دو فصلنامه علوم و فنون زنبور عسل، سال هفتم، شماره ۱۱، زمستان ۱۳۹۴(۱۹-۳۴)

رشد غدد شیری و فاکتورهای مؤثر بر فعالیت آن در زنبورهای کارگر

آیدا سادات صدرالدینی[۱]، غلامعلی نهضتی پاقلعه[۲*]، فاطمه غازیانی[۲]

۱. دانشجو،گروه ایران علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۲. گروه ایران علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

دریافت: مرداد ۱۳۹۴؛ پذیرش: شهریور ۱۳۹۴

پست الکترونیک نویسنده پاسخگو: aida.sadredini@ut.ac.ir

چکیده

ژل رویال از محصولات اصلی ترشحی غدد هیپوفارنژیال و آرواره ای کارگران جوان می باشد. مطالعات انجام شده نشان داده است که مرفولوژی و ساختار این غدد به سن زنبور ارتباط دارد. از عوامل مؤثر بر فعالیت این غدد سن، حضور ویتامین ها، فرمون ها، چربی ها و پروتئین ها است. بطوریکه تامین این مواد برای ترشح ژل رویال نه تنها به سن زنبور بلکه به وضعیت تقسیم کار و نیاز کلنی به تولید آن نیز مربوط است.

واژه های کلیدی: زنبورعسل، ژل رویال، غدد هیپوفارنژیال، غدد آرواره ای

مقدمه

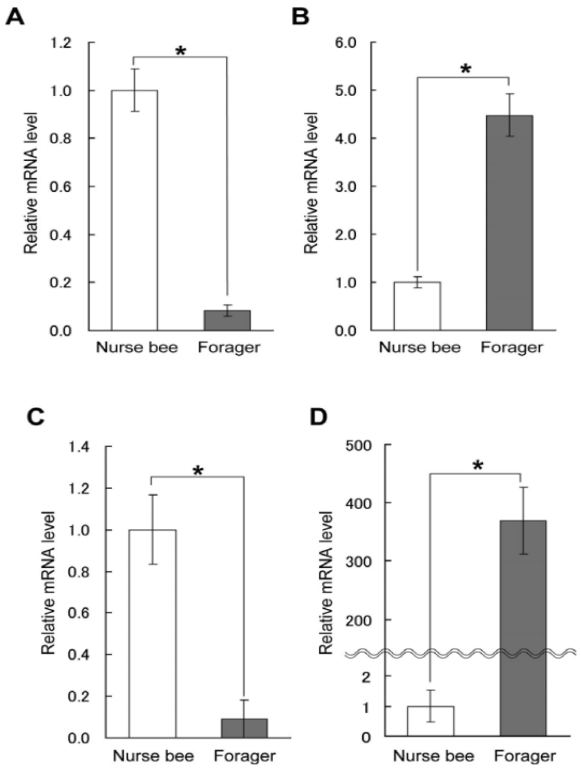
غدد غذاساز

غده های شیری دو ردیف کیسه های فشرده هستند که در اطراف سر قرار گرفته اند. ساختار اصلی این غدد آلوئول یا آسینوس هایی است که به صورت جفت به یک مجرای اصلی متصل شده اند. هر آلوئول حاوی تعدادی سلول ترشحی است. تعداد آلوئول های متصل به مجرای اصلی ۵۵۰ عدد و سلول های ترشحی هر آلوئول ۱۲-۸ عدد گزارش شده است[۱، ۲]. غدد آرواره ای مانند کیسه ای هستند که توسط پوشش کوتیکولی احاطه شده اند، که در قسمت فوقانی آرواره های بالا قرار دارند، این غدد در زنبورهای کارگر جوان مسئول تولید غذای لاروها (ژل رویال) می باشد از جمله تولید هیدروکسی دسنوئیک اسید[۱] که اسید چرب اصلی موجود در ژل رویال است در حالیکه با افزایش سن زنبورهای کارگر این غده به سمت تولید ۲- هپتانون (از ترکیبات اصلی فرمون اعلام خطر) [۲] سوق پیدا می کند[۱، ۳]. غدد شیری در مراحل اولیه زندگی زنبور به رشد کامل می رسد بطوریکه روز پنجم رشدشان کامل شده و تا روز پانزدهم بیشترین فعالیت را دارند وفعالیت اصلی زنبورها در این سن ،پرستاری از لاروها است. با تغییر مسیر به سوی فعالیت های نگهبانی و پروازی این غدد دوباره جذب و کوچک می شوند و بعد از کوچک شدن فعالیت اصلی این غدد ترشح اینورتاز است[۴]. وظایف زنبورهای کارگر با توجه به سن آن ها تغییر می یابد و این موضوع بیانگر تغییر در بیان ژن های موثر بر فعالیت های این غدد است. غدد شیری در زنبورهای کارگر پرستار به خوبی توسعه پیدا کرده است. این غدد با افزایش سن زنبورهای کارگر و چراگر شدن آن ها کوچک شده و مسئول سنتز آنزیم های متابولیزه کننده کربوهیدرات ها مانند آلفا گلوکوسیدازها، آلفا آمیلاز و گلوکز اکسیداز هستند[۵]. بیان ژن برای پروتئین های اصلی ژل رویال و آنزیم های متابولیزه کننده

[۱] Hydroxy decenoic acid

[۲] Alarm pheromone

کربوهیدرات ها و تغییر سطح آن ها در سلول های ترشحی با توجه به سن زنبورها تغییر می یابد. دو ژن اصلی دخیل در این فرایند یکی ژن Bcl-2 است که مانند پروتئین اصلی ژل رویال عمل می کند و سطح بیان این ژن در زنبورهای پرستار بیش تر از چراگرها است و موجب تحریک سنتز پروتئین های اصلی ژل رویال می شود.



نمودار۱- آنالیز کمی ژن های Bcl-2 (A) و AmMMP1(B)، MRJP2(C) و آنزیم آلفا گلوکوسیداز (D) در غدد شیری در زنبورهای پرستار.

- سطح بیان ژن Bcl-2 در زنبورهای پرستار بالاتر از زنبورهای چراگر می باشد که باعث تحریک سنتز پروتئین های اصلی ژل رویال می شود. در حالیکه سطح بیان ژن متالوپروتئیناز ۱ در زنبورهای چراگر بیش تر از پرستار است که منجر به تحریک سنتز آنزیم آلفا گلوکوسیداز می شود.

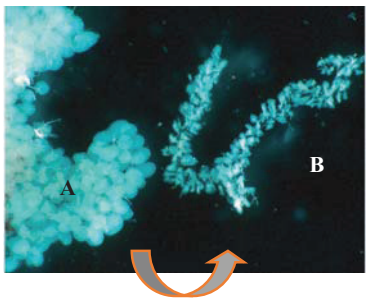
ژن بعدی متالوپروتئیناز۱[۳] که سطح بیان این ژن در زنبورهای چراگر بیشتر از زنبورهای پرستار است و باعث تحریک سنتز آلفا گلوکوسیداز می شود[۵]. تجزیه کمی RT-PCR نشان داده است که بیان ژن BCL-2، AmMMP1، MRJP2 و آلفا گلوکوسیداز در غدد شیری در زنبورهای پرستار ۱۲ برابر چراگرها است[۵]. سنتز پروتئین در غدد شیری از سلول های نوزادی آغاز می شود. طی چهار روز اول زندگی افزایش یافته و تا سن ۲۰-۸ روزگی در سطح بالا باقی مانده و از ۲۲ روزگی کاهش می یابد. با استفاده از تکنیک SDS-PAGE ۲۲ باند پروتئینی در ترشحات غدد شیری مشاهده کرده اند که دامنه وزن مولکولی آن ها بین $۳/۰\times۱۰^{۴}$ تا $۱۹/۰\times۱۰^{۴}$ بوده است. در حالیکه برای پروتئین های ژل رویال ۲۰ باند جدا شده و وزن مولکولی آن ها بین $۳/۵\times۱۰^{۴}$ تا $۹/۵\times۱۰^{۴}$ گزارش شد. الگوی پروتئینی در ژل رویال شبیه پروتئین‌های تولید شده بوسیله غدد شیری است. آنزیم های گلوکز اکسیداز، آمیلاز و آلفا گلوکوسیداز در غدد شیری مشاهده شده در حالیکه در ژل رویال فقط آنزیم گلوکز اکسیداز وجود دارد[۶].

جدول۴-۲- فعالیت آنزیمی در غدد شیری و ژل رویال (Takenaka,1990).

آنزیم(واحد/میلی گرم پروتئین)	غدد شیری		ژل رویال
	روز ۵	روز ۳۰	
گلوکزاکسیداز	۲۴/۸۹	۸/۰۲	۱/۰۶
آمیلاز	۲/۰۸	۹/۳۶	۰
آلفا – گلوکوسیداز	۰/۹۵	۱۴/۰۵	۰

عوامل موثر بر میزان فعالیت غدد شیری در زنبورهای کارگر

۱. سن زنبورها: بیشترین درصد مصرف گرده در زنبورهای ۱۰-۳ روزه می باشد و این میزان در زنبورهای ۱۲ روزه کاهش می یابد. حداکثر فعالیت این غده در سنین ۱۲-۶ روزگی می باشد و با افزایش سن از فعالیت و اندازه غده کاسته می شود[۴].

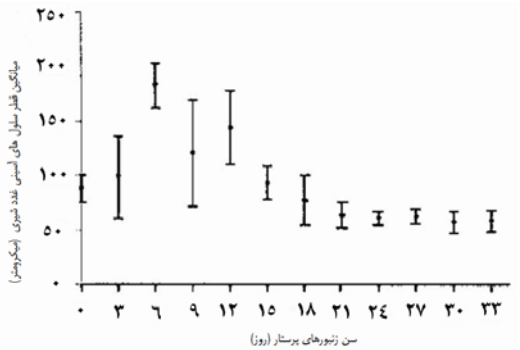


شکل ۱- A: غدد شیری توسعه یافته B: غدد شیری تحلیل یافته و دژنره شده

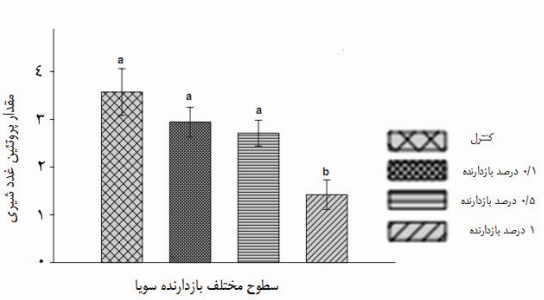
[۳] metalloproteinase 1

۲. تغذیه:

۲-۱. پروتئین ها و گرده: اندازه غدد شیری به طور مثبتی همبستگی با فعالیت غده دارد و مقدار ترشحات سلول های ترشحی ارتباط مثبت با اندازه آسینی‌ها دارد و همچنین مقدار تولید ژل رویال توسط زنبورهای کارگر بستگی به نیاز کلنی دارد [۲].



نمودار ۲- میانگین قطر سلول های آسینی غدد شیری با توجه به سن زنبورهای پرستار که بیشترین قطر آسینی ها در سنین ۱۲-۶ روزگی است یعنی زمانیکه بیشترین فعالیت ترشحی غدد مشاهده میشود. ساجیلی و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی جیره های حاوی سطوح مختلف بازدارنده تریپسین سویا[۴] به این نتیجه رسیدند که در زنبورهای تغذیه شده با سطوح بالای بازدارنده تریپسین (سطح ۱٪) مقدار پروتئین در غدد شیری و فعالیت آنزیم پروتئولیتیکی روده به طور معنی داری کاهش یافت [۷].



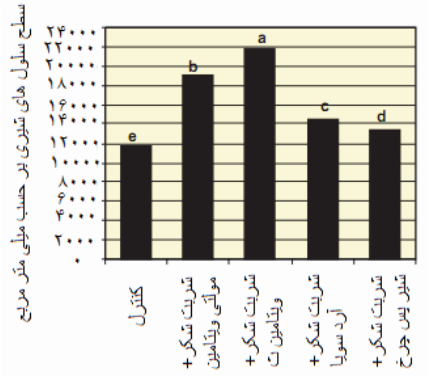
نمودار۳- تاثیر سطوح مختلف بازدارنده تریپسین سویا بر روی مقدار پروتئین موجود در غدد شیری

پرنال و همکاران (۲۰۰۰) میزان پرورش نوزاد در کلنی های تغذیه شده با گرده نگهداری شده به مدت طولانی نسبت به کلنی های تغذیه شده با گرده تازه کمتر بوده است و همچنین غدد شیری و سرعت رشد سینه در آن ها نیز کمترمی باشد[۸]. جواهری و همکاران (۲۰۰۸) بررسی هایی بر روی ۶ جیره غذایی انجام دادند شامل جایگزین گرده و مکمل گرده با استفاده از کنجاله سویا (تیمار ۱و۲)، جایگزین گرده و مکمل گرده با استفاده از گلوتن (تیمار ۳ و۴)، جایگزین گرده و مکمل گرده با استفاده از کنجاله کنجد (تیمار ۵ و ۶)، شربت شکر (تیمار شاهد) انجام دادند، فاکتورهایی از قبیل مقدار کل نیتروژن سر و سینه (میلی گرم / زنبور)، متوسط وزن خشک (میلی گرم / زنبور)، ماده خشک و میزان رطوبت سر و سینه (٪) را در زنبورهای پرستار بررسی کردند و نتایج نشان داد که تفاوت در محتوای نیتروژن سر وسینه زنبوران پرستار تغذیه شده با جیره های آزمایشی متفاوت، از نظر آماری معنی دار بود ($p < 0.01$) و جیره ۲ دارای تفاوت معنی دار آماری با دیگر جیره ها بود ، به طوریکه بالاترین فاکتورها مربوط به جیره ۲ و پایین ترین مقادیر برای جیره های ۱ ، ۳ و ۶ به دست آمد[۹]. طبق گزارش دیسن و همکاران (۲۰۰۵) همبستگی مثبتی بین اندازه غدد شیری با فعالیت غده و مقدار ترشحات در سلول های ترشحی با اندازه آسینی وجود دارد[۴]. وایرن (۲۰۱۱) با بررسی جیره های با سطوح مختلف پروتئین شامل (۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰٪) دریافتند که سطح پروتئین به طور قابل توجهی مصرف خوراک ، توسعه غدد هیپوفارنژیال و تولید ژل رویال را تحت تاثیر قرار می دهد وطبق نتایج حاصله بیشترین افزایش در این شاخص ها با افزودن سطح ۳۰٪ ایجاد شد[۱۰]. هایداک (۲۰۰۰) نشان داد که میزان حساسیت غدد شیری نسبت به غدد آرواره ای در برابر کمبود پروتئین بیش تر است[۱۱].

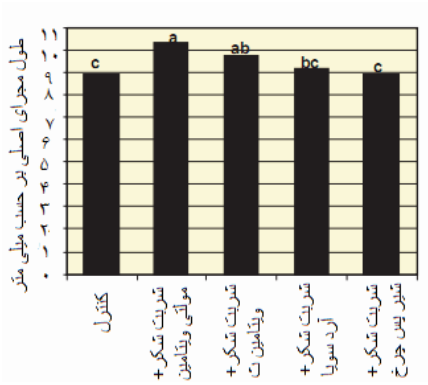
۲-۲. ویتامین ها: ویتامین ها برای رشد، توسعه ارگانیسم ها لازم و از اجزای اصلی کوآنزیم ها می باشند. مقدار ویتامین های موجود در گرده بالا است خصوصا ویتامین های محلول در آب ، هفت ویتامین ب کمپلکس شامل: بیوتین، فولیک اسید، نیاسین، پانتوتنیک اسید، پیریدوکسین، ریبوفلاوین و تیامین برای حشرات ضروری است و به علاوه اینوزیتول و آسکوربیک اسید نیز در گرده حضور دارند. گزارش شده است که برای رشد طبیعی و

[۴] SBTI

توسعه غدد شیری به منابع پروتئین خصوصا ال- لیزین و ال- آرژنین نیاز است. همچنین نشان داده اند که ویتامین های گروه ب کمپلکس برای پرورش طبیعی نوزادان لازم می باشد[۱۲]. هربرت و شیمانوکی(۱۹۷۸) مشاهده کردند که غدد شیری در زنبورهای تغذیه شده با جیره های فاقد تیامین رشد و نمو کافی نداشته و این اختلاف ممکن است بدلیل نقش تیامین در متابولیسم کربوهیدرات و پروتئین باشد[۱۲]. ایوب زهرا و همکاران(۲۰۰۰) اثر ویتامین ث و مولتی ویتامین ها را بر روی رشد غدد بررسی کردند و بررسی ها نشان داد زنبورهای تغذیه شده با ویتامین ث سلول های ترشحی غدد شیری پهن تر و همچنین طول مجرای اصلی غدد شیری بیشتر بوده است[۱۳].



نمودار ۴: تاثیر مصرف ویتامین ث بر روی سطح سلول های شیری بر حسب میلی متر مربع



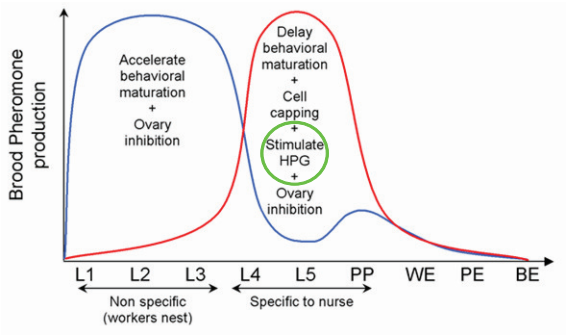
نمودار ۵- تاثیر مصرف ویتامین ث بر روی طول مجرای اصلی غدد شیری بر حسب میلی متر

محب الدینی وهمکاران(۲۰۱۳) بررسی کردند که تغذیه سطوح مختلف تیامین بر روی قطر آسینی ها تاثیر مثبت داشته است[۱۴].

۳. فرمون ها: فرمون نوزاد[۵] زنبورعسل توسط لاروهای سنین ۵-۴ روزه ترشح می شود و با اثرات آغازگری وراه اندازی خود که ترکیبی از ۱۰ متیل و اتیل استر است می تواند در اجسام چربی[۶] و غده های کوتیکولی[۷] سنتز شود. رفتار تغذیه ای و چراگری زنبورهای کارگر را تعدیل می بخشد.همچنین جلوگیری از فعال شدن تخمدان کارگرها، بسته شدن درب سلول های حاوی شفیره توسط زنبورهای کارگر و افزایش سرعت سنتز پروتئین در غدد شیری از دیگر نقش های این فرمون می باشد [۱۵].

E-β-ocimene: فرمون دیگری که در لاروهای یک، دو و سه روزه تولید می شود و با اثرات پرایمری خود بلوغ تخمدان کارگرها را مهار کرده و باعث تسریع در سن چراگری زنبورهای کارگر می شود. نقطه جوش آن ۷۳ درجه سانتیگراد بوده و متعلق به خانواده ترپن ها، بسیار ناپایدار و فرار و تمامی طبقات کارگرها را تحت تاثیر قرار می دهد. سیگنال های این دو فرمون عکس یکدیگر هستند بطوریکه مقدار کم BP و مقدار زیاد E-β-ocimene باعث سرعت بخشیدن به سن شروع چراگری می شود[۱۵].

نمودار۶- سطح تولید فرمون E-β-ocimene و فرمون نوزاد در لاروهای سنین ۵-۱ و شفیره



سطح بالای تولید فرمون E-β-ocimene در لاروهای سنین ۳-۱ باعث تسریع در بلوغ و مهار رشد تخمدان کارگرها می شود و تولید بالا فرمون نوزاد در سنین ۴-۵ و شفیرگی باعث تاخیر در

۵ Brood pheromone
۶ Fat body
۷ Cuticular glands

بلوغ، بسته شدن درب سلول ها، تحریک غدد شیری و مهار رشد تخمدان ها می شود[۱۵].

طبق گزارش براورس (۱۹۸۹) حضور تخم و لارو در کلنی با ایجاد یکسری سیگنال ها باعث تحریک غدد شیری و افزایش سنتز پروتئین در این غدد می شود[۱۶]. هانگ (۲۰۰۰) فعالیت سنتتیک غدد شیری در کلنی های فاقد تخم کمتر از کلنی های دارای تخم می باشد[۱۷].

۴. هورمون جوانی[۸]: این هورمون توسط غدد Corpora allata که یکی از غدد درون ریز در سر زنبور می باشد ترشح می شود. روتز (۱۹۸۲) نشان داد که هورمون جوانی در فعال شدن غدد شیری نقش دارد. میزان هورمون جوانی در کارگرهای پرستار کمتر و غدد شیری آن ها بزرگتر است. همچنین بوهلر و همکاران(۱۹۸۳) هرچه میزان درجه حرارت و غلظت گاز دی اکسیدکربن مرتبط با پرورش نوزاد بیشتر باشد به همان نسبت غلظت هورمون جوانی افزایش می یابد که در نهایت باعث افزایش سنتز پروتئین در غدد شیری می گردد[۱۸، ۱۹]. بلوخ و همکاران (۲۰۰۲) تیمار کردن با آنالوگ های هورمون جوانی مانند متاپورن در توسعه زودرس زنبوران کارگر به چراگری تاثیر دارد[۲۰]. روتز(۱۹۷۶) تیمار کردن با غلظت های بالای هورمون جوانی نوع[۹] ۳ باعث دژنره شدن غدد شیری، کاهش سرعت سنتز ویتلوجنین و کاهش غلظت پروتئین همولنف می شود و بالعکس تیمار کردن با غلظت های پایین باعث افزایش میزان پروتئین همولنف، تحریک سنتز ویتلوجنین و توسعه غدد شیری می شود[۱۹]. براورس(۱۹۸۳) نشان داد که افزایش سطح هورمون جوانی در همولنف باعث کاهش فعالیت غدد شیری می شود[۲۰].

نتیجه گیری

غدد شیری در زنبور با تولید ژل رویال نقش مهمی در تکامل کندو به ویژه نوزاد ملکه دارد. زنبورها در سن ۱۶-۶ روزگی بیشترین مقدار پروتئین های ژل رویال را تولید می کنند. در این دوره، زنبورهای پرستار وظیفه نگهداری از نوزادان را برعهده دارند. با افزایش سن زنبورها و تغییر فعالیت شان، ترشحات غدد شیری به سمت تولید آنزیم می رود. فعالیت آنزیمی غدد شیری نقش مهمی در فرآوری عسل دارد. گرده همیشه در دسترس کلنی ها نمی باشد بنابراین در مدیریت کلنی باید از مکمل های پروتئینی استفاده نماییم و علت اهمیت این موضوع به رشد غدد شیری تحت تاثیر کمیت و کیفیت پروتئین مصرف شده در زنبورهای کارگر بر می گردد. بهترین رشد غدد شیری در زنبورهای تغذیه شده با سطوح بالای پروتئین دیده می شود. تاثیر پروتئین بر عملکرد غدد شیری نه تنها به غلظت پروتئین مربوط است بلکه توازن و تامین اسیدهای آمینه ضروری اهمیت بیشتری دارد. با تامین اسیدهای آمینه ضروری توسط گرده و جیره های مصنوعی می توان در تکامل و توسعه غدد شیری و تولید ژل رویال بهبود ایجاد کرد.

پیشنهادات. توصیه می شود مطالعاتی در زمینه مصرف مکمل های پروتئینی در جیره زنبورعسل و تاثیر ات آن در رشد آسینی ها در لوبول های غدد شیری و افزایش بیوسنتز پروتئین در گرانول های غدد شیری انجام شود. توصیه می شود مطالعاتی در زمینه مصرف ویتامین ها مخصوصا ویتامین های ب کمپلکس و ث در رشد غدد شیری و افزایش پرورش نوزاد در کلنی ها ی زنبورعسل انجام شود. با توجه به اینکه استفاده از آنالوگ ها ی فرمون نوزادی در کلنی ها باعث افزایش مقدار پروتئین تولید شده در غدد شیری می شود توصیه می شود مطالعاتی در این زمینه صورت گیرد. توصیه می شود در جیره غذایی زنبورکمیت و کیفیت پروتئین برای تکامل غدد شیری و بهبود ترشح ژل رویال مورد توجه قرار گیرد.

منابع

1-Simpson, J.(1960). The functions of the salivary glands of *Apis mellifera*. Journal of Insect Physiology. 2(4 :107-121.

2-Crailsheim, K.(1990). The protein balance of the honey bee worker. Apidologie. 21(5): 417-429.

3-Winston, M.(2006). The biology of the honey bee.

4-Deseyn, J. and J. Billen.(2005). Age-dependent morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of *Apis mellifera* workers (Hymenoptera, Apidae). Apidologie. 36(1): 49-57.11.

5-Ueno, T., et al.(2009). Differential gene expression in the hypopharyngeal glands of worker honeybees (*Apis mellifera L.*) associated with an age-dependent role change. Zoological science. 26(8): 557-563.

6-Takenaka, T., S. Miwa, and T. Echigo.(1990). Changes of protein content and enzyme activity in

[۸] Juvenile hormone
[۹] Juvenile hormone III

14- Apicult. Sci. 52: 5- 14-Mohebodini,H.,et al.(2013).effect of dietary thiamine on growyh of the iranian honey bee colonies(*Apis mellifera meda*)in different seasons. Agriculture & Forestry/Poljoprivreda i Sumarstvo. 59(3).

15-Maisonnasse, A., et al.(2010). E-β-Ocimene, a volatile brood pheromone involved in social regulation in the honey bee colony (Apis mellifera). PloS one. 5(10): 135-141.

16-Brouwers, E. (1982). Measurement of hypopharyngeal gland activity in the honeybee. Journal of Apicultural Research. 21.

17-Huang, Z.(2000). hypopharyngeal gland in honey bees, *Apis mellifera* (Api-dae: Hymenoptera).

18-Jassim, O., Z.Y. Huang, and G.E. Robinson.(2000). Juvenile hormone profiles of worker honey bees, *Apis mellifera*, during normal and accelerated behavioural development. Journal of Insect Physiology. 46(3): 243-249.

19-Rutz, W., et al.(1976). The function of juvenile hormone in adult worker honeybees, *Apis mellifera*. Journal of Insect Physiology. 22(11): 1485-1491.

20- Bloch, G., D.E. Wheeler, and G.E. Robinson.(2002). Endocrine influences on the organization of insect societies. Hormones, brain and behavior. 3: 195-235.

21-Brouwers, E.(1983). Activation of the hypopharyngeal glands of honeybees in winter. J. apic. Res. 22(3): 137-141.

22-Tamagawa Daigaku Nogakuba Kenkyu Hokoku Bulletin of the Faculty of Agriculture, Tamagawa University (30): 1-8.

hypopharyngeal glands during lifespan of honeybee workers (*Apis mellifera L.*).

7-Sagili, R.R., T. Pankiw, and K. Zhu-Salzman.(2005). Effects of soybean trypsin inhibitor on hypopharyngeal gland protein content, total midgut protease activity and survival of the honey bee (*Apis mellifera*. L.). Journal of Insect Physiology. 51(9): 953-957.

8-Pernal, S.F. and R.W. Currie.(2000). Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees *(Apis mellifera L)* .Apidologie. 31(3): 387-410.

9-Javaheri.S.,G.H.Tahmasbi, and S. Mirhadi. (2008).effect of pollen substitutes using some materials and protein supplements on the body composition of nurse bees.Journal of Agricultural science(university of Tabriz). 18(3): 199-208.

10-Weiren, W.G.W.Z.Y. and X. Baohua.(2011). Effects of Dietary Protein Levels on Hypopharyngeal Gland Development and Royal Jelly Production of *Apis mellifera L.* Chinese Journal of Animal Nutrition. **7**: 11-15.

11-Haydak, M.(2000). Changes with age in the appearance of some internal organs of the honeybee. Bee World. 38(8): 197-207.

12-Herbert, E. and H. Shimanuki.(1978). Action d'un regime deficient en thiamine ou en riboflavine sur des abeilles, *Apis mellifera L*. recemment ecloses. Apidologie. 9.

13-Zahra, A. and M .Talal.(2008). Impact of pollen supplements and vitamins on the development of hypopharyngeal glands and brood area in honey bees. J.

Growth hypopharyngeal glands and factors affecting the activity of the worker bees

Sadredini,A[1].,GH.Nehzati Paghale[2*].,F.Ghaziani[2]
1. M.sc., student of University of Tehran
2. Assistant Professor, University of Tehran

Abstract
Royal jelly is products secretory products of young workers is hypopharyngeal glands and mandibular glands. Studies have shown that mopphology and structure of these glands is related to the age of the bee. The factors affecting the activity of these glands, age, presence of vitamins, pheromones, fats and proteins is. As the impact of the materials for royal jelly is secreted not only by age but also by the division of labor and the need for bee colonies to produce it is also relevant.

Key words: honeybee, royal jelly, hypopharyngeal glands, mandibular glands