

## اثرات پرتوتابی گاما بر قابلیت هضم گرده زنبورعسل و رشد و تکامل غدد هیپوفارنژیال

### زنبورعسل پرستار

#### INC29-1001

#### پروین شورنگ\*، فاطمه امیری

پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، صندوق پستی: ۸۳۶-۱۴۳۹۵، تهران-ایران

#### چکیده:

با هدف تعیین اثرات پرتوتابی گاما بر قابلیت هضم گرده زنبورعسل و رشد و تکامل غدد هیپوفارنژیال زنبورعسل پرستار، نمونه‌های گرده با دزهای صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری توسط پرتوهای گاما پرتوتابی شد. همچنین، قابلیت هضم گرده با استفاده از روش نگهداری در قفس و نمونه‌برداری راست روده انجام شد. اثرات پرتوتابی گاما بر رشد و تکامل غدد هیپوفارنژیال زنبورعسل با استفاده از ۱۶ کندو (۴ تیمار ۴ تکرار) انجام شد و داده‌های آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS، آنالیز شد. نتایج نشان داد که گرده پرتوتابی شده با دز ۲۰ و ۳۰ کیلوگری قابلیت هضم بیشتری نسبت به سایر تیمارها دارد ( $P < 0.05$ ). قطر غدد هیپوفارنژیال زنبورهای عسل پرستار در تیمارهای ۲۰ و ۳۰ کیلوگری بیشترین بود ( $P < 0.05$ ). طبق نتایج این پژوهش از دز ۲۰ کیلوگری پرتو گاما می‌توان برای تغییر ساختار پروتئین گرده و افزایش کیفیت پروتئین آن جهت تغذیه زنبورهای پرستار استفاده کرد.

**کلیدواژه‌ها:** پرتوتابی گاما، قابلیت هضم، گرده زنبورعسل، غده هیپوفارنژیال

## The effects of gamma radiation on honeybee pollen digestibility and the growth and development of Nurse bee hypopharyngeal glands

P. Shawrang\*, F. Amiri

Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, P.O. Box: 14395-836, Tehran, Iran.

#### Abstract:

In order to determine the effects of gamma radiation on the digestibility of honey bee pollen and the growth and development of hypopharyngeal glands of nurse bee, zero, 10, 20 and 30 kGy doses of gamma radiation were used. Also, pollen digestibility was determined by using the method of cage storage and rectal sampling. The effects of gamma radiation on the growth and development of the hypopharyngeal glands of honeybees were performed using 16 hives (4 treatments and 4 replications). Data were analysed based on completely randomized design by SAS Software. The results showed that irradiated pollen with doses of 20 and 30 kGy has more digestibility than other treatments ( $P < 0.05$ ). The diameter of the hypopharyngeal glands of nurse bees was the largest in the 20 and 30 kGy treatments ( $P < 0.05$ ). According to the results of this research, a dose of 20 kGy of gamma rays can be used to change the protein structure of pollen and increase its protein quality to feed nurse bees.

**Keywords:** Gamma radiation, Digestibility, Bee pollen, Hypopharyngeal gland

**۱. مقدمه:**

زنبورهای کارگر در دو هفته اول پس از تولد به دلیل داشتن قدرت تولید ژل رویال، نقش پرستار دارند و در این مدت به تغذیه ملکه و لاروها می‌پردازند. رشد و تکامل غدد هیپوفارنژیال، که وظیفه تولید ژل رویال را در زنبورهای پرستار دارد، به شدت تحت تأثیر نوع و کیفیت پروتئین، چربی، ویتامین، اسیدآمینه و مواد معدنی موجود در جیره غذایی این زنبورها است [۱]. زنبورهای پرستار در ۱۲ ساعت پس از تولد شروع به مصرف گرده می‌کنند. بیشترین مقدار گرده در حدود ۵ روزگی مصرف می‌گردد و مصرف گرده از روز ۸ الی ۱۰ به تدریج کاهش می‌یابد [۲]. زنبورهای پروازی به ندرت از دانه گرده استفاده می‌کنند؛ بنابراین ارزش غذایی دانه گرده برای زنبورهای پرستار مهم‌تر از زنبورهای پروازی است. کیفیت پروتئین جیره زنبورعسل به شدت رشد و تکامل غده هیپوفارنژیال، تخمدان‌ها، طول عمر، هضم و مصرف گرده و شاخص همولنف را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کیفیت پروتئین گرده بستگی به منبع آن (نوع گل) دارد. برخی منابع گرده مثل کلزا گرده کیفیت پایین‌تری دارند [۱]. پرتوتابی با واسرشت کردن پروتئین و به سطح آوردن گروه‌های آبگریز نقش مهمی در افزایش قابلیت هضم و در دسترس قرار دادن پروتئین برای جایگاه‌های فعال آنزیم‌های گوارشی هضم‌کننده پروتئین دارد [۳]. هدف مطالعه حاضر تعیین دز مناسب پرتوتابی گاما به منظور ارتقای کیفیت پروتئین گرده زنبورعسل و مطالعه اثرات آن بر رشد و تکامل غدد هیپوفارنژیال زنبورعسل پرستار بود.

**۲. روش کار:**

**پرتوتابی نمونه‌های گرده:** پرتوتابی نمونه‌های گرده با دزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری با دستگاه پرتودهنده تحقیقاتی GC-220 (Gamma Cell 220) دارای چشمه کبالت-۶۰ با اکتیویته ۴۳۵۰ کوری انجام شد. پرتوتابی گاما با نرخ متوسط ۱/۰۵ گری در ثانیه و با دقت بیش از ۹۰ درصد انجام شد.

**اندازه‌گیری مقدار چربی و پروتئین گرده:** برای اندازه‌گیری چربی خام ابتدا ۰/۵ گرم نمونه گرده بر روی کاغذ صافی در داخل دستگاه سوکسله قرار داده شد و با استفاده از دی‌اتیل‌اتر به مدت ۳ ساعت شست‌وشو گردید. پس از عصاره‌گیری، نمونه‌ها در آن خشک و اختلاف وزن قبل و بعد از عصاره‌گیری به‌عنوان درصد چربی یادداشت شد [۴]. برای اندازه‌گیری پروتئین حقیقی گرده نیز مقدار ۰/۰۱ گرم گرده با ۷۵۰ میکرولیتر بافر استخراج، مخلوط و به مدت ۳ دقیقه حرارت داده شد. سپس نمونه، به همراه مقدار ۲۰ میکرولیتر محلول رویی و ۳ میلی لیتر محلول برادفورد، که شامل ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی بریلیانت‌بلو، ۴۰ میلی لیتر متانول و ۱۲۰ میلی لیتر اسید فسفریک است، در سانتریفیوژ با دور ۱۰ هزار و به مدت دو دقیقه مخلوط شد. در نهایت، جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر، بعد از صفر کردن دستگاه با محلول بلانک در طول موج ۵۹۵ نانومتر، قرائت شد. در نمونه بلانک به‌جای نمونه، آب مقطر اضافه شد و باتوجه به نمودار استاندارد با استفاده از آلبومین سرم گاوی، غلظت پروتئین حقیقی نمونه‌ها برآورد شد [۴].

**تعیین قابلیت هضم گرده:** برای تعیین قابلیت هضم، گرده زنبورهای کارگر تازه متولد شده (کمتر از ۲۴ ساعت) از کلونی‌ها جمع‌آوری و در قفس‌های پلاستیکی حمل ملکه قرار داده‌شد. کلیه قفس‌ها در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۵۵ درصد رطوبت قرار گرفتند. برای تعیین مصرف و هضم پروتئین از ۳ قفس و در هر قفس ۱۰ زنبور از هر کندو استفاده شد. زنبورها در داخل قفس با کیک گرده حاوی ۴ نوع گرده (پرتوتابی نشده و پرتوتابی شده با ۳ دز مختلف) به مدت ۷۲ ساعت تغذیه شدند. پس از ۳ روز انکوباسیون و تغذیه از کیک گرده نمونه‌برداری از رکتوم و غدد هیپوفارنژیال انجام شد.

مقدار کیک گرده قبل از قرارگیری در قفس توزین گردید و جهت محاسبه مقدار کیک مصرفی، بعد از ۳ روز مجدداً باقی‌مانده کیک گرده توزین شد. سپس برای تخلیه دستگاه گوارش ۷۲ ساعت گرسنگی اعمال شد و در طی این مدت فقط آب و عسل به زنبورها داده شد. در پایان گرسنگی، محتویات رکتوم زنبورها جمع‌آوری گردید. مقدار پروتئین کیک گرده و باقی‌مانده کیک گرده در قفس و مقدار پروتئین محتویات رکتوم اندازه‌گیری و سپس مقدار مصرف کیک گرده و مقدار هضم پروتئین محاسبه شد. برای محاسبه مقدار کیک گرده مصرفی، تفاوت وزن کیک گرده در روز اول و سوم به

تعداد زنبورهای داخل قفس تقسیم شد. برای محاسبه قابلیت پروتئین یک گرده تفاضل پروتئین یک گرده مصرف شده و محتویات رکتوم تقسیم بر مقدار پروتئین یک گرده مصرف شده شد.

**اندازه‌گیری قطر غدد هیپوفارنژیال:** از هر قفس، ۳ زنبور کارگر به طور تصادفی برای اندازه‌گیری قطر غدد هیپوفارنژیال انتخاب شدند. هر جفت غدد هیپوفارنژیال در زیر لوپ از سر زنبورهای کارگر برداشته شده، بر روی لام شیشه‌ای همراه یک قطره سرم فیزیولوژیک قرار گرفته و زیر میکروسکوپ مجهز به دوربین دیجیتال قطر آسینی‌های غدد اندازه‌گیری شد. برای هر زنبور، به طور تصادفی تعداد ۱۰ آسینی به ازای هر غده اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری سطح آسینی میانگین حداکثر طول و حداکثر عرض آسینی در عدد  $3/14$  ضرب شد.

**مدل آماری:** طرح آزمایشی کاملاً تصادفی و مدل آماری  $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$  بود. در این مدل  $Y_{ij}$  مقدار هر مشاهده،  $\mu$  میانگین،  $T_i$  اثر تیمار  $i$  و  $e_{ij}$  خطای آزمایش می‌باشد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شد و از آزمون دانکن در سطح معنی‌دار  $0/05$  برای مقایسه میانگین استفاده گردید.

### ۳. نتایج و بحث:

مقدار پروتئین و چربی گرده زنبورعسل قبل و بعد از پرتوتابی در جدول ۱ گزارش شده است. پرتوتابی با دزهای مختلف سبب افزایش مقدار چربی و پروتئین حقیقی دانه گرده شد ( $P < 0/05$ ). بین دزهای مختلف پرتوتابی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). پرتوتابی مقدار پروتئین حقیقی را ۲۸ درصد و مقدار چربی خام را ۴۴ درصد افزایش داد ( $P < 0/05$ ).

**جدول ۱:** مقدار چربی و پروتئین گرده زنبورعسل قبل و بعد از پرتوتابی (درصد)

تیمار آزمایشی	پروتئین حقیقی	چربی خام
شاهد	۱۴/۴۳ <sup>b</sup>	۹/۷۶ <sup>b</sup>
۱۰ کیلوگری	۱۷/۷۹ <sup>a</sup>	۱۲/۳۰ <sup>a</sup>
۲۰ کیلوگری	۱۸/۰۲ <sup>a</sup>	۱۲/۶۷ <sup>a</sup>
۳۰ کیلوگری	۱۸/۳۴ <sup>a</sup>	۱۳/۰۳ <sup>a</sup>
اشتباه معیار	۰/۹۸۲	۰/۷۴۵

درج حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0/05$ )

دلیل افزایش مقدار پروتئین و چربی دانه گرده در اثر پرتوتابی، مربوط به اثر پرتو در جداسازی پروتئین و چربی‌های درگیر با سایر ترکیبات گرده است، بنابراین افزایش مقدار چربی و پروتئین قابل سنجش می‌باشد. در مطالعات عصاره‌گیری از ترکیبات، گزارش شده است که پرتوتابی بازده عصاره‌گیری را افزایش می‌دهد [۵].

**جدول ۲:** قابلیت هضم گرده و قطر و سطح آسینی غدد هیپوفارنژیال زنبور پرستار

تیمارها	قابلیت هضم (درصد)	قطر آسینی (mm)	سطح آسینی (mm <sup>2</sup> )
شاهد	۶۳/۱۵ <sup>c</sup>	۰/۲۴۱ <sup>b</sup>	۰/۶۱۷ <sup>b</sup>
۱۰ کیلوگری	۶۴/۲۸ <sup>c</sup>	۰/۲۷۹ <sup>b</sup>	۰/۷۱۴ <sup>b</sup>
۲۰ کیلوگری	۶۷/۳۹ <sup>b</sup>	۰/۳۴۸ <sup>a</sup>	۰/۸۹۱ <sup>a</sup>
۳۰ کیلوگری	۷۸/۲۱ <sup>a</sup>	۰/۳۲۷ <sup>a</sup>	۰/۸۳۸ <sup>a</sup>
اشتباه معیار	۱/۸۲۴	۰/۰۳۲۸	۰/۰۹۸۲

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) می‌باشد.

قابلیت هضم پروتئین گرده، سطح و قطر آسینی غدد هایپوفارنژیال زنبورهای تغذیه شده با یک گرده حاوی گرده پرتوتابی نشده و پرتوتابی شده با دزهای مختلف پرتو گاما در جدول ۲ گزارش شده است. طبق نتایج گرده پرتوتابی شده با دز ۲۰ و ۳۰ کیلوگری قابلیت هضم بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشت ( $P < 0.05$ ). قابلیت هضم پروتئین گرده پرتوتابی شده با دز ۲۰ و ۳۰ کیلوگری نیز با هم تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0.05$ ). دز ۳۰ کیلوگری بیشترین تأثیر را بر قابلیت هضم پروتئین گرده داشت. قابلیت هضم پروتئین گرده در تیمار ۳۰ کیلوگری ۲۳ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد.

سطح و قطر آسینی غدد هایپوفارنژیال زنبورهای غسل پرستار در تیمارهای ۲۰ و ۳۰ کیلوگری بیشترین بود ( $P < 0.05$ ). سطح آسینی زنبورهای پرستار تغذیه شده با گرده پرتوتابی شده با دز ۳۰ کیلوگری ۳۵ درصد افزایش یافت. افزایش قابلیت هضم پروتئین گرده در اثر پرتوتابی به معنی فراهمی بیشتر آمینواسیدها در محل جذب است، از طرفی همبستگی مستقیمی بین فعالیت غدد هایپوفارنژیال و مقدار و کیفیت پروتئین جیره غذایی زنبور پرستار وجود دارد. تکامل غدد هایپوفارنژیال بشدت با کیفیت پروتئین در ارتباط است [۱]. مطالعات نشان داده است که فعالیت غده هایپوفارنژیال در صورتیکه زنبورها دچار کمبود طولانی مدت پروتئین باشند کاهش می‌یابد [۲].

#### ۴. نتیجه‌گیری:

با توجه به یکسان بودن اثرات دزهای ۲۰ و ۳۰ کیلوگری، از دز ۲۰ کیلوگری پرتو گاما می‌توان برای تغییر ساختار پروتئین گرده و افزایش کیفیت پروتئین آن جهت تغذیه زنبورهای پرستار استفاده کرد.

#### مراجع

1. Ying Wang, Lan-Ting Ma, Xiao-Bo Hang, Wei-Ren Yang, Feng Liu. 2014. Digestion of protein of two pollen types in China by the honeybee (*Apis mellifera* L). *Apidologie*, Springer Verlag, 45 (5), pp.590-600.
2. Lan J, Ding G, Ma W, Jiang Y, Huang J. 2021. Pollen Source Affects Development and Behavioral Preferences in Honey Bees. *Insects*. 2;12(2):130
3. Shawrang P, Nikkhah A, Zare SA, Sadeghi AA, Raisali G, Moradi SM. 2008. Effects of gamma irradiation on chemical composition and ruminal protein degradation of canola meal. *Radiat. Phys. Chem.* 77:918-922.
4. Shawrang P, AA, Sadeghi, M. Aminafshar. 2011. Analysis of biological compounds. Islamic azad university science and research branch Publication. Tehran. Iran. (In Persian).
5. Heidarieh, M., P. Shawrang, M. Akbari, H. Heidarieh. 2015. Proximate analysis of different groups of irradiated alginic acid. *International Journal of Radiation Research*, 13 (1): 91-94.