‌ها می‌گردد. علاوه بر این تغذیه شربت تحریکی حاوی باکتری باسیلوس سابلیس ترکیب با شربت نیشکر منجر به افزایش تولید عسل در کلنی‌ها شد (۳۲). نتایج حاصل از مطالعه حاضر و مطالعات گذشته نشان می‌دهد که تغذیه زنبورهای عسل با مکمل‌های جایگزین گرده می‌تواند به‌عنوان یک ابزار طبیعی برای بهبود عملکرد زنبورهای عسل در نظر گرفته شود.

### نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج تحقیق نشان دادند که تغذیه شربت تحریکی زنبورعسل با اسیدآلی، پری‌بیوتیک، پروبیوتیک و ترکیب (پری‌بیوتیک + پروبیوتیک) در انتهای فصل بهار (اواسط خرداد ماه) تا ابتدای فصل تابستان (اواسط تیرماه) باعث بهبود عملکرد کلنی‌ها از لحاظ افزایش جمعیت زنبور بالغ، پرورش نوزاد، موم‌بافی و افزایش وزن کندو می‌شود. همچنین توصیه می‌شود مطالعاتی در مورد اثر سطوح مختلف استفاده از این تیمارهای آزمایشی بر عملکرد زنبورهای عسل انجام شود.

همسو با نتایج مطالعه ما پاترویکا و همکاران (۲۴) نشان دادند که استفاده از اسیدآلی، مکمل پری‌بیوتیک و پروبیوتیک در شربت تحریکی زنبورعسل در افزایش میزان موم‌بافی آن‌ها مؤثر است. آن‌ها گزارش کردند که کلنی‌های تغذیه‌شده با شربت شکر حاوی اسیدآلی (اسیدلاکتیک و اسیداستیک) منجر به ایجاد سلول‌های مومی بین ۱۰/۷۵ تا ۲۶/۶۹ درصد بزرگتر از گروه شاهد (تغذیه‌شده با شربت شکر) شد. زنبورهایی که مکمل پروبیوتیکی دریافت کردند، سلول‌های مومی بین ۷/۱۷ تا ۱۶/۳۳ درصد و زنبورهای تغذیه‌شده با مخلوط اسیدلاکتیک و مکمل پروبیوتیک، سلول‌های مومی بین ۲۵/۰۹ تا ۲۸/۲۸ درصد بزرگتر از گروه شاهد داشتند. در نتیجه می‌توان چنین استدلال کرد که رشد بیشتر اندازه سلول‌های ترشح کننده موم در کلنی‌های تغذیه‌شده با این محصولات منجر به افزایش موم‌بافی می‌شود. در این تحقیق نیز میزان موم‌بافی در کلنی‌های تغذیه‌شده با اسیدآلی، پری‌بیوتیک و پروبیوتیک و ترکیب پری‌بیوتیک + پروبیوتیک به طور قابل توجهی در مقایسه با گروه شاهد توسعه یافت. ذخیره گرده تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. اگرچه از لحاظ عددی میزان ذخیره گرده کلنی‌های تغذیه شده با اسیدآلی، پری‌بیوتیک و ترکیب (پری‌بیوتیک + پروبیوتیک) به مراتب بیشتر از گروه شاهد بود. از آنجا که جمع‌آوری گرده به طور مستقیم با جمعیت زنبورهای یک کلنی در ارتباط است، احتمالاً این کلنی‌ها به دلیل داشتن جمعیت بیشتر دارای ذخیره گرده بیشتری بودند.

افزایش وزن کندو کلنی‌های تغذیه‌شده با اسیدآلی، پری‌بیوتیک، پروبیوتیک و ترکیب (پری‌بیوتیک و پروبیوتیک) به‌مراتب بیشتر از گروه شاهد بود. مارتینسون و همکاران (۱۶) نشان دادند که یکی از فعالیت‌های سودآور باکتری‌های اسیدلاکتیکی کمک به تغذیه زنبورعسل می‌باشد. به‌طوری‌که آن‌ها قادر به تولید اسید چرب‌های با زنجیر کوتاه مانند اسیداستیک هستند که جزو محصولات زائد متابولیسم کربوهیدرات‌ها محسوب می‌شوند. امکان جذب این ترکیبات در دیواره روده قدامی (رکتوم) زنبورعسل وجود دارد، که در نتیجه می‌تواند مکمل تغذیه‌ای زنبورهای عسل باشد. از طرفی باکتری‌های اسیدلاکتیکی در برابر میکروب‌هایی که به طور بالقوه مضر هستند، مقاومت کلونیزاسیونی نشان می‌دهند و از اختلالات گوارشی در روده جلوگیری می‌کنند. آن‌ها می‌توانند با تغییر ترکیب میکروبیوتای روده بر میزبان تأثیر بگذارند و در نتیجه منجر به افزایش عملکرد زنبورعسل شوند. پاترویکا و همکاران (۲۱) گزارش کردند که استفاده از پری‌بیوتیک و پروبیوتیک در شربت تحریکی کلنی‌ها منجر به افزایش باکتری‌های مفید در روده زنبورعسل می‌شود که سلامت، افزایش طول عمر و افزایش راندمان تولید زنبور را به همراه دارد، در نتیجه توصیه کردند که استفاده از

## منابع

1. Agboola, A.F., B.R.O. Omidiwura, O. Odu, I.O. Popoola and E.A. Iyayi. 2015. Effects of organic acid and probiotic on performance and gut morphology in broiler chickens. *South African Journal of Animal Science*, 45: 494-501.
2. Alberoni, D., F. Gaggia, L. Baffoni and D. Di Gioia. 2016. Beneficial microorganisms for honey bees: problems and progresses. *Applied microbiology and biotechnology*, 100: 9469-9482.
3. Al-Sultan, S.I., S.M. Abdel-Raheem, W.R. El-Ghareeb and M.H. Mohamed. 2016. Comparative effects of using prebiotic, probiotic, synbiotic and acidifier on growth performance, intestinal microbiology and histomorphology of broiler chicks. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 64: 187-195.
4. Asama, T., T.H. Arima, T. Gomi, T. Keishi, H. Tani, Y. Kimura, T. Tatefuji and K. Hashimoto. 2015. *Lactobacillus kunkeei* YB38 from honey bee products enhances IgA production in healthy adults. *Journal of Applied Microbiology*, 119: 818-826.
5. Audisio, M. and M. Benítez-Ahrendts. 2011. *Lactobacillus johnsonii* CRL1647, isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut, exhibited a beneficial effect on honeybee colonies. *Beneficial Microbes*, 2: 29-34.
6. Borges, D., E. Guzman-Novoa and P.H. Goodwin. 2021. Effects of prebiotics and probiotics on honey bees (*Apis mellifera*) infected with the microsporidian parasite *Nosemaceranae*. *Microorganisms*, 9: 481.
7. Carina Audisio, M., M.J. Torres, D.C. Sabaté, C. Iburguren and M.C. Apella. 2011. Properties of different lactic acid bacteria isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut. *Microbiological Research*, 166: 1-13.
8. Crotti, E., L. Sansonno, E.M. Prosdocimi, V. Vacchini, C. Hamdi, A. Cherif, E. Gonella, M. Marzorati and A. Balloi. 2013. Microbial symbionts of honeybees: A promising tool to improve honeybee health. *New Biotechnology*, 30: 716-722.
9. Endo, A. and S. Salminen. 2013. Honeybees and beehives are rich sources for fructophilic lactic acid bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 36: 444-448.
10. Evens, J.D. and D.L. Lopez. 2004. Bacterial probiotics induce an immune response in the honey bee. *Journal Economic Entomology*, 97: 752-756.
11. Forsgren, E., T.C. Olofsson, A. Vázquez and I. Fries. 2010. Novel lactic acid bacteria inhibiting *Paenibacillus* larvae in honey bee larvae. *Apidologie*, 41: 99-108.
12. Gunal, M., G. Yayli, O. Kaya, N. Karahan and O. Sulak. 2006. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *International Journal of Poultry Science*, 5: 149-155.
13. Kwong, W.K., A.L. Mancenido and N.A. Moran. 2017. Immune system stimulation by the native gut microbiota of honey bees. *Royal Society Open Science*, 4: 170003.
14. Kwong, W.K. and N.A. Moran. 2016. Gut microbial communities of social bees. *Nature Reviews Microbiology*, 14: 374-384.
15. Maggi, M., P. Negri, S. Plischuk, N. Szawarski, F. De Piano, L. De Feudis, M. Eguaras and C. Audisio. 2013. Effects of the organic acids produced by a lactic acid bacterium in *Apis mellifera* colony development, *Nosemaceranae* control and fumagillin efficiency. *Veterinary Microbiology*, 167: 474-483.
16. Martinson, V.G., B.N. Danforth, R.L. Minckley, O. Rueppell, S. Tingek and N.A. Moran. 2011. A simple and distinctive microbiota associated with honey bees and bumble bees. *Molecular Ecology*, 20: 619-628.
17. Olofsson, T. and A. Vázquez. 2008. Detection and identification of a novel lactic and bacterial flora within the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. *Current Microbiology*, 57: 356-363.
18. Pachla, A., A.A. Ptasińska, M. Wicha, E. Oleńska and W. Małek. 2019. Fascinating fructophilic lactic acid bacteria associated with various fructose-rich niches. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, Sectio C-Biologia*, 72: 41-50.
19. Pachla, A., M. Wicha, A.A. Ptasińska, G. Borsuk, Ł.Ł. Trokheim and W. Małek. 2018. The molecular and phenotypic characterization of fructophilic lactic acid bacteria isolated from the guts of *Apis mellifera* L. derived from a Polish apiary. *Journal of Applied Genetics*, 59: 503-514.
20. Pachla, A., A.A. Ptasińska, M. Wicha, M. Kunat, J. Wydrych, E. Oleńska and W. Małek. 2021. Insight into probiotic properties of lactic acid bacterial endosymbionts of *Apis mellifera* L. derived from the Polish apiary. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28: 1890-1899.
21. Patruica, S. and I. Hutu. 2013. Economic benefits of using prebiotic and probiotic products as supplements in stimulation feeds administered to bee colonies. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37: 259-263.
22. Pătruică, S., A.T. Bogdan, M. Bura, I. Bănăţean-Dunea and M. Gâltofeţ. 2011. Research on the effect of acidifying substances on bee family's development and health in spring. *Scientific Animal Science Biotechnology, Timisoara, Romania*, 44: 117-123.

23. Pătruică, S., A.T. Bogdan and M. Bura. 2011. The use prebiotic and probiotic products in the feeding bees. *AgroBuletin AGIR, Romania*, 3: 118-123.
24. Pătruică, S., G. Dumitrescu, A. Stancu, M. Bura and I.B. Dunea. 2012. The effect of prebiotic and probiotic feed supplementation on the wax glands of worker bees (*Apis mellifera*). *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 45: 268-271.
25. Pătruică, S. and D. Moț. 2012. The effect of using prebiotic and probiotic products on intestinal microflora of the honeybee (*Apis mellifera carpatica*). *Bulletin of Entomological Research*, 102: 619-623.
26. Pătruică, S., A.T. Bogdan, M. Bura and D. Popovici. 2011. Evaluating the complementary effect of some prebiotic and probiotic products on the development of bee colonies during spring. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca-Animal Science and Biotechnologies*, 68: 457-458.
27. Pătruică, S., A.T. Bogdan, M. Bura and D. Popovici. 2011. Research on the effect of acidifying substances on bee family's development and health in spring (2). *Agro Buletin AGIR, Romania*, 3: 123-129.
28. Quinto, E.J., P. Jiménez, I. Caro, J. Tejero, J. Mateo and T. Girbés. 2014. Probiotic lactic acid bacteria: a review. *Food Nutrition Science*, 5: 1765-1775.
29. Raymann, K. and N.A. Moran. 2018. The role of the gut microbiome in health and disease of adult honey bee workers. *Current Opinion Insect Science*, 26: 97-104.
30. Ramos, O.Y., M. Basualdo, C. Libonatti and M.F. Vega. 2020. Current status and application of lactic acid bacteria in animal production systems with a focus on bacteria from honey bee colonies. *Journal of applied microbiology*, 128: 1248-1260.
31. Rekiel, A., J. Wiecek, W. Bielecki, J. Gajewska, M. Cichowicz, J. Kulisiewicz, M. Batorska, T. Roszkowski and K. Beyga. 2007. Effect of addition of feed antibiotic flavomycin or prebiotic BIOS-MOS on production results of fatteners, blood biochemical parameters, morphometric indices of intestine and composition of microflora. *Archiv fur Tierzucht Dummerstorf*, 50: 172-180.
32. Sabate, D.C., M.S. Cruz, M.R. Benítez-Ahrendts and M.C. Audisio. 2012. Beneficial effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* Mori2, a honey-associated strain, on honeybee colony performance. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 4: 39-46.
33. Sabour, S., S.A. Tabeidian and G. Sadeghi. 2019. Dietary organic acid and fiber sources affect performance, intestinal morphology, immune responses and gut microflora in broilers. *Animal Nutrition*, 5: 156-162.
34. SAS. 2003. *SAS User's Guide. Version 9.1*. Cary, NC: SAS Institute Incorporation (North Carolina, US).
35. Wardell, G.I. 1982. *European foulbrood: Association with Michigan blueberry pollination, and control* (Doctoral dissertation, Michigan State University).
36. Wu, M., Y. Sugimura, K. Iwata, N. Takaya, D. Takamatsu, M. Kobayashi, D. Taylor, K. Kimura, M. Yoshiyama and T. Miller. 2014. Inhibitory effect of gut bacteria from the Japanese honey bee, *Apis cerana japonica*, against *Melissococcus plutonius*, the causal agent of European foulbrood disease. *Journal of Insect Science*, 14: 1-13.

## The Effect of using Organic Acid, Prebiotics and Probiotics as a Supplement in Stimulant Syrup on the Performance of Iranian Bee Colonies

Mohammad Taheri<sup>1</sup> and Mansour Rezaei<sup>2</sup>

1- Ph.D. Student in Animal Nutrition, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, (Corresponding author: Mohammad.taheri1989@gmail.com)

2- Professor, Faculty of Animal Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Received: 3 October, 2021 Accepted: 15 December, 2021

### Extended Abstract

**Introduction and Objective:** This study aims to investigate the nutritional effects of organic acids, prebiotics, probiotics and (prebiotic + probiotic) combination on increasing adult bee population, neonatal rearing, beeswax production, pollen storage and hives weight gain before the honey harvesting season in Iranian honey bees.

**Materials and Methods:** This experiment was conducted using 25 Iranian honey bee colonies with the same sister queen and with the same conditions in a completely randomized design with 5 experimental treatments including control group (sugar syrup 1: 1), organic acid (8 cc per 1 liter of syrup 1:1), prebiotics (10 g per 1 liter of syrup 1: 1), probiotics (5 g per 1 liter of syrup 1: 1) and (prebiotic + probiotic) combination (10 g + 5 g per 1 liter of syrup 1: 1) and 5 repetitions for 30 days before the honey harvesting season.

**Results:** The adult bee population in the colonies that received organic acid and combination of prebiotic + probiotic was significantly higher than the control treatment ( $p < 0.05$ ). Neonatal rearing and beeswax production increased in colonies that received organic acid, prebiotic, probiotic and combination of prebiotic + probiotic compared to the control treatment ( $p < 0.05$ ). The effect of experimental treatments on pollen storage was not significant ( $p < 0.05$ ). Hives weight gain increased in all experimental treatments, except for the colonies that received probiotics, compared to the control treatment ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** The results showed that the use of organic acid, prebiotic, probiotic and combination of prebiotic + probiotic in bee stimulation feeding before the honey harvesting season can improve the performance of Iranian bee colonies.

**Keywords:** Colony performance, Honey bee, Organic acid, Probiotic