



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

آیدا سادات صدرالدینی^۱، غلامعلی نهضتی باقلعه^{۲*}، فاطمه غازیانی^۲

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

۲. گروه 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 ترشحات 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: زنبور عسل، ژل رویال، غدد هیپوفارنژیال، غدد آرواره ای

مقدمه

غدد غذا ساز

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 و فعالیت اصلی زنبورها در این سن، پرستاری از لاروها است. با تغییر مسیر به سوی فعالیت های نگهداری 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 مؤثر 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

غده های شیری دو ردیف کیسه های فشرده هستند که در اطراف سر قرار گرفته اند. ساختار اصلی این غدد آلوتول یا آسینوس هایی است که به صورت جفت به یک مجرای اصلی متصل شده اند. هر آلوتول حاوی تعدادی سلول ترشحاتی است. تعداد آلوتول های متصل به مجرای اصلی ۵۵۰ عدد و سلول های ترشحاتی هر آلوتول ۸-۱۲ 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

^۲ Alarm pheromone

^۱ Hydroxy decenoic acid





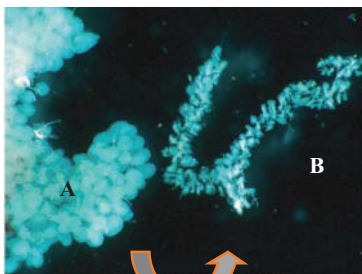
در غدد شیری در زنبورهای پرستار ۱۲ برابر چراگرها است [۵]. سنتز پروتئین در غدد شیری از سلول‌های نوزادی آغاز می‌شود. طی چهار روز اول زندگی افزایش یافته و تا سن ۲۰-۸ روزگی در سطح بالا باقی مانده و از ۲۲ روزگی کاهش می‌یابد. با استفاده از تکنیک SDS-PAGE ۲۲ باند پروتئینی در ترشحات غدد شیری مشاهده کرده‌اند که دامنه وزن مولکولی آن‌ها بین $10^4 \times 3$ تا $10^4 \times 19$ بوده است. در حالیکه برای پروتئین‌های ژل رویال ۲۰ باند جدا شده و وزن مولکولی آن‌ها بین $10^4 \times 3/5$ تا $10^4 \times 9/5$ گزارش شد. الگوی پروتئینی در ژل رویال شبیه پروتئین‌های تولید شده بوسیله غدد شیری است. آنزیم‌های گلوکز اکسیداز، آمیلاز و آلفا گلوکوسیداز در غدد شیری مشاهده شده در حالیکه در ژل رویال فقط آنزیم گلوکز اکسیداز وجود دارد [۶].

جدول ۴-۲- فعالیت آنزیمی در غدد شیری و ژل رویال (Takenaka, 1990).

ژل رویال	غدد شیری		آنزیم (واحد/میلی گرم پروتئین)
	روز ۵	روز ۳۰	
گلوکز اکسیداز	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

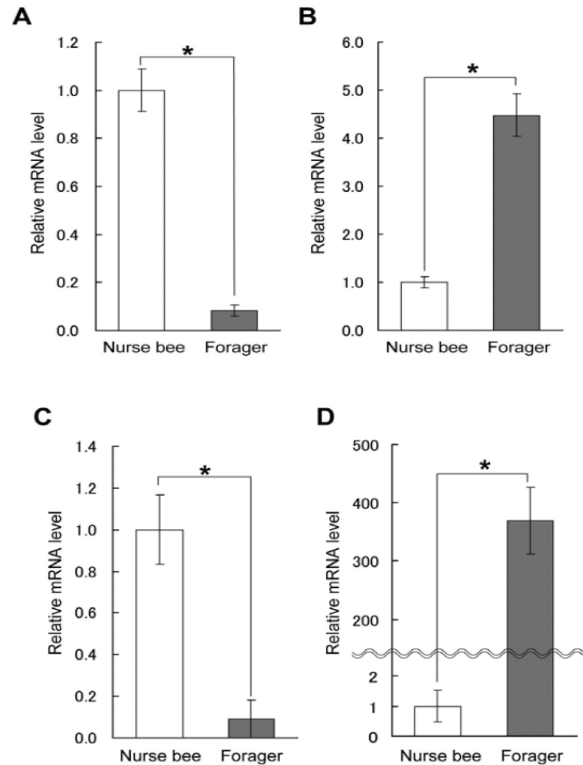
۱. سن زنبورها: بیشترین درصد مصرف کرده در زنبورهای ۱۰-۳ روزه می‌باشد و این میزان در زنبورهای ۱۲ روزه کاهش می‌یابد. حداکثر فعالیت این غده در سنین ۱۲-۶ روزگی می‌باشد و با افزایش سن از فعالیت و اندازه غده کاسته می‌شود [۴].



Degeneration

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

کربوهیدرات‌ها و تغییر سطح آن‌ها در سلول‌های ترشحی با توجه به سن زنبورها تغییر می‌یابد. دو ژن اصلی دخیل در این فرایند یکی ژن Bcl-2 است که مانند پروتئین اصلی ژل رویال عمل می‌کند و سطح بیان این ژن در زنبورهای پرستار بیش تر از چراگرها است و موجب تحریک سنتز پروتئین‌های اصلی ژل رویال می‌شود.



نمودار ۱- آنالیز کمی ژن‌های 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 می‌باشد که باعث تحریک سنتز پروتئین‌های اصلی ژل رویال می‌شود. در حالیکه سطح بیان ژن متالوپروتئیناز ۱ در زنبورهای چراگر بیش تر از پرستار است که منجر به تحریک سنتز آنزیم آلفا گلوکوسیداز می‌شود.

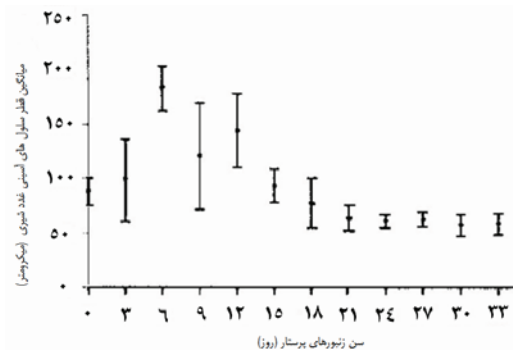
ژن بعدی متالوپروتئیناز ۱ که سطح بیان این ژن در زنبورهای چراگر بیشتر از زنبورهای پرستار است و باعث تحریک سنتز آلفا گلوکوسیداز می‌شود [۵]. تجزیه کمی RT-PCR نشان داده است که بیان ژن BCL-2، AmMMP1، MRJP2 و آلفا گلوکوسیداز



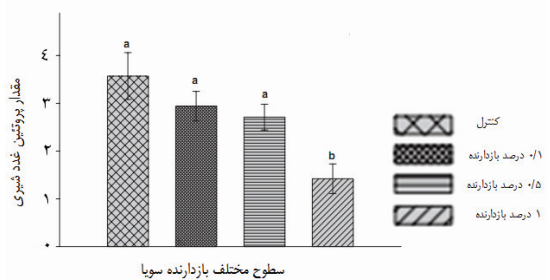


۲. تغذیه:

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 آسینی ها 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 ۶-۱۲ 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].



نمودار ۳- 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 کمتری 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 ۲و۱)، جایگزین گرده و مکمل گرده با استفاده از گلوتم (تیمار ۳ و ۴)، 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 و سینه 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]. ایرن (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 و طبق 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 ارگانیزم 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، ریوفلاوین 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

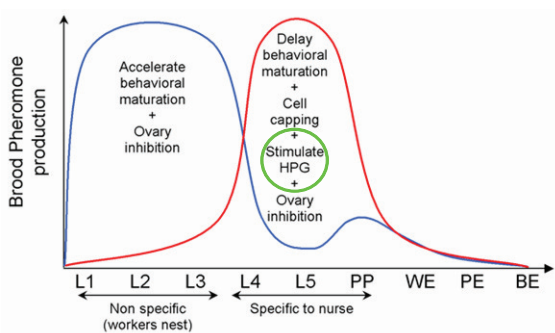




۳. **فرمون ها:** فرمون نوزاد^۵ زنبور عسل توسط لاروهای سنین ۵-۴ روزه ترشح می شود و با اثرات آغازگری و راه اندازی خود که ترکیبی از ۱۰ متیل و اتیل استر است می تواند در اجسام چربی^۶ و غده های کوتیکولی^۷ سنتز شود. رفتار تغذیه ای و چراگری زنبورهای کارگر را تعدیل می بخشد. همچنین جلوگیری از فعال شدن تخمدان کارگرا، 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 کارگرا را مهار کرده و باعث تسریع در سن چراگری زنبورهای کارگر می شود. نقطه جوش آن ۷۳ درجه سانتیگراد بوده و متعلق به خانواده ترین ها، بسیار ناپایدار و فرار و تمامی طبقات کارگرا 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].

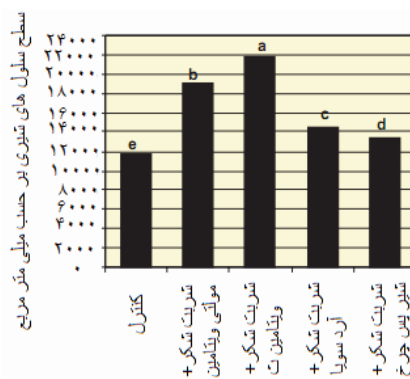
نمودار ۶- سطح تولید فرمون E-β-ocimene و فرمون نوزاد در لاروهای سنین ۵-۱ و شفیره



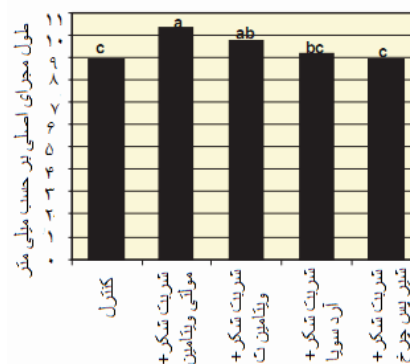
سطح بالای تولید فرمون E-β-ocimene در لاروهای سنین ۳-۱ باعث تسریع در بلوغ و مهار رشد تخمدان کارگرا می شود و تولید بالا فرمون نوزاد در سنین ۴-۵ و شفیرگی باعث تاخیر در

- ۵ Brood pheromone
- ۶ Fat body
- ۷ Cuticular glands

توسعه غدد شیری به منابع پروتئین خصوصاً 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 و همکاران (۲۰۱۳) بررسی کردند که تغذیه سطوح مختلف تیامین بر روی قطر آسینی ها تاثیر مثبت داشته است [۱۴].





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 زنبور عسل و تاثیرات 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 های زنبور عسل انجام شود. با توجه به اینکه استفاده از آنالوگ های 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 زنبور کمیت 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

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 اکسید کربن 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 دژنه 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

^۸ Juvenile hormone
^۹ Juvenile hormone III





14- Apicult. Sci. 52: 5-14-Mohebodini, H., et al. (2013). Effect of dietary thiamine on growth 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 régime déficient 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, A¹, G.H. Nehzati Paghale^{2*}, F. Ghaziani²

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 morphology 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

