

بررسی رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال در زنبورهای کارگر ایرانی (*Apis mellifera meda*) تغذیه شده با سطوح مختلف تیامین

- حسین محب الدینی (نویسنده مسئول)
استادیار گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی.
 - غلامحسین طهماسبی
استاد، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.
 - بهروز دستار
استاد دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
 - یوسف جعفری آهنگری
استاد دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
 - سعید زره داران
استاد دانشکده علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد.
- تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۴
شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۳۹۷۰۱۲۴۹۰
Email: Mohebodini@yahoo.com

چکیده

زنبور عسل به طیف وسیعی از مواد مغذی، به منظور تأمین نیازهای تغذیه‌ای خود جهت رشد و نمو، نیاز دارد. نیازهای ویتامینی زنبور عسل به خوبی شناخته نشده است. به همین منظور برای بررسی اثر تغذیه‌ای تیامین (ویتامین B₁) بر رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال زنبوران کارگر نژاد ایرانی (*Apis mellifera meda*) در فصول مختلف سال، آزمایشی سه مرحله‌ای تحت شرایط طبیعی در مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور انجام شد. در این آزمایش ۲۰ کلنی زنبور عسل در پنج گروه تغذیه‌ای با چهار تکرار مورد استفاده قرار گرفتند. کلنی‌های گروه کنترل با شربت شکر ۱:۱ و کلنی‌های آزمایشی به روش مشابه ولی با این تفاوت که شربت شکر با سطوح مختلف تیامین (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ پی.پی.ام) مکمل‌سازی شده بود، تغذیه شدند. عملیات صحرائی در سه فصل (تابستان، زمستان و بهار)، به مدت ۴۵ روز (۳۰ روز تغذیه با شربت و ۱۵ روز نمونه‌برداری بعد از تغذیه) در هر فصل انجام گرفت. برای بررسی رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال، طول و عرض ده آسینی برای هر زنبور کارگر در سنین ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ روزگی با استفاده از استریومیکروسکوپ و میکرومتر بر روی پنج زنبور کارگر در هر کلنی اندازه‌گیری شد. نتایج آزمایش نشان دادند که سطح آسینی غدد هیپوفارنژیال زنبورهای کارگر در کلنی‌های تغذیه شده با سطوح مختلف تیامین در فصول مختلف سال دارای اختلافات معنی‌داری بود. در فصل تابستان سطح آسینی در زنبورهای (۳ و ۶ روزگی) تغذیه شده با سطوح پایین تیامین (۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام) بیشتر بود ولی در فصل زمستان (۹، ۱۲ و ۱۵ روزگی) و بهار (تمام سنین) زنبورهای تغذیه شده با سطوح بالای تیامین (۳۰۰ و ۴۰۰ پی.پی.ام) سطح آسینی بیشتری داشتند ($P < 0.05$). در فصول مختلف سال اوج رشد غدد هیپوفارنژیال در سن ۶ یا ۹ روزگی بیشتر اتفاق افتاده بود ($P < 0.05$).

واژه‌های کلیدی: تیامین، زنبور عسل، *Apis mellifera meda*، غدد هیپوفارنژیال، فصل.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 110 pp: 203-212

The hypopharyngeal glands development in Iranian honey bee workers (*Apis mellifera meda*) fed with different levels of thiamine

Hossein Mohebodini^{1*}, Gholamhossein Tahmasebi², Behrouz Dastar³, Yousef Jafari Ahangari³ and Saeed Zerehdaran⁴

¹. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

². Professor, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

³. Professor, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

⁴. Professor, Department of Animal Sciences, Ferdowsi University of Mashhad

* Corresponding Author: mohebodini@yahoo.com

Received: March 2015

Accepted: August 2015

Honey bees need a range of elements to provide their nutritional requirements for normal growth and development. There is currently little information about the vitamin requirements in honey bees. Three trials were carried out at Honey Bee Department of Animal Science Research Institute of Iran. The experiments were carried out under natural condition to assess potential impacts of thiamine nutrition on the development of hypopharyngeal glands (HPGs) in honey bee workers (*Apis mellifera meda*) during different seasons. In this study, twenty honey bee colonies were divided into 5 experimental groups with 4 replications. Control groups (group 1) were fed sugar syrup (1:1). The experimental colonies in groups 2 and 5 were fed in the same manner but with syrup were supplemented with different levels of thiamine (100, 200, 300 and 400 ppm). The experiments were repeated for 45 days through the summer (Jul. 5, 2012 and Aug. 20, 2012), winter (Feb. 20, 2013 and Apr. 5, 2013) and spring (Apr. 27, 2013 and Jun. 13, 2013) seasons. To investigate the development of HPGs, length and width of ten acini for five worker bees in each replication with 3, 6, 9, 12 and 15 days were measured using a stereomicroscope and micrometer. The results showed that thiamine in diet affected the size of acinal area in HPGs. In summer, acini size was greater in honey bees (3 and 6 days) fed low level thiamine but in winter (9, 12 and 15 days) and spring (all ages) inverse effects were observed ($P < 0.05$). Hypopharyngeal glands development was high in different seasons at the age of 6 or 9 days.

Key words: Thiamine, Honey bee, *Apis mellifera meda*, Hypopharyngeal glands, Season

مقدمه

فرم‌های فعال آن هستند. تیامین دی‌فسفات یا تیامین پیروفسفات بهترین فرم کوآنزیمی و تیامین B₁ است که در کاتابولیسم قندها و آمینواسیدها شرکت می‌کند (Settembre و همکاران، 2003؛ Pohl و همکاران، 2004). حیوانات تیامین مورد نیاز خود را باید از طریق خوراک مصرفی خود به دست آورند که ضروری بودن این ماده مغذی را نشان می‌دهد (Du و همکاران، 2011). لارو زنبور عسل غذای خود را از یک جفت غده ترشحی به نام غده هیپوفارنژیال که در دو طرف سر زنبوران کارگر پشت چشم‌های مرکب وجود دارد، به دست می‌آورد. Herbert and Shimanuki (1978). در آزمایشی مشاهده کردند که غده هیپوفارنژیال زنبورهای تغذیه شده با جیره‌های ویتامینی کامل،

یکی از مشکلات عمده بیشتر زنبورداران عدم اطلاع کافی از تغذیه و نیازهای غذایی زنبور عسل می‌باشد. نیازهای ویتامینی زنبور عسل به خوبی شناخته نشده است ولی با وجود این، اثرات مثبت آن در پرورش نوزاد و رشد و نمو غده هیپوفارنژیال به اثبات رسیده است (Herbert, Haydak and Dietz, 1965؛ Huang, 2010؛ 1992). تیامین جزء ویتامین‌های محلول در آب می‌باشد (Mahan and Escott-Stump, 2000)، نوع تجاری آن، تیامین هیدروکلراید (بتاکسین) می‌باشد که پودری سفید رنگ بوده و به عنوان افزودنی غذایی استفاده می‌شود (Bocobza and Aharoni, 2008). تیامین در اصل شکل انتقالی ویتامین است، در صورتی که مشتقات فسفریله شده آن

دارد. مقدار ترشح به وسیله غدد هیپوفارنژیال در ارتباط با نیاز کلنی می‌باشد. DeGrandi-Hoffman و همکاران (2010) با بررسی اثر جیره (گرده، مکمل پروتئینی و شربت شکر) بر رشد و توسعه غدد هیپوفارنژیال در زنبورهای عسل کارگر مشاهده کردند که اندازه آسینی غده هیپوفارنژیال در دو گروه تغذیه شده با جیره پروتئینی اختلاف معنی‌داری نداشت اما زنبورهای تغذیه شده با شربت شکر غده هیپوفارنژیال کوچک‌تری داشتند. هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر سطوح مختلف تیمین روی رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال زنبوران عسل کارگر نژاد ایرانی (Apis mellifera meda) با سنین مختلف و در طی فصول مختلف سال بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تغذیه‌ای تیمین بر رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال زنبوران کارگر کلنی‌های زنبورعسل، آزمایشی سه مرحله‌ای در مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور در سال ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ انجام شد. مرحله اول آزمایش در فصل تابستان (از یک تیر تا ۱۵ مرداد سال ۹۱)، مرحله دوم در فصل زمستان (از یک اسفند سال ۹۱ تا ۱۵ فروردین سال ۹۲) و مرحله سوم در فصل بهار (از یک اردیبهشت تا ۱۵ خرداد سال ۹۲) صورت گرفت. در این تحقیق پنج تیمار آزمایشی با چهار تکرار (کندو) مورد استفاده قرار گرفتند. عملیات صحرایی در هر مرحله به مدت ۴۵ روز (۳۰ روز تغذیه با شربت ویتامینه و ۱۵ روز نمونه‌برداری و بررسی غدد هیپوفارنژیال) به طول انجامید. کلنی‌های زنبور عسل در شروع آزمایش از نظر جمعیت بالغ و نوزاد، میزان تخم‌ریزی و ذخیره غذایی در شرایط یکسانی قرار داشتند. برای این کار کلنی‌های مزبور در اوایل بهار تهیه و ملکه‌های مذکور در آن‌ها مستقر شدند. در این آزمایش، ۲۰ کلنی زنبور عسل در نقاط مختلف زنبورستان به صورت تصادفی پخش و تیمارهای آزمایشی نیز به صورت تصادفی به آن‌ها تخصیص یافتند. در این آزمایش برای اجتناب از اثر تفاوت‌های ژنتیکی بین کلنی‌ها از ملکه‌های همسن خواهری استفاده شد. برای شناسایی کندوهای آزمایشی در زنبورستان روی کندوها اسم و شماره تیمارها ثبت شده بود. پس از اتمام تغذیه

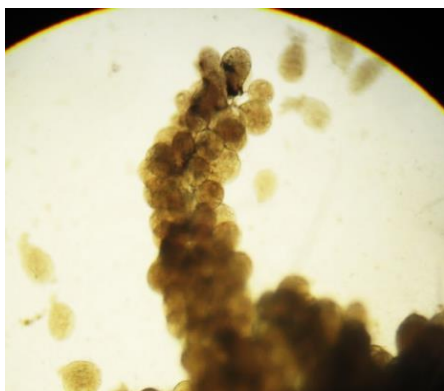
رشد بیشتری نسبت به زنبورهای تغذیه شده با جیره‌های دارای کمبود تیمین و ریبولوین داشتند. Pain (1965) ثابت کرد که ویتامین‌ها نقش اساسی در رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال دارند و برعکس اثر کمی روی طول عمر زنبورهای عسل دارند. غذای لارو، یک ترکیب پروتئینی به اسم ژله رویال است که از غده هیپوفارنژیال ترشح می‌شود (Huang و همکاران، 1989). در طی تابستان، لاروها توسط زنبوران پرستار ۵ تا ۲۰ روزه با غدد هیپوفارنژیال کاملاً رشد یافته که مقدار بیشتری از پروتئین را سنتز می‌کنند، تغذیه می‌شوند (Brouwers, 1982). در زمستان، زمانی که در کلنی حداقل میزان نوزاد وجود دارد، غدد به طور کامل رشد و نمو می‌کنند (هیپرتروفی) ولی مقدار کمی پروتئین تولید می‌کنند. هرچند وقتی که در بهار ملکه شروع به تخم‌ریزی می‌کند یا وقتی که نوزاد به صورت مصنوعی به کلنی اضافه می‌شود، سنتز پروتئین در غدد هیپوفارنژیال فعال شده و در عرض ۳ روز به حداکثر فعالیت خود افزایش می‌یابد (Brouwers, 1982, 1983). اندازه‌گیری غدد هیپوفارنژیال اغلب برای توصیف وضعیت فیزیولوژیکی زنبورهای عسل کارگر انجام می‌شود که به وسیله روش‌های مختلف از قبیل اندازه‌گیری آسینی (مفرد=Acini، جمع=Acinus، مجموعه‌ای از سلول‌های ترشح کننده‌ی ژله رویال هستند) تخمین زده می‌شود (Wang and Hrassnig and Crailsheim, 1998; Moeller, 1969). De Moraes and Bower (2000) گزارش کردند که غدد هیپوفارنژیال در زنبورهای پرستار که در حال ساخت غذای پروتئینی برای لاروها هستند از رشد خوبی برخوردار می‌باشند.

(Deseyn and Billen (2005) با بررسی ساختار و مشخصات ظاهری غدد هیپوفارنژیال در رابطه با سن زنبورهای عسل کارگر مشاهده کردند که تولید ترشحات سلول‌های مختلف در یک آسینی همزمان نمی‌باشد. وزیکول‌های ترشحي در ۳ روزگی نمایان و اوج تولیدشان در ۶ روزگی می‌باشد. برطبق یافته‌های (Deseyn and Billen (2005)، اندازه غدد هیپوفارنژیال همبستگی مثبتی با فعالیت غده داشته و مقدار ترشح در سلول‌های ترشحي غده نیز همبستگی مثبتی با اندازه آسینی

سینه علامت گذاری انجام می شد. برای علامت گذاری زنبورها در تیمارهای مختلف از رنگ های مختلف استفاده گردید. برای اندازه گیری رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال، به تعداد ۵ عدد زنبور عسل کارگر نشان دار شده از هر کلنی (تکرار) در هر زمان از نمونه برداری یعنی ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ روزگی انتخاب شدند. در هر فصل برای هر تیمار ۱۰۰ زنبور کارگر و در مجموع برای پنج تیمار ۵۰۰ زنبور کارگر نمونه برداری شدند. در همان روز نمونه برداری، سر زنبورهای عسل انتخاب شده جدا و در زیر استریومیکروسکوپ (SMZ140-NOKIN، ژاپن) با بزرگ-نمایی ۴X، غدد هیپوفارنژیال از داخل آن ها برداشته شد. اندازه طول و عرض آسینی غده های غوطه ور در محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد (ایزوتونیک نسبت به همولنف) زیر میکروسکوپ نوری (SFC2820-Motic و Zeiss-KF2، آلمان) با یک میکرومتر چشمی (Ocular micrometer-FYSCOPE-CR-1، چین) اندازه گیری شد. طول و عرض ۱۰ آسینی از قسمت های مختلف غده اندازه گیری، عکسبرداری (شکل ۲) و مساحت آن ها که به وسیله معادله زیر به دست می آید به عنوان شاخصی از رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال در نظر گرفته شد (Al-Ghamdi و همکاران، 2011).

$$\text{Acinal surface} = \frac{a \times b}{2} \times \pi$$

که $\pi = 3/14$ ؛ عرض آسینی = b؛ طول آسینی = a می باشد.



شکل ۲- غدد هیپوفارنژیال متشکل از لوبول هایی به نام آسینی

کلنی های آزمایشی در فصل تابستان، کلنی ها در فصل پاییز از نظر آفات و بیماری ها تیمار و برای زمستان گذرانی بسته بندی شدند. بررسی کلنی ها در زنبورستان هر روز انجام می گرفت. برای هر مرحله از آزمایش تغذیه کلنی ها با تیامین هیدروکلراید (Sigma® thiamin hydrochloride T-4625، آمریکا) صورت گرفت. برای آماده سازی شربت شکر به نسبت یک به یک، آب گرم و شکر را به نسبت مساوی با همدیگر مخلوط و در اختیار کلنی ها قرار گرفت. برای آماده سازی شربت شکر حاوی تیامین نیز مقادیر مورد نیاز تیامین در تیمارهای مختلف با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و به شربت شکر اضافه شدند. تیمارهای آزمایشی در جدول شماره ۱ آورده شده است. در این آزمایش نحوه تغذیه کلنی ها به این صورت بود که یک روز در میان شربت شکر حاوی تیامین و بدون تیامین با مقدار مشخص در ظروف شیشه ای دردار ریخته شد و به زنبورستان انتقال و بین کلنی ها پخش شد. در درون هر کندو یک ظرف شربت خوری وجود داشت که شربت به صورت دستی در داخل آن ریخته و مورد تغذیه کلنی ها قرار می گرفت. مقدار شربت برای همه کلنی ها یکسان بود. برای بررسی غدد هیپوفارنژیال در سنین مختلف، زنبورهای کارگر پس از تولد با استفاده از ماژیک مخصوص نشانه گذاری ملکه (Uni POSCA، ژاپن)، نشان دار شدند (شکل ۱). نشان دار کردن زنبورها به این صورت بود که زنبورهای تازه متولد شده در هر کلنی با دست مهار و سپس روی بخش پشتی



شکل ۱- نشاندار کردن زنبورهای کارگر تازه متولد شده

انجام گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS استفاده شد.

داده‌های حاصل از مراحل مختلف آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس شدند. مقایسه میانگین‌ها در بین تیمارها برای هر زمان با آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۵ درصد

جدول ۱- سطوح مختلف تیمین تغذیه شده در کلنی‌های آزمایشی (تیمارهای آزمایشی)

تیمار	سطح مصرف ویتامین B _۱
تیمار ۱ (شاهد)	یک لیتر شربت بدون تیمین در روز
تیمار ۲ (۱۰۰ ppm تیمین)	۱۰۰ میلی گرم تیمین در یک لیتر شربت در روز
تیمار ۳ (۲۰۰ ppm تیمین)	۲۰۰ میلی گرم تیمین در یک لیتر شربت در روز
تیمار ۴ (۳۰۰ ppm تیمین)	۳۰۰ میلی گرم تیمین در یک لیتر شربت در روز
تیمار ۵ (۴۰۰ ppm تیمین)	۴۰۰ میلی گرم تیمین در یک لیتر شربت در روز

نتایج و بحث

رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال در فصل تابستان

به طوری که بیشترین رشد غدد هیپوفارنژیال را کلنی‌های تغذیه شده با سطح ۲۰۰ پی‌پی‌ام تیمین در ۳ و ۶ روزگی داشتند. کلنی‌های تغذیه شده با سطح ۳۰۰ پی‌پی‌ام تیمین و شاهد کمترین رشد غدد را در ۳ و ۶ روزگی به خود اختصاص دادند. در ۹، ۱۲ و ۱۵ روزگی اختلاف معنی‌داری در بین کلنی‌های تغذیه شده با سطوح مختلف تیمین مشاهده نشد.

(تیر - مردادماه) میانگین رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال در فصل تابستان در ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ روزگی در جدول شماره ۲ آورده شده است. در ۳ و ۶ روزگی، میزان رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال در کلنی‌های تغذیه شده با ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام تیمین اختلاف معنی‌داری با کلنی‌های شاهد و تغذیه شده با ۳۰۰ پی‌پی‌ام تیمین داشتند.

جدول ۲- مقایسات میانگین داده‌های مربوط به سطح آسینی غدد هیپوفارنژیال (mm^۲) زنبورهای کارگر در سنین مختلف در فصل تابستان^۱

تیمارهای آزمایشی	۳ روزگی	۶ روزگی	۹ روزگی	۱۲ روزگی	۱۵ روزگی
شربت شکر (۱:۱)	۰/۰۷۰۷ ^{bc}	۰/۱۴۱۵ ^{bc}	۰/۱۹۶۹ ^{ns}	۰/۱۱۲۵ ^{ns}	۰/۰۹۹۲ ^{ns}
شربت+تیمین ۱۰۰ ppm	۰/۱۰۳۱ ^a	۰/۲۰۶۲ ^a	۰/۱۸۸۴ ^{ns}	۰/۱۸۷۰ ^{ns}	۰/۱۱۱۲ ^{ns}
شربت+تیمین ۲۰۰ ppm	۰/۱۰۷۳ ^a	۰/۲۱۴۷ ^a	۰/۱۶۸۱ ^{ns}	۰/۱۱۵۱ ^{ns}	۰/۱۱۳۴ ^{ns}
شربت+تیمین ۳۰۰ ppm	۰/۰۵۶۹ ^c	۰/۱۱۳۹ ^c	۰/۲۰۶۷ ^{ns}	۰/۱۴۷۸ ^{ns}	۰/۱۱۹۳ ^{ns}
شربت+تیمین ۴۰۰ ppm	۰/۰۸۸۸ ^{ab}	۰/۱۷۷۷ ^{ab}	۰/۲۰۴۱ ^{ns}	۰/۱۲۵۲ ^{ns}	۰/۱۰۱۷ ^{ns}
خطای استاندارد کل ^۲	۰/۰۰۵۷	۰/۰۱۱۴	۰/۰۰۸۹	۰/۰۱۳۱	۰/۰۰۵۹
df	۴	۴	۴	۴	۴
F	۹/۷۴	۹/۷۶	۰/۵۲	۱/۱۵	۰/۳۲
P	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۷۲	۰/۳۹	۰/۸۶

۱- a، b، c میانگین‌های هر ستون با حروف متفاوت در سطح آماری ۵ درصد دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (مقایسات میانگین در بین تیمارها برای هر زمان).

۲- SEM

۳- ns: نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار مابین تیمارها در هر زمان است.

رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال در فصل شروع

فعالیت زنبور (اسفند- فروردین ماه)

مقایسه میانگین‌های رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال زنبورهای عسل در شروع فعالیت زنبور در جدول شماره ۳ آورده شده است. در ۳ و ۶ روزگی از سن زنبورهای تازه متولد شده هیچ اختلاف معنی-داری در رشد غدد هیپوفارنژیال بین کلنی‌های تغذیه شده با تیمامین مشاهده نشد. با توجه به جدول مقایسات میانگین در ۹ روزگی اختلافات آماری شدیدی در بین تیمارهای آزمایشی دیده می‌شود. به طوری که تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام تیمامین اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شربت شکر، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام تیمامین داشت. اما اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام و ۴۰۰ پی‌پی‌ام ملاحظه نشد. در سن ۹ روزگی زنبورهای عسل، کمترین و بیشترین مقدار رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال به ترتیب مربوط به تیمار شاهد، ۳۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام تیمامین بود. بین تیمارهای با

سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام تیمامین و همچنین بین تیمارهای ۳۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام تیمامین اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. همان طور که در جدول مشاهده می‌شود در سن ۹ روزگی، رشد غدد در کلنی‌های تغذیه شده با سطوح مختلف تیمامین اختلاف معنی-داری با کلنی‌های گروه شاهد داشتند. در سن ۱۲ روزگی نیز رشد غدد هیپوفارنژیال در بین کلنی‌های تغذیه شده با سطوح مختلف تیمامین یکسان بوده اما اختلاف آماری معنی‌داری با کلنی‌های گروه شاهد داشتند. در سن ۱۵ روزگی تیمار ۴۰۰ پی‌پی‌ام تیمامین اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام تیمامین داشت. در این زمان بین تیمار ۴۰۰ پی‌پی‌ام تیمامین و تیمارهای تیمامین اختلاف آماری معنی‌داری دیده نشد. در این سن تیمارهای ۲۰۰ و ۳۰۰ تیمارهای ۲۰۰ و ۳۰۰ دارای اثراتی یکسان بودند ($P > 0.05$).

جدول ۳- مقایسات میانگین سطح آسینی غدد هیپوفارنژیال (mm^2) در زنبورهای کارگر با سنین مختلف پس از متولد شدن درفصل فعالیت زنبور^۱

تیمارهای آزمایشی	۳ روزگی	۶ روزگی	۹ روزگی	۱۲ روزگی	۱۵ روزگی
شربت شکر (۱:۱)	۰/۱۲۵۶ ^{ns}	۰/۱۱۳۸ ^{ns}	۰/۱۰۴۶ ^d	۰/۰۸۸۹ ^b	۰/۰۶۹۹ ^c
شربت+تیمامین ۱۰۰ ppm	۰/۱۲۲۱ ^{ns}	۰/۱۴۲۱ ^{ns}	۰/۱۲۹۵ ^c	۰/۱۲۴۲ ^a	۰/۰۷۹۰ ^c
شربت+تیمامین ۲۰۰ ppm	۰/۱۳۰۸ ^{ns}	۰/۱۵۷۰ ^{ns}	۰/۱۴۳۹ ^{bc}	۰/۱۲۷۳ ^a	۰/۰۸۴۰ ^{bc}
شربت+تیمامین ۳۰۰ ppm	۰/۱۳۳۴ ^{ns}	۰/۱۳۲۱ ^{ns}	۰/۱۶۳۵ ^a	۰/۱۵۱۷ ^a	۰/۰۹۴۲ ^{ab}
شربت+تیمامین ۴۰۰ ppm	۰/۱۲۸۲ ^{ns}	۰/۱۴۱۳ ^{ns}	۰/۱۶۱۳ ^{ab}	۰/۱۵۲۶ ^a	۰/۱۰۵۶ ^a
خطای استاندارد کل ^۲	۰/۰۰۳۱	۰/۰۰۷۲	۰/۰۰۶۲	۰/۰۰۷۳	۰/۰۰۳۳
df	۴	۴	۴	۴	۴
F	۰/۲۶۹	۰/۷۲۱	۱۱/۱۱	۵/۹۳	۸/۹۴
P	۰/۸۹۱	۰/۵۹۲	۰/۰۰۲	۰/۰۱۶	۰/۰۰۱

۱- a, b, c میانگین‌های هر ستون با حروف متفاوت در سطح آماری ۵ درصد دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (مقایسات میانگین در بین تیمارها برای هر زمان).

۲- SEM

ns: نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در هر زمان است.

رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال در فصل بهار

(اردیبهشت - خرداد ماه)

روزگی کلنی‌های تغذیه شده با سطح ۴۰۰ پی‌پی‌ام تیامین سطح رشد غدد بالایی در مقایسه با سایر تیمارها داشتند که اختلافات بین این تیمارها نیز از لحاظ آماری معنی‌دار بود. در ۱۲ روزگی تیمارهای با سطح ۳۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام تیامین اختلاف آماری معنی‌داری با سایر تیمارها داشتند. در روز آخر بررسی غدد یعنی ۱۵ روزگی، رشد غدد برای تیمار ۴۰۰ پی‌پی‌ام تیامین در مقایسه با سایر تیمارها در بیشترین سطح خود حفظ شده بود که این اختلاف نیز از لحاظ آماری معنی‌دار بود.

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال زنبورهای عسل در فصل بهار در جدول ۴ آورده شده است. در این فصل رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال در تمام سنین اختلافات معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی داشت. به طوری که در سن ۳ روزگی زنبورهای عسل رشد غدد در بین تیمارهای تیامین یکسان بوده اما تنها تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام تیامین و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. در ۶ روزگی از سن زنبورهای عسل تیمار شاهد کمترین رشد و نمو غدد را در مقایسه با سایر تیمارها داشت. در ۹

جدول ۴- مقایسات میانگین سطح آسینی غدد هیپوفارنژیال (mm^۲) در زنبورهای کارگر با سنین مختلف پس از متولد شدن در فصل بهار^۱

تیمارهای آزمایشی	۳ روزگی	۶ روزگی	۹ روزگی	۱۲ روزگی	۱۵ روزگی
شریت شکر (۱:۱)	۰/۰۷۴۵ ^b	۰/۰۷۳۲ ^b	۰/۰۸۳۴ ^b	۰/۰۷۲۶ ^b	۰/۰۶۹۹ ^{bc}
شریت+تیامین ۱۰۰ ppm	۰/۰۹۳۲ ^{ab}	۰/۱۰۳۳ ^a	۰/۱۰۰۲ ^b	۰/۰۸۸۰ ^b	۰/۰۸۲۷ ^{bc}
شریت+تیامین ۲۰۰ ppm	۰/۰۸۰۷ ^{ab}	۰/۰۹۲۵ ^a	۰/۱۱۰۲ ^b	۰/۰۸۵۰ ^b	۰/۰۶۶۹ ^c
شریت+تیامین ۳۰۰ ppm	۰/۰۹۸۷ ^a	۰/۱۰۷۹ ^a	۰/۱۰۹۹ ^b	۰/۱۰۸۲ ^a	۰/۰۸۶۳ ^b
شریت+تیامین ۴۰۰ ppm	۰/۰۸۸۳ ^{ab}	۰/۰۹۰۶ ^{ab}	۰/۱۴۷۸ ^a	۰/۱۱۹۷ ^a	۰/۱۰۵۶ ^a
خطای استاندارد کل ^۲	۰/۰۰۳۰	۰/۰۰۵۹	۰/۰۰۶۱	۰/۰۰۴۵	۰/۰۰۳۸
df	۴	۴	۴	۴	۴
F	۳/۴۶	۴/۴۰	۳/۸۲	۴/۰۵	۷/۲۱
P	۰/۰۲۴	۰/۰۱۶	۰/۰۲۹	۰/۰۲۰	۰/۰۰۲

۱- a, b, c میانگین‌های هر ستون با حروف متفاوت در سطح آماری ۵ درصد دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (مقایسات میانگین در بین تیمارها برای هر زمان).

۲- SEM

این وجود نتایج آزمایش در ارتباط با رشد و نمو غدد با نتایج Al-Ghamdi و همکاران (2011) مغایرت دارد. آن‌ها گزارش کردند که سطح آسینی با افزایش سن افزایش یافته و در سن ۱۲ و ۱۵ روزگی به اوج رشد خود می‌رسد. که این مغایرت می‌تواند بر اثر اختلافات ژنتیکی، شرایط آب و هوایی، سطح پرورش نوزادان و نوع تغذیه کلنی باشد. در این آزمایش کمترین رشد سطح آسینی مربوط به کلنی‌های شاهد یعنی تغذیه شده با شربت شکر بود که با نتایج Al-Ghamdi و همکاران (2011) مطابقت دارد.

در این تحقیق اوج رشد آسینی در سن ۶ و ۹ روزگی در هر سه فصل اتفاق افتاد که با نتایج Knecht and Kaatz (1990)، Hrassnig and Crailsheim (1998)، Feng, Deseyn and Billen (2005) و همکاران (2009) مطابقت دارد. آن‌ها نشان دادند که رشد سطح آسینی زنبورهای کارگر تا سن ۶ و ۹ روزگی افزایش یافته و سپس رو به کاهش می‌گذارد. این محققان گزارش کردند که سطح آسینی در ۶ روزگی دو برابر سطح آسینی زنبورهای تازه متولد شده است. با

به مطالب گفته شده احتمالاً تیامین می‌تواند با اثرگذاری روی یک‌سری از آنزیم‌های شرکت‌کننده در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها اثرات مثبتی در عملکرد کلنی‌های زنبور عسل ایرانی داشته باشد.

در این آزمایش رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال به وسیله شرایط کلنی (تغذیه و سطح پرورش نوزادان اندازه‌گیری شده) و همچنین تغییرات فصلی تحت تأثیر قرار گرفته بود، که با گفته‌های Maurizio (1954) مطابقت دارد. سن زنبورها در این آزمایش رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال را در طی ۱۲ روز اول پس از تولد تحت تأثیر قرار داده است که با نتایج Alqarni (2006) مطابقت دارد.

به طور کلی نتایج آزمایش نشان دادند که در فصل تابستان تغذیه سطوح پایین تیامین (کمتر از ۲۰۰ پی‌پی‌ام) توسط کلنی‌های زنبور عسل باعث افزایش سطح آسینی غدد هیپوفارنژیال در زنبوران جوان با سن کمتر از ۶ روز می‌شود و در فصل زمستان و بهار تغذیه سطوح بالای تیامین (بیشتر از ۲۰۰ پی‌پی‌ام) منجر به افزایش سطح آسینی غدد در زنبوران با سن بیشتر از ۶ روز می‌شود.

منابع

- Al-Ghamdi, A. A., Al-Khaibari, A. M. and Omar, M. O. (2011). Consumption rate of some proteinic diets affecting hypopharyngeal glands development in honey bee workers. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 18:73-77.
- Alqarni, A. S. (2006). Influence of some protein diets on the longevity and some physiological conditions of honeybee *Apis mellifera* L. workers. *Journal of Biological Sciences*. 6:734-737.
- Bocobza, S. and Aharoni, A. (2008). Switching the light on plant riboswitches. *Trends in Plant Science*. 13:526-533.
- Brouwers E.V.M. (1982). Measurement of hypopharyngeal gland activity in the honey bees. *Journal of Apicultural Research*. 21:193-198.

اندازه غدد هیپوفارنژیال می‌تواند برای تخمین آسان فعالیت غدد و وضعیت فیزیولوژیکی زنبور عسل استفاده شود. محققان گزارش کردند که حضور نوزاد لاروی، فعالیت غذادهی به نوزادان (Huang and Otis, 1989) و حضور زنبورهای بالغ (Suzuki, 1988) در کندو همراه با مصرف پروتئین باعث تحریک رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال زنبورهای کارگر می‌شود. اندازه غدد هیپوفارنژیال که ارگان‌های اصلی برای ترشح ژله رویال هستند تحت تأثیر سن (Deseyn and Billen, 2005)؛ (Huang and Otis, 1989) و پروتئین خوراک (Hrassnig and Crailsheim, 1998) می‌باشد و با مقدار ترشح ژله رویال (Hrassnig and Deseyn and Billen, 1998) و وزن سر (Crailsheim, 1998) همبستگی مثبت دارد. وقتی زنبورهای کارگر پرستار تبدیل به زنبورهای کارگر صحرا (زنبورهای مزرعه) می‌شوند، حجم غدد هیپوفارنژیال به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته و شروع به ترشح آنزیم‌هایی مانند اینورتاز می‌کند (Knecht and Kaatz, 1990) این کاهش معمولاً در سن ۹ و ۱۲ روزگی اتفاق می‌افتد. اوج رشد آسینی در سن ۶ روزگی زنبورها در طی فصل تابستان اتفاق می‌افتد زمانی که زنبورهای کارگر مشغول تغذیه لاروها با ژله رویال هستند که در این آزمایش نیز مشاهده شد اما بعد از ۱۵ روزگی رشد آسینی شروع به کاهش می‌کند (Hrassnig and Crailsheim, 1998).

تیامین یا مشتقات آن در تنظیم بیان ژن چندین آنزیم درگیر هستند. این آنزیم‌ها عبارتند از ترانس کتولاز، پیرووات‌دهیدروژناز و آلفا-کتوگلوکوتارات‌دهیدروژناز که در کاتابولیسم کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها دخالت دارند (Singleton and Martin, 2001). آنزیم‌های وابسته به تیامین پیروفسفات از قبیل پیرووات‌دهیدروژناز، آلفا کتوگلوکوتارات‌دهیدروژناز، ترانس کتولاز و استوهیدروکسی‌اسید سینتاز درگیر در واکنش‌های آنزیمی متابولیسم کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها هستند. (Du و همکاران، 2011). کمبود تیامین منجر به کاهش سطح بیان ژن این آنزیم‌ها در سلول می‌شود (Singleton and Martin, 2001). با توجه

- Brouwers E.V.M. (1983). Activation of the hypopharyngeal glands of honey bees in winter. *Journal of Apicultural Research*. 22:137-141.
- DeGrandi-Hoffman, G., Chen, Y., Huang, E. and Huang, M. H. (2010). The effect of diet on protein concentration, hypopharyngeal gland development and virus load in worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology*. 56:1184-1191.
- De Moraes, S. R. L. and Bower, I. D. (2000). Modes of cell death in the hypopharyngeal gland of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Cell Biology International*. 24:737-743.
- Deseyn, J. and Billen, J. (2005). Age-dependent morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of *Apis mellifera* workers (Hymenoptera, Apidae). *Apidologie*. 36:49-57.
- Du, Q., Wang, H. and Xie, J. (2011). Thiamin (Vitamin B1) biosynthesis and regulation: A rich source of antimicrobial drug targets. *International Journal of Biological Sciences*. 7:41-52.
- Feng, M., Fang, Y. and Li, J. (2009). Proteomics analysis of honeybee worker (*Apis mellifera*) hypopharyngeal gland development. *Bio Med Central Genomics*. 10:645.
- Haydak, M.H. and Dietz, A. (1965). Influence of the diet on the development and brood rearing of honeybees. Proc International Beekeeping Congress, Bucharest. 20:158-162.
- Herbert, E. W. J. (1992). Honey bee nutrition. In Graham, J E (ed.). The hive and the honey bee. Dadant and Sons Inc.; Hamilton, IL, USA: 197-233.
- Herbert, E.W. and Shimanuki, H. (1978). Effects of thiamine or riboflavin deficient diet fed to new emerged honey bees, *Apis mellifera* L. *Apidologie*. 9:341-348.
- Hrassnig, N. and Crailsheim, K. (1998). Adaptation of hypopharyngeal gland development of the brood status of honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Journal of Insect Physiology*. 44:929-939.
- Huang, Z. (2010). Honey Bee Nutrition. *American Bee Journal*. 1-8.
- Huang, Z. Y. and Otis, G. W. (1989). Factors determining hypopharyngeal gland activity of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insectes Sociaux*. 36:264-276.
- Huang, Z. Y., Otis, G. W. and Teal, P. E. A. (1989). Nature of brood signal activating the protein synthesis of hypopharyngeal gland in honey bees, *Apis mellifera* (Apidae:Hymenoptera). *Apidologie*. 20:455-464.
- Knecht, D. and Kaatz, H. H. (1990). Patterns of larval food production by hypopharyngeal glands in adult worker honey bees. *Apidologie*. 21: 457-468.
- Mahan, L. K. and Escott-Stump, S. (2000). Krause's food, nutrition and diet therapy (10th ed.). Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Maurizio, A. (1954). Pollen nutrition and life process of honey bee. *Landwirtsch Jahrb Schweiz*. 68:115-186.
- Pain, J. (1965). Vitamin and ovarian development of worker bees. *Sciete de Biologie, Paris*. 145:1505-1507.
- Pernal S. F. and Currie, R. W. (2000). Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*. 31: 387-409.
- Pohl, M., Sprenger, G.A. and Muller, M. (2004). A new perspective on thiamine catalysis. *Current Opinion in Biotechnology*. 15: 335-42.
- Settembre, E., Begley, T.P. and Ealick, S.E. (2003). Structural biology of enzymes of the thiamin biosynthesis pathway. *Current Opinion in Structural Biology*. 13:739-47.
- Singleton, C. K. and Martin, P. R. (2001). Molecular mechanisms of thiamine utilization. *Current Molecular Medicine*. 1: 197-207.

Suzuki, K. (1988). The development of hypopharyngeal glands in honey bee workers, *Bulletin of the Faculty of Education, Chiba University*. 36: 93-101.

Wang, D.I. and Moeller, F.E. (1969). Histological comparisons of the development of hypopharyngeal glands in healthy and *Nosema* infected worker honey bees. *Journal of Invertebrate pathology*. 14:135-142.

□ □ □ □ □ □ □ □ □ □