

تأثير فرمون الحضنة وهرمون الشباب 3 في وزن المبيض وطول البيضة القاعدية عند شغالة نحل العسل اليتيمة *Apis mellifera mellifera* Linné

محمد قوجيل¹ وصالح الدين دومنجي²

(1) قسم الزراعة، كلية العلوم الزراعية والعلوم البيولوجية، جامعة حسيبة بن بوعلي، اشلف، الجزائر؛

(2) قسم علم الحيوان الزراعي والغابي، المعهد الوطني للعلوم الزراعية، حسن بادي، الحراش، الجزائر.

المخلص

قوجيل، محمد وصالح الدين دومنجي. 2007. تأثير فرمون الحضنة وهرمون الشباب 3 في وزن المبيض وطول البيضة القاعدية عند شغالة نحل العسل اليتيمة *Apis mellifera mellifera* Linné. مجلة وقاية النبات العربية، 25: 155-158.

تمت الدراسة في المختبر على شغالة نحل العسل اليتيمة لمعرفة تأثير فرمون الحضنة brood pheromone وهرمون الشباب 3 juvenile hormone (JHIII) في نمو المبيض من خلال وزنه وطول بيضته القاعدية. بينت النتائج أن معالجة شغالات النحل بحقن فرمون الحضنة بنسبة 1% في نخاريب الشمع تسبب بصفة عامة حسب عمر النحلة انخفاضاً كبيراً في وزن المبيض دون فارق واسع في طول البيضة القاعدية بالمقارنة مع الشاهد (عند مستوى احتمال 5%). كما تبين أن وضع 1 أو 0.5 ميكروغرام من هرمون الشباب 3 JHIII محلياً على غشاء ما بين الصفحات الظهرية للشغالة بالإضافة إلى الفرمون 1% يثبط نمو المبيض ويخفض وزنه ويقلص طول البيضة القاعدية بالمقارنة مع الشاهد. كما وجدنا أن 5% من شغالات النحل المعالجة بفرمون الحضنة تستطيع أن تصل إلى نهاية مرحلة تطور المبيض. لكن بإضافة 0.5 ميكروغرام/نحلة من هرمون الشباب 3 تصل البيضة القاعدية إلى طولها العادي، وبإضافة 1 ميكروغرام/نحلة يتم التثبيط الكلي للمبيض.

كلمات مفتاحية: طول البيضة، فرمون الحضنة، هرمون الشباب 3، وزن المبيض.

المقدمة

في أنواع كثيرة من الحشرات تتم مراقبة تطور البيض بواسطة

هرمون الشباب 3. تتزايد كمية هذا الهرمون في دم الشغالة من 0.05 بيكو مول/ميكروليتر في اليوم الأول من الطور البالغ إلى أكثر من 0.2 بيكو مول/ميكروليتر عند بلوغ عمرها 21 يوماً (4). تتراوح الكمية عند الشغالات المغذيات من 5 إلى 20 نانوغرام/مل (15). قد تصل إلى 1190 وحدة جاليريا/مل في عمر 12 يوماً و 2170 وحدة جاليريا/مل في عمر 25 يوماً من الطور البالغ (3). يتم تعديل كمية هرمون الشباب 3 وفق تكيف الشغالات مع الظروف البيئية والاجتماعية لطائفة النحل حيث تستطيع شغالات منفصلة في نواة صغيرة بعمر 7 أيام أن تحتوي على 100 نانوغرام في الدم مثل ما تحتوي عليه شغالات طائفة كبيرة بعمر 21 يوماً من الطور البالغ (7).

لفهم تطور مبيض شغالة نحل العسل الأسود المتمثل في

سلالة أوروبا الغربية *Apis mellifera mellifera* Linné (Hymenoptera: Apidae)، تم دراسة وزن المبيض وطول البيضة القاعدية ومدى مراقبتها باستعمال فرمون الحضنة وهرمون الشباب 3 وذلك لعدم تطرق الدراسات السابقة لمثل هذا العمل.

شغالة نحل العسل، حشرة اجتماعية عاقر لكن عند فقدانها للملكة والحضنة تصبح واضعة للبيض ومنجبة للذكور فقط. حينئذ ينشأ لديها سلوك المنافسة والشراسة لمثلتها مسببة موتاً في الطائفة (19)، باستثناء نحل العسل الكاب عند الملكات الكاذبة *Apis mellifera capensis* (13). لدى شغالة نحل العسل 2 إلى 20 أنبوبة بيض/مبيض وتحتوي كل بيضة على 47 خلية مغذية (18). إن أهم أسباب تثبيط تنمية المبيض هي الفقر الغذائي لليرقات (18)، غاز الكربون، التعرض للشمس، وجود الملكة (18) والحضنة (7).

ينتج التطور المبكر للنحلة عند غياب رائحة فرمون الملكة وفرمون الحضنة (9)، وهذا الأخير يتمثل في خليط من 10 إسترات حمض دسم المثيليك والاثيليك (1). عند التماس المباشر مع الحضنة (6) يحفز بلمينات المثيل وألبلات الاثيل إنتاج البروتينات بواسطة الغدد الفكية للشغالات المغذية (10). في فصل الربيع، الموسم المفضل لتربية الملكات، يتطور المبيض عند 5% من الشغالات رغم وجود الملكة والحضنة (8). وهذه النسبة من الشغالات تنتج بغدتي فكيها رائحة الملكة *decenoic 9-oxo-2-(E) acid* حيث تتوّم عدة أيام عند نحل العسل الكاب (12).

مواد البحث وطرائقه

في كل الحالات خدرت 20 نحلة بغاز الكربون ثم شرحت في محلول فسيولوجي رينجر *Ringer*. بعد استئصال المبيضين من القاعدة وتنشيفهما تم وزنهما في ميزان الكتروني وقيس طول البيضة القاعدية الأكثر نمواً بواسطة مسطرة تحت مرآة المجهر الضوئي. تم الحساب الإحصائي باستعمال تحليل التباين أحادي الإتجاه ($n = 20$); (one way ANOVA).

النتائج والمنافشة

تأثير فرمون الحضنة في وزن المبيض وطول البيضة القاعدية
أظهرت النتائج (جدول 1) أن معالجة شغالات النحل اليتيمة بفرمون الحضنة بنسبة 1% تثبطت نمو المبيض، حيث انخفض وزن المبيض وطول البيضة القاعدية في اليوم الـ 14 من عمر النحلة بصورة معنوية بالمقارنة مع الشاهد. بالمتوسط بلغ وزن مبيض النحلة المعالجة 0.17 ± 0.58 مغ مقارنة بالشاهد (0.58 ± 2.69 مغ)، وبلغ طول البيضة القاعدية 0.2 ± 0.29 مم مقابل 0.23 ± 0.64 مم للشاهد. وبلغ وزن المبيض 1.5 مغ في 5% من الشغالات المعالجة وكان المبيض محتوياً على بيضات متطورة جداً في اليوم الـ 14 من عمرها. بلغت هذه البيضات أقصى تطورها رغم انخفاض وزن المبيض إلى 0.6 مغ في اليوم الـ 18 من عمر النحلة البالغة، في حين بلغ وزن المبيض عند الشاهد 7.8 مغ. وبالتالي فإن فرمون الحضنة خفض متوسط وزن المبيض من 3 إلى 4 أضعاف وطول البيضة القاعدية بضعفين بالمقارنة مع الشاهد. وحسب تصنيف Hess المتغير (5) وجد أن 10% من الشغالات المعالجة بالتركيز ذاته مقابل 49% عند الشاهد طورت مبيضها عند بلوغها اليوم الـ 14 (1)، في حين حصلنا أثناء تجربتنا على 5% مقابل 20% اعتماداً على طول البيضة القاعدية. نعتقد أن نتائجنا أدق، حيث تصنيف Hess وغيره يرتكز أساساً على الرؤية والتقييم بالعين فقط.

تناقص متوسط وزن المبيض وطول البيضة القاعدية في الأسبوع الثاني من عمر الشغالات كان بارزاً جداً خاصة عند تلك المعالجة. قد يعود سبب ذلك إلى تأثير الشغالات المنتجة لفرمون الملكي في الأخرى وكذا بلمينات الإيثيل أحد مركبات فرمون الحضنة (11).

تأثير هرمون الشباب 3 في وزن المبيض وطول البيضة القاعدية
بينت النتائج أن وضع 1 ميكروغرام من هرمون الشباب 3 على غشاء ما بين الصفيحتين الظهريّة للشغالة يخفض بصفة كبيرة وزن المبيض وطول البيضة القاعدية بالمقارنة مع الشاهد، حيث بلغ

منحت شغالات النحل بعمر يوم واحد من الطور البالغ من المعهد الوطني للبحث الزراعي بباريس. تم إجراء التجربة في مختبر فسيولوجيا الحشرات بجامعة بيير وماري كوري في باريس.

تربية شغالات النحل

جمعت 100 شغالة نحل عمرها 24 ساعة من الطور البالغ في قفص من الخشب به ثقب، أبعاده $10 \times 8 \times 6$ سم، وربيت في ظروف محكمة وثابتة عند درجة حرارة 1 ± 32 °س، رطوبة نسبية 5 ± 75 %، غذاء الكاندي (عسل + سكر مكثف + حبوب الطلع) والماء.

المعالجة

فرمون الحضنة - يحتوي فرمون الحضنة على 10 إسترات من الأحماض الدسمة. أصلها أخذ من جلد يرقات ذكور نحل العسل في الطور الخامس بالنسب التالية (1): بلمينات الميثيل (16.1%)، لينولات الميثيل (3.1%)، لينولينات الميثيل (36.4%)، أوليات الميثيل (4.3%)، ستيرات الميثيل (16.1%)، بلمينات الإيثيل (5.5%)، لينولات الإيثيل (0.6%)، لينولينات الإيثيل (11.1%)، أوليات الإيثيل (1.8%) وستيرات الإيثيل (4.9%). اشترت هذه الإسترات من مؤسسة سكما كيمياء وحضرت في المختبر وفق النسب الطبيعية للفرمون. مزج الفرمون مع زيت البارافين وزن بوزن. عولجت شغالات النحل بعد 48 ساعة من حياتها البالغة حيث حقن 100 ميكروليتر من المحلول بتركيز 1% (بما يعادل 500 يرقة) في قاع نخارب الشمع بصفة عشوائية كل يومين إلى غاية اليوم الـ 12 من الطور البالغ، وقت بداية تشريح الشغالات. بالنسبة للشاهد استعمل زيت البارافين فقط. يتم تأثير الفرمون على الشغالات باللامسة.

هرمون الشباب 3 - تم الحصول على هذا الهرمون من مؤسسة سكما كيمياء وأجريت إذابته في محلول الأسيتون 1 ميكروغرام/ميكروليتر (1/1). وضع بواسطة حقنة 1 ميكروغرام على غشاء ما بين الصفيحتين الظهريّة لكل نحلة في اليوم الـ 11 من عمرها البالغ. عولج الشاهد بمحلول الأسيتون فقط. شرحت شغالات النحل في اليوم الـ 14 من عمرها البالغ.

هرمون الشباب 3 + فرمون الحضنة - عولجت شغالات النحل في الوقت نفسه وبالكيفية المذكورة أعلاه بفرمون الحضنة 1% وهرمون الشباب 3 بـ 0.5 و 1 ميكروليتر. تم تعيين شغالات النحل المعالجة بوضع صبغة مميزة على الصفيحة الظهريّة "*scutum*".

إلى 1.5 مغ عند 5% من الشغالات لكن لم يؤثر في طول البيضة القاعدية الذي بلغ 1.3 مم.

حقن كميات صغيرة من هرمون الشباب 3 للشغالات بعمر 6 أيام من الطور البالغ بوجود الملكة تحدث ارتفاعاً في تركيب بروتينات المح vitellogenine في الدم إلى غاية اليوم العاشر من العمر لكن بدون تكوين البيض (16). كما وجدنا أن لهرمون الشباب 3 بتركيز منخفض مع استعمال فرمون الحضنة أو بدون له قدرة كبيرة على تخفيض نمو المبيض. لكن في هذه الحالة 5% من الشغالات لم تخضع لهذا النظام، ويرجع ذلك ربما لاحتوائها على 20 أنبوبة بالمبيض الواحد. هذه الشغالات قد تكون من الفئة المنتجة للفرمون الملكي (12) حيث الرائحة الملكية منتشرة لعدة أيام عند نحلة العسل الكاب (17).

قد يكون هذا السلوك استجابة لحاجيات الساعة المفروضة من المحيط الاجتماعي للنحل بغية استمرار حياة الطائفة. لكن رفع جرعة الهرمون إلي 1 ميكروغرام بالإضافة إلى فرمون 1% يثبطا بصفة كلية نمو المبيض. وبالتالي فإن الهرمون والفرمون المستعملان في تجربتنا بالتركيز الكافي لهما تأثير متكامل في التنشيط الكلي للمبيض.

متوسط وزن المبيض 0.1 ± 0.2 مغ مقابل 0.6 ± 2.54 مغ. وكذلك بالنسبة للبيضة القاعدية 0.1 ± 0.1 مم مقابل 0.2 ± 0.6 مم (جدول 1). عند الجرعة نفسها نجد 5% من الشغالات لا يتجاوز وزن مبيضها 1 مغ وبدون تطور كامل للبيضة القاعدية. إذا هرمون الشباب 3 يراقب تنمية المبيض حسب التركيز. وهذا ما أكدته استعمال جرعات كبيرة في تثبيط تركيب بروتينات المح (2، 14). الاستعمال المحلي لـ 1 ميكروغرام من هذا الهرمون في اليوم الـ 11 من عمر الشغالة يعتبر مناسباً جداً لتثبيط المبيض.

تأثير فرمون الحضنة و هرمون الشباب 3 في وزن المبيض وطول البيضة القاعدية

بينت النتائج (جدول 1) أن وضع 0.5 أو 1 ميكروغرام من هرمون الشباب 3 بالإضافة إلى 1% من فرمون الحضنة يخفضان بشكل كبير وزن المبيض وطول البيضة القاعدية بالمقارنة مع الشاهد حيث بلغ متوسط وزن المبيض 0.13 ± 0.24 مغ مقابل 0.5 ± 2.47 مغ. متوسط طول البيضة القاعدية عند الشغالات المعالجة أقل من 0.1 مم أما عند الشاهد فيساوي 0.2 ± 0.58 مم. لم يحدث الهرمون بجرعته فارقاً كبيراً في طول البيضة القاعدية عند الشغالات المعالجة. ووجدنا أن 0.5 ميكروغرام بالإضافة إلى فرمون 1% خفضا وزن المبيض

جدول 1. تأثير فرمون الحضنة وهرمون الشباب 3 في تطور المبيض عند شغالة نحل العسل.

Table 1. Effect of the brood pheromone and the juvenile hormone 3 on the ovarian development in the worker honey bee.

متوسط طول البويضة القاعدية (مم) Mean length of basal oocyte (mm) ± S.E.		متوسط وزن المبيض (مغ) Mean ovary weight (mg) ± S.E.		المعاملة Treatment
المعامل Treated	الشاهد Control	المعامل Treated	الشاهد Control	
				فرمون الحضنة 1% brood pheromone
0.09±0.24 f	0.16±0.45 e	0.42±0.43 b	1.0±1.75 a	12 يوم (12 days)
0.2±0.29 d	0.23±0.64 c	0.17±0.58 b	0.58±2.69 a	14 يوم (14 days)
0.19±0.38 f	0.19±0.59 e	0.71±0.72 b	0.7±2.46 a	16 يوم (16 days)
0.15±0.25 f	0.16±0.55 e	0.64±0.66 b	0.66±2.35 a	18 يوم (18 days)
0.1±0.1 b	0.2±0.6 a	0.1±0.2 b	0.6±2.54 a	هرمون الشباب 3 (1 ميكروغرام) juvenile hormone 3 (1 µg)
0.2±0.1 b	0.2±0.58 a	0.2±0.24 b	0.5±2.47 a	فرمون الحضنة 1% + هرمون الشباب 3 (0.5 ميكروغرام) brood Pheromone 1% + juvenile hormone 3 (0.5 µg)
0.07±0.05 b	0.2±0.58 a	0.13±0.24 b	0.5±2.47 a	فرمون الحضنة 1% + هرمون الشباب 3 (1 ميكروغرام) brood Pheromone 1% + juvenile hormone 3 (1 µg)

Means in the same row which are followed by the letters a, b are significantly different at $P = 0.001$, c, d are significantly different at $P = 0.05$, e, f are not significantly different at $P = 0.05$. (ANOVA one way, $n = 20$).

المتوسطات المتبوعة بالحرف a في ذات السطر مختلفة عن بعضها بمعنوية عالية عند مستوى احتمال 0.001، وبالحررين c و d مختلفة عن بعضها معنوياً عند مستوى احتمال 0.05، وبالحررين e و f ضعيفة المعنوية عند مستوى احتمال 0.05. (ANOVA one way, $n = 20$).

Abstract

Koudjil, M. and S.D. Doumandji. 2007. Influence of Brood Pheromone and Juvenile Hormone 3 on the Ovarian Weight and the Length of the Basal Oocyte in the Orphan Worker Honey Bee, *Apis mellifera mellifera* Linné (Hymenoptera: Apidae). Arab J. Pl. Prot. 25: 155-158.

The treatment of the orphan worker bees, *Apis mellifera mellifera* with 1% of the brood pheromone led to a great reduction in the ovary weight but without significant effect on the length of the basal oocyte among the pilot workers. The presence of the brood pheromone (1%) and the topical application of the juvenile hormone 3 JHIII, increased significantly the ovary weight and length of the basal oocyte of the pilot workers. Nevertheless, in 5% of workers, the basal oocyte did not complete its growth under the effect of JHIII (1 µg) alone, but it did in the presence of the pheromone (1%), although it had a normal length with 0.5 µg of JHIII alone. However, with 1 µg of JHIII treatment, the oocyte growth was blocked.

Key words: *Apis mellifera mellifera*; oocyte length; ovarian weight; Juvenile Hormone 3; brood Pheromone.

Corresponding author: M. Koudjil, Agronomy Dept., Faculty of Agronomy and Biology, University Hassiba Benbouali, Chlef, Algeria

References

المراجع

- bee hypopharyngeal glands. *Compte Rendu de l'Académie des Sciences, Paris*, 319: 769-772.
11. **Mohammedi, A., A. Paris, D. Crauser and Y. Le Conte.** 1998. Effects of aliphatic esters on ovary development of queenless bees, (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften*, 85: 455-458.
 12. **Moritz, R.F.A., U.F. Simon and R.M. Crewe.** 2000. Pheromonal contest between honeybee workers. *Naturwissenschaften*, 87: 395-397.
 13. **Moritz, R.F.A., H. Michael, G. Lottorff and R.M. Crewe.** 2004. Honeybee workers (*Apis mellifera capensis*) compete for producing queen-like pheromone signals. *Proceedings of the Royal Entomological Society, London (B)* 271: 98-100.
 14. **Pinto, L.Z., M.M.G. Bitondi and Z.L.P. Simões.** 2000. Inhibition of vitellogenin synthesis in *Apis mellifera* workers by a juvenile hormone analogue, Pyriproxyfen. *Journal of Insect Physiology*, 46:153-160.
 15. **Robinson, G.E., M.L. Winston, Z. Huang and T. Pankiw.** 1998. Queen mandibular pheromone influences worker honey bee (*Apis mellifera* L.) foraging ontogeny and juvenile hormone titers. *Journal of Insect Physiology*, 4: 685-692.
 16. **Rutz, W., L. Gerig, H. Wille and M. Luscher.** 1976. The function of juvenile hormone in adult worker honey bees *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology*, 22: 1485-1491.
 17. **Simon, U.E., R.F.A. Moritz and R.M. Crewe.** 2001. The ontogenetic pattern of mandibular gland components in queenless worker bees (*Apis mellifera capensis* Esch.). *Journal of Insect Physiology*, 47: 735-738.
 18. **Velthuis, H.H.W.** 1970. Ovarian development in *Apis mellifera* worker bees. *Entomologie Expérimentale et Appliquée*, 13: 377-394.
 19. **Velthuis, H.H.W.** 1987. Caste differentiation and egg laying in the highly social bees. *Edition Rembold, Chemistry and Biology of Social Insects*, München: 263-264.
 1. **Arnold, G., Y. Le Conte, J. Trouiller, H. Hervet, B. Chappe and C. Masson.** 1994. Inhibition of worker honey bee ovaries development by a mixture of fatty acid esters from larvae. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris*, 317: 511-515.
 2. **Fluri, P., H. Wille, L. Gerig and M. Luscher.** 1977. Juvenile hormone, vitellogenin and haemocyte composition in winter worker honey bees *Apis mellifera*. *Experientia*, 32(9): 1240-1241.
 3. **Fluri, P., A.G. Sabatini, M.A. Vecchi and H. Wille.** 1981. Blood juvenile hormone, protein and vitellogenin titers in laying and non laying queen honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 20(4): 221-225.
 4. **Fluri, P., M. Luscher, H. Wille and L. Gerig.** 1982. Changes in weight of the pharyngeal gland and hemolymph titers of juvenile hormone, protein and vitellogenin in worker honey bees. *Journal of Insect Physiology*, 28: 61-68.
 5. **Hess, G.** 1942. Über den Einfluss der weissenlosigkeit und des Fruchtbarkeits vitamins E auf die ovarien der Bienenarbeiterin. *Schweiz Bienen Zeitung*, 2: 33-110.
 6. **Huang, Z.Y., G.W. Otis and P.E.A. Teal.** 1989. Nature of brood signal activating the protein synthesis of hypopharyngeal gland in honey bees, *Apis mellifera* (Apidae; Hymenoptera). *Apidologie*, 20: 455-454.
 7. **Jay, S.C.** 1970. The effect of various combinations of immature queen and worker honey bees in colonies with and without queens. *Canadian Journal of Zoology*, 48: 169-173.
 8. **Kasturibai, A.R. and R.C. Chandrashekar.** 1975. Ovary development and egg laying in *Apis cerana indica* workers. *Journal of Apicultural Research*, 14 (3/4): 149-152.
 9. **Le conte, Y., A. Mohammedi and G.E. Robinson.** 2001. Primer effects of a brood pheromone on honey bee behavioural development. *Proceedings of the Royal Entomological Society, London*, 268: 163-168.
 10. **Mohammedi, A., D. Crauser, A. Paris and Y. Le conte.** 1996. Effect of a brood pheromone on honey

Received: January 7, 2006; Accepted: March 27, 2007

تاريخ الاستلام: 2006/1/7؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2007/3/27