13 (2) 325-332, Summer 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

The effect of L-Threonine, L-Lysin and L-Methionine on body weight, protein and lipid reservation of honey bee (*Apis mellifera*)

Morteza Mortazavi [1], Mohammad Chamani [*1], Mehdi Amin Afshar [1], Aliasghar Sadeghi [1], Gholamhossein Tahmasebi [2]

[1] Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences and Food Industry, Research Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

Key Words

Amino acids
Hive
Overwintering
Protein

Abstract

Introduction: Protein nutrition and amino acid (AA) supply have a positive effect on survival and immunity of bee colonies. The aim of this study was to evaluate the effect of L-Methionine, L-Lysin, and L-Threonine on body weight, protein, and lipid reservation of honey bees.

Materials & Methods: For this purpose, 78 beehives were randomly allocated into 13 groups and received one of the experimental treatments. Groups Met-1, Met-2 and Met-3 received 0.3, 0.6 and 1.2 gram in L-Methionine sugar nectar respectively. Groups Lys-1, Lys-2 and Lys-3 received 1.51, 3.02- and 6.05-gram L-Lysin in sugar nectar respectively, moreover, groups Thr-1, Thr-2, Thr-3 received 0.572, 1.145- and 2.29-gram L-Threonine in sugar nectar. In addition, the combination of three different levels of three different AA were considered as (L-Methionine, L-Lysin, and L-Threonine) MLT-1, MLT-2 and MLT-3 respectively. A group has also considered as control that did not receive any additional AA supplements. The body weight, body protein and lipid content have been assessed at the end of the experiment.

Result: The results of this study indicated that MLT-3 group showed higher body weight and protein content comparing to the other groups ($p \leq 0.05$). In addition, MLT-1 and MLT-2 showed higher body weight compared to the rest of the treatments ($p \leq 0.05$). Based on the result of this study, different levels of L-Methionine caused higher protein reservations compared to the control group ($p \leq 0.05$). The results show that L-Methionine, L-Lysin, and L-Threonine did not affect body lipid reservation of honey bees ($p \geq 0.05$).

Conclusion: In conclusion, the addition of a combination of L-Methionine, L-Lysin, and L-Threonine to diet, can increase body protein reserve and bodyweight leading to increase the productivity and survival of honey bee colonies.

* Corresponding Author's email: m.chamani@srbiau.ac.ir

Received: 27 May 2020; Reviewed: 8 July 2020; Revised: 10 August 2020; Accepted: 21 September 2020
(DOI): 10.22034/aej.2021.138662

مقاله پژوهشی

اثر آمینواسیدهای ضروری ال- لیزین، ال- متیونین و ال-ترئونین بر وزن، ذخیره پروتئین و چربی بدن زنبور عسل (*Apis mellifera*)

مرتضی مرتضوی[۱]، محمد چمنی[۱]، مهدی امین‌افشار[۱]، علی‌اصغر صادقی[۱]، غلامحسین طهماسبی[۲]*

[۱] گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[۲] موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

کلمات کلیدی

اسیدهای آمینه
پروتئین
زمستان‌گذرانی
کندو

چکیده

مقدمه: تغذیه پروتئین و تأمین اسیدهای آمینه مورد نیاز تاثیر مثبتی بر بقاء، زنده‌مانی، ایمنی و دیگر جنبه‌های سلامت زنبور عسل دارد. هدف از این مطالعه ارزیابی جیره‌های آمینواسیدی (ال- متیونین، ال- لیزین و ال- ترئونین) بر وزن بدن، ذخیره پروتئین و چربی بدن زنبور عسل بود.

مواد و روش‌ها: به این منظور تعداد ۷۸ کندوی زنبور عسل به ۱۳ گروه تغذیه‌ای تقسیم شد. تیمارهای Met-1، Met-2 و Met-3 به‌ترتیب ۰/۳، ۰/۶ و ۱/۲ گرم اسید آمینه ال- متیونین، تیمارهای Lys-1، Lys-2 و Lys-3 به‌ترتیب ۱/۵۱، ۳/۰۲ و ۶/۰۵ گرم اسید آمینه ال-لایزین و تیمارهای Thr-1، Thr-2 و Thr-3 نیز به‌ترتیب ۰/۵۷۲، ۱/۱۴۵ و ۲/۲۹ گرم اسید آمینه ال- ترئونین به‌ازای هر کندو دریافت کردند. هم‌چنین سطوح اول، دوم و سوم اسیدآمینه‌های ال-لیزین، ال-متیونین و ال-ترئونین باهم ترکیب شده و تیمارهای ترکیبی MLT-1، MLT-2 و MLT-3 نیز تعریف شدند. سپس گروه شاهد که صرفاً به‌صورت طبیعی تغذیه شده‌وهیچ‌گونه افزودنی اسیدآمینه‌ای دریافت‌نکرده بودنیز درنظر گرفته شد. پس از تغذیه کندوهای با تیمارهای مورد نظر، وزن خشک بدن، درصد ذخیره چربی و پروتئین بدن زنبوهای کارگر اندازه‌گیری شد.

نتایج: نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که گروه MLT-3 بیش‌ترین وزن بدن و بیش‌ترین ذخیره پروتئین را نسبت به سایر گروه‌ها از خود نشان داد ($p\leq۰/۰۵$). هم‌چنین گروه‌های MLT-1 و MLT-2 نیز نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری در وزن خشک زنبورها ایجاد کردند ($p\leq۰/۰۵$). براساس نتایج این پژوهش، درصد پروتئین بیش‌تری در بدن زنبورهای عسل تغذیه شده با سطوح مختلف متیونین نسبت به گروه شاهد ذخیره شده است ($p\leq۰/۰۵$). نتایج این آزمایش نشان داد که، اثر اسیدهای آمینه ال-متیونین، ال-لایزین و ال-ترئونین بر ذخیره چربی زنبورها معنی‌دار نبود ($p\geq۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری و بحث: نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن ترکیبی از اسیدهای آمینه ال-متیونین، ال-لایزین و ال-ترئونین به جیره زنبورهای عسل، سبب افزایش وزن و درصد پروتئین بدن می‌شود که می‌تواند در سطح تولید و زنده‌مانی کندو نقش مستقیمی داشته باشد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: m.chamani@srbiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۷ خرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۱۸ تیر ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۲۰ مرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۳۱ شهریور ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.138662

مقدمه

کلنی زنبورعسل برای ادامه حیات، فعالیت و رشد، به کربوهیدرات، پروتئین، چربی، آب، ویتامین و مواد معدنی نیاز دارد. زنبورهای عسل کربوهیدرات‌ها را به‌طور طبیعی عمدتاً از طریق شهدگل و پروتئین‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی را بیش‌تر از طریق گرده دریافت می‌کنند. پروتئین بیش‌تر در ساختمان ماهیچه‌ها و غدد استفاده می‌شود، هم‌چنین برای افزایش طول عمر، پرورش نوزاد، تولید ژل رویال و تولید عسل ضروری است. در مطالعه‌ای اشاره شده است که یک رژیم غذایی ضعیف و نادرست می‌تواند پیامدهای منفی در سلامت و حساسیت به انواع مختلف بیماری‌ها را داشته باشد (Wang و همکاران، ۲۰۱۴). هم‌چنین گزارش شده است که به‌طورکلی دانه گرده یا هر مکمل پروتئینی دیگر که برای زنبور مصرف می‌شود باید بیش از ۲۰ درصد پروتئین کل داشته باشد تا بتواند نیاز به اسید آمینه‌های ضروری را تأمین کند (Sumervil، ۲۰۰۱). متاسفانه در دهه‌های اخیر کاهش قابل توجهی در زیستگاه‌های طبیعی مشاهده شده، که این منجر به کاهش فراوانی و تنوع گل می‌شود (Glavinic و همکاران، ۲۰۱۷). بنابراین، با توجه به کمبود علوفه طبیعی (گرده و شهدگل) در بسیاری از مناطق، استفاده از رژیم‌های مکمل تغذیه‌ای پیشنهاد شده است که با کاهش استرس سبب کاهش تلفات کلنی‌ها می‌گردد (Brodschneider و Crailsheim، ۲۰۱۰؛ Stanimirovic و همکاران، ۲۰۱۷). مکمل‌های تغذیه زنبور عسل، عمدتاً جهت تامین اسیدهای آمینه و ویتامین‌ها در جیره غذایی زنبورهای عسل تغذیه می‌شوند (Glavinic و همکاران، ۲۰۱۷). اگرچه مطالعات نشان‌دهنده نقش مفید پروتئین‌های گرده گل در فرآیندهای فیزیولوژیکی، پرورش، رشد جمعیت بالغ و تولید ژل رویال است (Mattila و همکاران، ۲۰۰۶؛ DeGrandi-Hoffman و همکاران، ۲۰۰۸). با این حال، مطالعات علمی در مورد میزان اثر بخشی و تعیین دوز مناسب مصرف مکمل‌ها در جیره غذایی صورت نپذیرفته است. پروتئین‌های طبیعی در تغذیه زنبور عسل برای حفظ کلنی ضروری هستند، زیرا آن‌ها سلامت کلنی، واکنش‌های ایمنی، تحمل انگل و بقا (Basualdo و همکاران، ۲۰۱۴؛ DeGrandi-Hoffman و همکاران، ۲۰۱۶)، طول عمر زنبور (Li و همکاران، ۲۰۱۴) و تولیدمثل (Czekońska و همکاران، ۲۰۱۴) را تحت تاثیر قرار می‌دهند. استفاده از مکمل‌های پروتئین به طیف گسترده‌ای از اسیدهای آمینه ضروری و غیرضرری، در رژیم غذایی زنبورهای عسل دارای اثرات متغیری است. در این راستا Herbert و همکاران (۱۹۷۷) گزارش کردند که زنبورهای داخل کندو تغذیه شده یا جیره‌های با درصد بالای پروتئینی (۵۰ درصد) مرگ و میر بیش‌تری نسبت به کندوهای تغذیه شده با پروتئین کم‌تر دارند (۵ تا ۱۰ درصد). آن‌ها گزارش کردند که این افزایش مرگ و میر می‌تواند ناشی از عدم توانایی زنبورها در دفع مقدار زیاد پروتئین باشد. Hrassnigg و Crailsheim(۲۰۰۵) گزارش دادند که در صورت کمبود مواد غذایی پروتئین‌دار زنبورهای پرستار تا یک هفته می‌توانند از لاروها پرستاری کرده اما در این دوره لاروها به‌خوبی رشد و توسعه پیدا نمی‌کنند و کم کم حذف خواهند شد. در صورت حذف پروتئین از جیره زنبور، در مدت سه روز حدود ۱۱ درصد از پروتئین ذخیره‌ای بدن آن‌ها کاهش می‌یابد. هم‌چنین آن‌ها میزان پروتئین ماده خشک زنبور عسل کارگر را بین ۶۶ تا ۷۴ درصد گزارش نموده و اشاره کردند که درصد پروتئین در اوایل سن بالاتر از بقیه موارد است. در پژوهشی دیگر Amdam و همکاران(۲۰۰۹)، گزارش کردند که میزان پروتئین بدن زنبورها با توجه به فصل‌های سال تفاوت دارد آخرین نسل تولید شده زنبورهای کارگر در اواخر فصل تابستان ویژگی‌های فیزیولوژیکی و طول عمر مختلف دارند کارگران زمستان‌گذران و میزان پروتئین در بدن و همولنف آن‌ها در مقایسه با سایر دوره‌ها خیلی بیش‌تر گزارش شده است. بالارفتن مقدار پروتئین بدن زنبورها در بالا رفتن طول عمر زنبورها، آغاز به‌کار زنبورهای مزرعه و زمستان گذرانی اهمیت ویژه‌ای دارد. در گزارش دیگری Crailsheim (۱۹۹۰)، اعلام داشت که پروتئین مورد نیاز زنبورهای کارگر و نر در روزهای اول بالا بوده و حدود ۱/۷۵ تا ۲ میلی‌گرم برای هر زنبور در هر روز برآورده شده (mg/bee/day) و با افزایش سن به سرعت کاهش می‌یابد. برای برآورد میزان دقیق اسیدهای آمینه مورد نیاز زنبوران لازم است که اثر گرده‌های مختلف و جیره‌های مختلف را بر روی میزان تولید نوزاد، طول عمر و سایر شاخص‌های فیزیولوژیکی بررسی شود. اسیدآمینه‌های ضروری زنبورعسل با حیوانات اهلی تا حدودی متفاوت است. Brodschneider و Crailsheim (۲۰۱۰) ده اسیدآمینه را برای رشد زنبورعسل حیاتی دانستند که از بین آن‌ها اسید آمینه‌های محدودکننده در زنبورعسل به‌ترتیب اهمیت ایزولوسین، لوسین و والین هستند که در غذای اصلی زنبورها یعنی دانه گرده، بیش‌تر گیاهان کم‌تر از حد نیاز وجود دارند. اسیدآمینه مورد نیاز و ضروری در زنبورعسل توسط Cook و همکاران (۲۰۰۳) گزارش شده است. هم‌چنین در پژوهشی گزارش شده است که شایع‌ترین مکمل‌های تغذیه زنبور عسل، براساس تامین اسیدهای آمینه و ویتامین‌ها در جیره غذایی است (Glavinic و همکاران، ۲۰۱۷). مطالعات بسیار اندکی در مورد تغذیه اسیدهای آمینه ضروری بر فراسنجه‌های فیزیولوژیکی زنبورهای عسل صورت گرفته است. هم‌چنین با توجه به اینکه تغذیه مکمل‌های پروتئینی می‌تواند اثرات متفاوتی بر زنبورهای عسل داشته باشد، از این‌رو، این مطالعه با هدف اثر اسید آمینه‌های ضروری ال-متیونین، ال-لیزین و ال-ترئونین بر وزن، و ذخیره پروتئین و چربی بدن صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب یک طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ۱۳ تیمار (۱۲ تیمار تغذیه‌ای و یک تیمار شاهد) و ۶ تکرار در هر تیمار با تعداد ۷۸ کلنی زنبور عسل (از نوع کلنی‌های لانگستروت، Langstroth) در استان خراسان رضوی شهرستان چناران (گلمکان با ارتفاع ۱۱۷۶ متر بالاتر از سطح دریا در طول جغرافیایی۵۹/۰۳۷۷ شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶/۷۲۲۰ شمالی) با متوسط بارندگی سالیانه ۲۰۵ میلی‌متر و میانگین درجه حرارت ۱۳ درجه سانتی‌گراد و حداقل ۹ درجه زیر صفر انجام شد.

آماده‌سازی کلنی‌های آزمایش: در شروع اجرای طرح نسبت به مبارزه با کنه واروا (با استفاده از اسیدفرمیک) و پیشگیری از بیماری‌های‌نوزما(با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌فوماژیلین)، لوک آمریکایی و اروپایی (با استفاده از آنتی‌بیوتیک اکسی تتراسایکلین)، اقدام شد. در اوایل پائیز با شربت شکر (با نسبت ۲: ۳ آب به شکر) کلنی‌ها برای ذخیره غذایی و پرورش نوزاد و در کندو تغذیه گردیده و وجود ملکه و وضعیت تخم‌ریزی کندوها بررسی گردید. همه کندوها از نظر ذخیره عسل و گرده در شرایط مشابهی قرار داشتند. برای همسان‌سازی کندوها از یک زنبورستان با تعداد ۳۲۳ کلنی، تعداد ۷۸ کلنی که از نظر جمعیتی و تولید در سطح برابری قرار داشتند، انتخاب و برای به حداقل رساندن خطای آزمایش از ملکه‌های خواهری تولید شده در ابتدای سال ۹۷ برای هر کندو استفاده شد. هم‌چنین در این آزمایش کندوهایی که حاوی ۶ تا ۸ قاب بودند انتخاب شدند و با روش مشبک‌های ۵×۵ تعدادنوزان این کندوهااندازه‌گیری‌وبه‌صورت تصادفی کندوها در تیمارهای‌مختلف توزیع‌شدند. تمام کندوها از نظر جمعیتی یکسان بوده و دسترسی یکسانی به مواد غذایی داشتند. پیش از شروع آزمایش مشخصات کلنی‌های مورد آزمایش رکوردبرداری و ثبت شدند و میانگین عسل و گرده و جمعیت بالغین و نوزاد مشخص گردید سپس بعد از تعیین ویژگی‌های تولید و جمعیتی، کلنی‌ها به‌صورت تصادفی در بین گروه‌های تیماری تقسیم و شماره‌گذاری شدند.

تیمارهای آزمایشی: در این آزمایش تعداد تیمارها براساس نوع اسیدآمینه مصرفی تقسیم‌بندی گردیدند. سه نوع اسیدآمینه متیونین و ترئونین و لایزین با سطوح مختلف طبق جدول ۱، به محلول شکر غلیظ اضافه و به‌مدت ۴۵ (از تاریخ ۱۳۹۷/۰۸/۰۱ تا ۱۳۹۷/۰۹/۱۵) روز در‌دسترس‌زنبورها قرار‌گرفت.تیمارهای Met-1، Met-2 و Met-3 به‌ترتیب ۰/۳، ۰/۶ و ۱/۲ گرم اسیدآمینه ال- متیونین، تیمارهای Lys-1، Lys-2 و Lys-3 به‌ترتیب ۱/۵۱، ۳/۰۲ و ۶/۰۵ گرم اسیدآمینه ال-لایزین و تیمارهای Thr-1، Thr-2 و Thr-3 نیز به‌ترتیب ۰/۵۷۲، ۱/۱۴۵ و ۲/۲۹ گرم اسیدآمینه ال- ترئونین به‌ازای هر کندو دریافت کردند. هم‌چنین سطوح اول، دوم و سوم اسیدآمینه‌های ال- لیزین، ال- متیونین و ال- ترئونین باهم ترکیب شده و تیمارهای ترکیبی MLT-1، MLT-2 و MLT-3 نیز تعریف شدند. سپس گروه شاهد که صرفاً به‌صورت طبیعی تغذیه شده و هیچ‌گونه افزودنی اسیدآمینه‌ای دریافت نکرده بود نیز درنظر گرفته شد.

جدول ۱: تیمارهای آزمایشی و میزان اسیدآمینه استفاده شده برای هر تیمار

تیمار	اسیدهای آمینه			شربت شکر
	متیونین (گرم برای هر کندو)	لیزین (گرم برای هر کندو)	ترئونین (گرم برای هر کندو)	
Met-1	۰/۳	–	–	دسترسی آزاد
Met-2	۰/۶	–	–	دسترسی آزاد
Met-3	۱/۲	–	–	دسترسی آزاد
Lys-1	–	۱/۵۱	–	دسترسی آزاد
Lys-2	–	۳/۰۲	–	دسترسی آزاد
Lys-3	–	۶/۰۵	–	دسترسی آزاد
Thr-1	–	–	۰/۵۷۲	دسترسی آزاد
Thr-2	–	–	۱/۱۴۵	دسترسی آزاد
Thr-3	–	–	۲/۲۹	دسترسی آزاد
MLT-1	۰/۳	۱/۵۱	۰/۵۷۲	دسترسی آزاد
MLT-2	۰/۶	۳/۰۲	۱/۱۴۵	دسترسی آزاد
MLT-3	۱/۲	۶/۰۵	۲/۲۹	دسترسی آزاد
شاهد	–	–	–	دسترسی آزاد

Lys: لایزین ، Met: متیونین، Thr: ترئونین، MLT: ترکیب اسیدآمینه‌های متیونین، لایزین و ترئونین

اندازه‌گیری وزن زنبورهای کارگر: برای تعیین وزن خشک تعداد ۵۰ عدد از زنبورهای هر تکرار آزمایشی توزین شده و وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس زنبورها به آون منتقل شده و در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. پس از خشک شدن در آون، نمونه‌ها به دیسکاتور منتقل شده و پس از سرد شدن با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پروتئین و چربی خام بدن زنبورهای کارگر: پس از ارزیابی وزن زنبورها، تعداد ۵۰ زنبور خشک شده از هر تکرار هر تیمار کاملاً پودر شده و با هم ترکب شدند تا یک پودر یکنواخت به‌دست آید. سپس پروتئین خام با استفاده از روش کجلدال و چربی خام با استفاده از سوکسیله اندازه‌گیری شد (Latimer و همکاران، ۲۰۱۶).

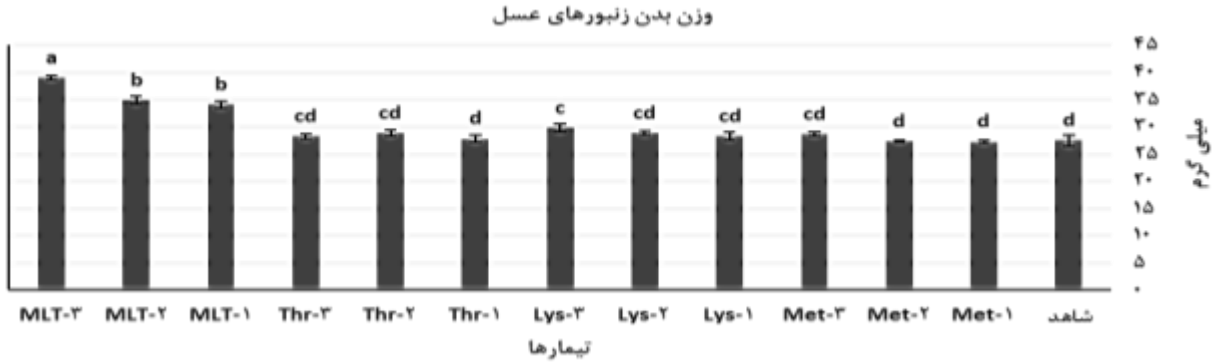
تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل از این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۱۳ تیمار و ۶ تکرار و با رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS تجریه و تحلیل شدند. پیش از تجزیه و تحلیل آماری، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از رویه Univariate چک شده و در صورتی‌که داده‌ها نرمال نبودند از تبدیل لگاریتمی داده‌ها برای نرمال سازی استفاده گردید. هم‌چنین برای مقایسات میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. مقایسه‌هایی که P-Value آن‌ها کوچک‌تر از ۰/۰۵ بودند، به‌عنوان مقایسات معنی‌دار درنظر گرفته شدند.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس آزمایش پیش‌رو در جدول ۲ و نمودارهای ۱ تا ۳ نشان داده شده است. براساس نتایج ارایه شده در جدول تجزیه واریانس، اثر تیمار بر فراسنجه‌های کلی وزن بدن و ذخیره پروتئین بدن از نظر آماری معنی‌دار بوده ($p\leq۰/۰۵$). اما اثر تیمار بر درصد ذخیره چربی معنی‌دار نبوده است ($p\leq۰/۰۵$). نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که تغذیه زنبورهای عسل هم‌زمان با سطوح سوم اسیدهای آمینه لایزین، متیونین و ترئونین (MLT-3) سبب افزایش وزن بدن آن‌ها نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌های تیماری شده است ($p\leq۰/۰۵$). هم‌چنین تیمارهای MLT-1 و MLT-2 نیز میانگین وزن بالاتری را نسبت به سایر گروه‌های تیماری نشان دادند ($p\leq۰/۰۵$). نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که افزودن ۶ گرم اسید آمینه لایزین به جیره زنبورهای عسل(Lys-3) سبب افزایش وزن بدن زنبورها نسبت به گروه شاهد شده است ($p\leq۰/۰۵$). اما سایر گروه‌های تیماری تفاوت معنی‌داری در وزن بدن زنبورهای عسل، نسبت به گروه شاهد ایجاد نکردند ($p\geq۰/۰۵$، شکل ۱). اثر افزودن سطوح مختلف اسیدهای آمینه بر ذخیره پروتئین زنبورهای عسل در شکل ۲ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهند که گروه دریافت کننده ترکیب سطوح سوم اسیدهای آمینه لایزین، متیونین و ترئونین (MLT-3) نسبت به سایر گروه‌ها بیش‌ترین میزان ذخیره پروتئین را داشته و با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشته است ($p\leq۰/۰۵$). هم‌چنین گروه‌های MLT-1 و MLT-2 نیز نسبت به گروه شاهد ذخیره پروتئین بیش‌تری داشته‌اند ($p\leq۰/۰۵$). براساس نتایج ارایه‌شده درشکل ۲،درصد پروتئین بیش‌تری در بدن زنبورهای عسل تغذیه شده با سطوح مختلف متیونین نسبت به گروه شاهدذخیره شده است ($p\leq۰/۰۵$، شکل ۲). نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که سطوح مختلف اسیدهای آمینه لایزین، متیونین و ترئونین و ترکیب سطوح مختلف این اسیدهای آمینه اثری بر میزان ذخیره چربی بدن زنبورهای عسل نداشتند ($p\geq۰/۰۵$، نمودار۳).

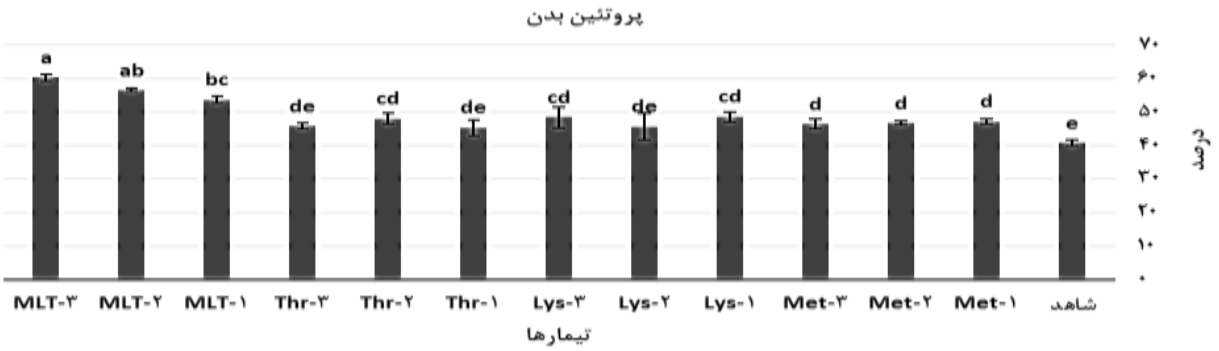
جدول ۲: جدول تجزیه واریانس اثر اسیدهای آمینه مختلف بر وزن، درصد پروتئین و چربی بدن زنبورهای عسل

فراسنجه	منشا تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	آماره F	آماره P
وزن بدن	اثر تیمار	۱۲	۸۸۰/۱۵	۷۳/۳۴	۴۱/۸۵	۰/۰۰۰۱
	خطا	۶۵	۱۱۳/۹۲	۱/۷۵		
	کل	۷۷	۹۹۴/۰۶			
پروتئین بدن	اثر تیمار	۱۲	۱۸۱۵/۸۹	۱۵۱/۳۲	۶/۶۸	۰/۰۰۰۱
	خطا	۶۵	۱۴۷۳/۲۳	۲۲/۶۶		
	کل	۷۷	۳۲۸۹/۱۲			
چربی بدن	اثر تیمار	۱۲	۳/۵۵	۰/۲۹	۱/۸۴	۰/۰۶۰۴
	خطا	۶۵	۱۰/۴۷	۰/۱۶		
	کل	۷۷	۱۴/۰۳			



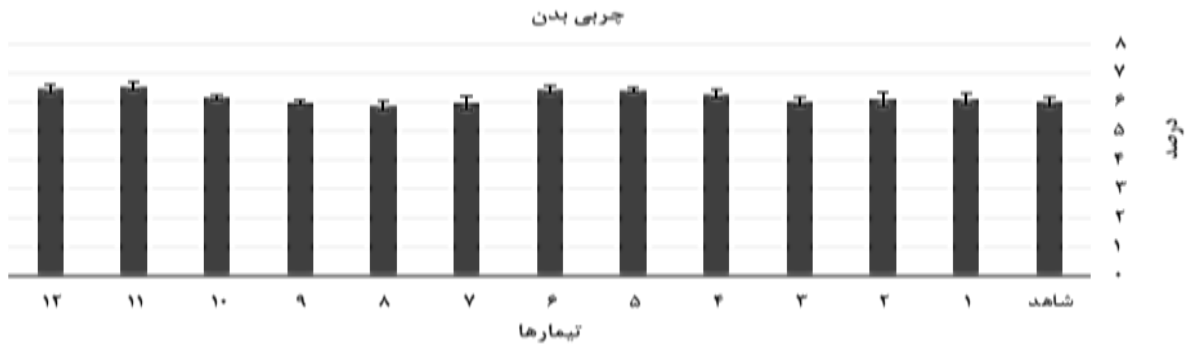
شکل ۱: نمودار اثر تغذیه اسیدهای آمینه، بر وزن بدن زنبورهای عسل (Mean±SE)

Lys-1: ۱/۵۱ گرم لایزین به‌ازای هر کندو، Lys-2: ۳/۰۲ گرم لایزین به‌ازای هر کندو، Lys-3: ۶/۰۵ گرم لایزین به‌ازای هر کندو، Met-1: ۰/۳ گرم متیونین به‌ازای هر کندو، Met-2: ۰/۶ گرم متیونین به‌ازای هر کندو، Met-3: ۱/۲ گرم متیونین به‌ازای هر کندو، Thr-1: ۰/۵۷۲ گرم ترئونین به‌ازای هر کندو، Thr-2: ۱/۱۴۵ گرم ترئونین به‌ازای هر کندو، Thr-3: ۲/۲۹ گرم ترئونین به‌ازای هر کندو، MLT-2: ترکیب سطوح دوم اسیدآمینه‌های متیونین، لایزین و ترئونین، MLT-1: ترکیب سطوح اول اسید آمینه‌های متیونین، لایزین و ترئونین، MLT-3 : ترکیب سطوح سوم اسیدآمینه‌های متیونین، لایزین و ترئونین



شکل ۲: نمودار اثر تغذیه اسیدهای آمینه، بر ذخیره پروتئین زنبورهای عسل (Mean±SE)

Lys-1: ۱/۵۱ گرم لایزین به‌ازای هر کندو، Lys-2: ۳/۰۲ گرم لایزین به‌ازای هر کندو، Lys-3: ۶/۰۵ گرم لایزین به‌ازای هر کندو، Met-1: ۰/۳ گرم متیونین به‌ازای هر کندو، Met-2: ۰/۶ گرم متیونین به‌ازای هر کندو، Met-3: ۱/۲ گرم متیونین به‌ازای هر کندو، Thr-1: ۰/۵۷۲ گرم ترئونین به‌ازای هر کندو، Thr-2: ۱/۱۴۵ گرم ترئونین به‌ازای هر کندو، Thr-3: ۲/۲۹ گرم ترئونین به‌ازای هر کندو، MLT-2: ترکیب سطوح دوم اسیدآمینه‌های متیونین، لایزین و ترئونین، MLT-1: ترکیب سطوح اول اسید آمینه‌های متیونین، لایزین و ترئونین، MLT-3 : ترکیب سطوح سوم اسیدآمینه‌های متیونین، لایزین و ترئونین



شکل ۳: نمودار اثر تغذیه اسیدهای آمینه، بر ذخیره چربی زنبورهای عسل (Mean±SE)

Lys-1: ۱/۵۱ گرم لایزین به‌ازای هر کندو، Lys-2: ۳/۰۲ گرم لایزین به‌ازای هر کندو، Lys-3: ۶/۰۵ گرم لایزین به‌ازای هر کندو، Met-1: ۰/۳ گرم متیونین به‌ازای هر کندو، Met-2: ۰/۶ گرم متیونین به‌ازای هر کندو، Met-3: ۱/۲ گرم متیونین به‌ازای هر کندو، Thr-1: ۰/۵۷۲ گرم ترئونین به‌ازای هر کندو، Thr-2: ۱/۱۴۵ گرم ترئونین به‌ازای هر کندو، Thr-3: ۲/۲۹ گرم ترئونین به‌ازای هر کندو، MLT-2: ترکیب سطوح دوم اسیدآمینه‌های متیونین، لایزین و ترئونین، MLT-1: ترکیب سطوح اول اسید آمینه‌های متیونین، لایزین و ترئونین، MLT-3 : ترکیب سطوح سوم اسیدآمینه‌های متیونین، لایزین و ترئونین

بحث

مکمل‌های پروتئینی در تغذیه زنبور عسل در مواقعی از سال که منابع غذائی طبیعی (شهد و گرده) کافی یا دردسترس نیست،می‌تواند جهت تأمین احتیاجات غذایی استفاده شوند (Schmidt و همکاران، ۱۹۷۸). مکمل‌های پروتئینی زیادی در تغذیه زنبورعسل مورد ارزیابی قرار گرفته و محاسن، معایب و خوش‌خوراکی آن‌ها مطالعه شده است اما زنبورها همیشه پاسخ یکسانی برای این‌گونه مواد ندارند. شرایط داخل و بیرون کندو مانند تخم‌گذاری ملکه، فصل سال، درجه حرارت محیط، وفور گیاهان گرده‌دار و شهدزا و عوامل دیگر وجود دارند که تمایل به استفاده از مکمل‌های پروتئینی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Somerville، ۲۰۰۰). پژوهش‌های بسیار اندکی در ارتباط با نقش اسیدهای آمینه ضروری بر ویژگی‌های تولیدی، فیزیولوژیکی و توان زنده‌مانی زنبورهای عسل انجام شده است (DeGrandi-Hoffman و همکاران، ۲۰۱۶). یک غذای مکمل پروتئینی خوب برای زنبورها باید به‌گونه‌ای باشد که به آسانی قابل مصرف و از لحاظ ترکیب اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری، کیفیت پروتئین‌ها، لیپیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی مورد نیاز رشد و تولیدمثل کلنی را فراهم نماید (Nehzati، ۲۰۰۸). هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر اسیدهای آمینه متیونین، لایزین و ترئونین بر وزن بدن و میزان ذخیره پروتئین و چربی زنبورهای عسل ایرانی بود. نتایج آزمایش پیش رو نشان داد که مکمل‌سازی جیره زنبورهای عسل با اسیدهای آمینه ضروری ترئونین، لایزین و متیونین سبب بهبود ذخیره پروتئین در بدن و افزایش وزن زنبورهای عسل شده است. پروتئین نقش مهمی در تغذیه به‌ویژه برای رشد و تکامل نوزادان و بقای زنبورهای عسل دارد. هم‌چنین ملکه نیز برای تخم‌گذاری خود نیازمند پروتئین است که از طریق ژله رویال تولیدی کارگران آن را دریافت می‌کند. در مطالعه‌ای Gage و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که اسیدهای آمینه مورد نیاز زنبورعسل تا حدودی‌با اسیدهای‌آمینه موردنیاز پستانداران مشابه است. اسیدهای آمینه ضروری شامل آرژنین، هیستیدین، لیزین، تریپتوفان، فنیل آلانین، متیونین، ترئونین، لوسین، ایزولوسین و والین نیز همانند پستانداران باید در جیره غذایی زنبور عسل فراهم باشند. هم‌چنین گزارش شدکه‌در زنبورعسل نیزهمانند پستانداران، سیستئین می‌تواند مقداری جایگزین متیونین شده و مقادیری از تایروزین نیز جایگزین فنیل‌آلانین مورد نیاز می‌شود. براساس گزارش‌های مختلف پیشنهاد شده است که مقدار پروتئین جیره غذایی زنبورعسل با توجه به‌میزان اسیدآمینه‌های ضروری آن تعیین شود. مطابق با نتایج پژوهش پیش‌رو، Somerville(۲۰۰۰) گزارش کردکه‌پروتئین‌مهم‌ترین عاملی است که طول عمر زنبورهای متولد شده را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بنابراین هر چه پروتئین بدن بالاتر رود به‌همان میزان طول عمر زنبورها نیز افزایش می‌یابد. هم‌چنین Latimer (۲۰۱۶) نشان داد که زنبورهای بالغ تا مدت‌ها می‌توانند با تغذیه از کربوهیدرات‌ها زنده بمانند، اما تغذیه از گرده گل به‌عنوان منبع پروتئینی جیره طول عمر زنبورعسل را افزایش داد. تغییرات مقدار پروتئین در بدن زنبورها در طول زندگی، دفع آندوژنوس و جذب و متابولیسم آن در هر مرحله از زندگی می‌تواند برای تخمین کل احتیاجات پروتئین ایده‌آل، با الگوی مناسب اسیدآمینه که قابلیت جذب و متابولیسم داشته باشد، استفاده شود. بنابراین در حالت طبیعی، گرده گل با اصلی‌ترین منبع تامین اسیدهای‌آمینه برای زنبورهای عسل است (Paoli و همکاران، ۲۰۱۴). در این مطالعه گروهی از زنبورهایی که ترکیب سطوح بالای اسیدهای آمینه ترئونین، لایزنی و متیونین را دریافت کرده بودند بیش‌ترین افزایش وزن و ذخیره پروتئین بدنی را نشان دادند. مطابق با نتایج پژوهش پیش‌رو، Crailsheim (۱۹۹۰) گزارش کرد که برخی از اسیدهای آمینه برای رشد لارو زنبور عسل تا به‌دست آوردن حداکثر اندازه و رشد در سن پنج تا هشت روزگی ضروری است. اسیدهای آمینه ضروری هم‌چنین برای جایگزینی دفع پروتئین از طریق دستگاه گوارش (آندوژنوس) مانند آنزیم‌های هضم نشده، سلول‌های جداشده و آن‌هایی‌که برای‌کاتابولیسم مرتبط با بازچرخ‌پروتئین مصرف‌شده‌اند، مورد نیاز است. بنابراین گرده یا کمبود جیره‌ای پروتئین، عملکرد تولیدمثلی، پرورش نوزادان و اندازه زنبورها در زمان تولد را کاهش می‌دهد (Brodschneider و Crailsheim، ۲۰۱۰). در این راستا Gage و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که پروتئین اضافه شده به جیره طول عمر زنبورهای جوان را تحت تأثیر قرار می‌دهد، اما به‌نظر می‌رسد تأثیر کمی بر طول عمر زنبورهای چرارو داشته باشد. نتایج این آزمایش نشان داد که ترکیبی از اسیدهای آمینه ضروری سبب بهبود وزن خشک زنبورهای کارگر شده و ذخیره پروتئینی آن‌ها را افزایش می‌دهند. علی‌رغم این‌که گرده گل‌ها اصلی‌ترین منبع تامین مواد پروتئینی مورد نیاز زنبور عسل است، با این‌حال عوامل بسیاری بر تامین اسیدهای آمینه ضروری در زنبورعسل موثر هستند. مطالعات مختلفی اثر تغذیه پروتئین بر زنده‌مانی، سیستم ایمنی و توانایی پرواز زنبورهای عسل انجام شده است (Alaux و همکاران، ۲۰۱۰؛ Alaux وهمکاران، ۲۰۱۱؛ Basualdo وهمکاران، ۲۰۱۴؛ Antunezو همکاران، ۲۰۱۵). در پژوهشی Schmidt و همکاران (۱۹۸۷) نشان دادند که ذخیره پروتئین بدن زنبور عسل، اصلی‌ترین عامل تعیین‌کننده طول عمر زنبورعسل می‌باشد. هم‌چنین مطابق با نتایج پژوهش پیش‌رو، در مطالعه‌ای Hendriksma و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تغذیه زنبورهای عسل با برخی از اسیدهای آمینه ضروری سبب افزایش وزن آن‌ها می‌شود. نیازهای پروتئینی زنبورهای عسل با توجه به شرایط متفاوت است به‌صورتی‌که میزان تخم‌گذاری، پرورش نوزادان و تولید

و برداشت محصولات مختلف از کلنی (عسل، ملکه، ژل رویال)، فعالیت‌های پروازی، تغییرات دمایی، بیماری‌ها و انگل‌ها نیاز به مصرف پروتین را بالا می‌برد. با توجه به نیازهای تغذیه‌ای زنبور عسل به‌طور دقیق مشخص نیست و پژوهشگران مختلف پیشنهاد کردند که با توجه به شرایط زمان و مکان، استفاده از مواد مکمل پروتینی اسیدآمینه‌ای برنامه‌ریزی شود (Glavinic و همکاران، ۲۰۱۷؛ Stanimirović و همکاران، ۲۰۱۷؛ Staveley و همکاران، ۲۰۱۴). در راستای نتایج این مطالعه، Hendriksma و همکاران (۲۰۱۹) گزارش شده کردند که زنبورهای تغذیه شده با اسیدهای آمینه ضروری، به‌میزان قابل توجهی دارای وزن سر و وزن سینه بیش‌تری نسبت به گروه شاهد بودند. علاوه بر این، کلونی‌های تغذیه شده توسط اسیدهای آمینه ضروری ممکن است رشد فردی و توانایی پرورش نوزاد بالاتری را نشان دهند. به‌نظر می‌رسد تغذیه کلنی‌ها با مکمل گرده یا جانشین گرده باعث می‌شود این کلنی‌ها در بهار پرورش نوزاد را زودتر از سایر کلنی‌ها شروع کنند و کارگران بیش‌تری پروش دهند. هم‌چنین مطابق با نتایج این پژوهش، گزارش شده است که اگر زنبورهای عسلی که از گرده‌های خاصی تغذیه کنند، دارای تیتر بالاتری از پروتئین همولنفی نیز خواهند بود (Basualdo و همکاران، ۲۰۱۴). پژوهشگران نشان دادند که هم کیفیت و هم تنوع گرده می‌تواند بر فیزیولوژی و ایمنی زنبورعسل تاثیر داشته باشد (Di Pasquale و همکاران، ۲۰۱۳). اگر چه که مطالعات نشان‌دهنده نقش مفید پروتئین‌های گرده گل در فرآیندهای فیزیولوژیکی، پرورش، رشد جمعیت بالغ و تولید ژله رویال است (DeGrandi-Hoffman و همکاران، ۲۰۰۸) با این‌حال، مطالعات دقیق‌تر در مورد میزان اثر بخشی و تعیین دوز مناسب مصرف مکمل‌ها در جیره غذایی ضروری به‌نظر می‌رسد. اما برخلاف نتایج مطالعه پیش رو، Herbert و همکاران (۱۹۷۷) متوجه شدند که زنبورهای داخل کندو تغذیه شده یا جیره‌های بالای پروتئینی (۵۰ درصد) مرگ و میر بیش‌تری نسبت به کندوهای تغذیه شده با پروتئین کم‌تر (۵ تا ۱۰ درصد) دارند. آن‌ها گزارش کردند که این افزایش مرگ و میر می‌تواند ناشی از عدم توانایی زنبورها در دفع مقدار زیاد پروتئین باشد. در مطالعه دیگری که توسط Mortazavi و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد گزارش شد که با تامین اسیدهای امینه ضروری در جیره زنبور عسل می‌تواند تولید عسل را به‌واسطه افزایش طول عمر زنبورهای کندو افزایش دهد. نتایج این آزمایش نشان داد که نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن ترکیبی از اسیدهای آمینه ال-متیونین، ال-لایزین و ال-ترئونین به جیره‌زنبورهای‌عسل،سبب‌افزایش‌وزن و درصد پروتئین بدن می‌شود که می‌تواند در سطح تولید و زنده‌مانی کندو نقش مستقیمی داشته باشد.

منابع

1. **Alaux, C.; Dantec, C.; Parrinello, H. and Le Conte, Y., 2011.** Nutrigenomics in honey bees: digital gene expression analysis of pollen's nutritive effects on healthy and varroa parasitized bees. BMC genomics. Vol. 12, No. 1, pp: 496.
2. **Alaux, C.; Ducloz, F.; Crauser, D. and Le Conte, Y., 2010.** Diet effects on honeybee immunocompetence. Biology letters. Vol. 6, No. 4, pp: 562-565.
3. **Antúnez, K.; Anido, M.; Branchiccela, B.; Harriet, J.; Campa, J.; Invernizzi ,C.; Santos, E.; Higes, M.; Martín Hernández, R. and Zunino, P., 2015.** Seasonal variation of honeybee pathogens and its association with pollen diversity in Uruguay. Microbial ecology. Vol. 70, No. 2, pp: 522-533.
4. **Amdam, G.V.; Rueppell, O.; Fondrk, M.K.; Page, R.E. and Nelson, C.M., 2009.** The nurse's load: Early-life exposure to brood-rearing affects behavior and lifespan in honey bees (*Apis mellifera*). Experimental gerontology. Vol. 44, No. 6-7, pp: 467-471.
5. **Basualdo, M.; Barragán, S. and Antúnez, K., 2014.** Bee bread increases honeybee haemolymph protein and promote better survival despite of causing higher N osema ceranae abundance in honeybees. Environmental microbiology reports. Vol. 6, No. 4, pp: 396-400.
6. **Brodschneider, R. and Crailsheim, K., 2010.** Nutrition and health in honey bees. Apidologie. Vol. 41, No. 3, pp: 278-294.
7. **Crailsheim, K., 1990.** The protein balance of the honey bee worker. Apidologie. Vol. 21, No. 5, pp: 417-429.
8. **Cook, S.M.; Awmack, C.S.; Murray, D.A. and Williams, I.H., 2003.** Are honey bees' foraging preferences affected by pollen amino acid composition?. Ecological Entomology. Vol. 28, No. 5, pp: 622-627.
9. **Czekońska, K.; Chuda-Mickiewicz, B. and Samborski, J., 2015.** Quality of honeybee drones reared in colonies with limited and unlimited access to pollen. Apidologie. Vol. 46, No. 1, pp: 1-9.
10. **DeGrandi-Hoffman, G.; Wardell, G.; Ahumada-Segura, F.; Rinderer, T.; Danka, R. and Pettis, J., 2008.** Comparisons of pollen substitute diets for honey bees: consumption rates by colonies and effects on brood and adult populations. Journal of apicultural research. Vol. 47, No. 4, pp: 265-270.
11. **Di Pasquale, G.; Salignon, M.; Le Conte, Y.; Belzunces, L. P.; Decourtye, A.; Kretzschmar, A.; Suchail, S.; Brunet, J.L. and Alaux, C., 2013.** Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter? PloS one. Vol. 8, No. 8, e72016.
12. **Gage, S.L.; Calle, S.; Jacobson, N.; Carroll, M. and DeGrandi-Hoffman, G., 2020.** Pollen Alters Amino Acid Levels in the Honey Bee Brain and This Relationship Changes With Age and Parasitic Stress. Frontiers in Neuroscience. Vol. 14, pp: 231.
13. **Glavinic, U.; Stankovic, B.; Draskovic, V.; Stevanovic, J.; Petrovic, T.; Lakic, N. and Stanimirovic, Z., 2017.** Dietary amino acid and vitamin complex protects honey bee from immunosuppression caused by Nosema ceranae. PloS one. Vol. 12, No. 11, e0187726.
14. **Hendriksma, H.P.; Pachow, C.D. and Nieh, J.C., 2019.** Effects of essential amino acid supplementation to promote honey bee gland and muscle development in cages and colonies. Journal of insect physiology Vol. 2019, No. 117, pp: 103906.
15. **Hrassnigg, N. and Crailsheim, K., 2005.** Differences in drone and worker physiology in honeybees (*Apis mellifera*). Apidologie. Vol. 36, No. 2, pp: 255-277.

16. **Herbert, E.W.; Shimanuki, H. and Caron, D., 1977.** Optimum protein levels required by honey bees (Hymenoptera, Apidae) to initiate and maintain brood rearing. Apidologie. Vol. 8, No. 2, pp: 141-146.

17. **Human, H.; Nicolson, S.; Strauss, K.; Pirk, C. and Dietemann, V., 2007.** Influence of pollen quality on ovarian development in honeybee workers (*Apis mellifera scutellata*). Journal of insect physiology. Vol. 53, No. 7, pp: 649-655.

18. **Latimer, G.W., 2016.** Official methods of analysis of AOAC international 20th edition, Appendix D, Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. Gaithersburg, MD, USA. 170 p.

19. **Li, C.; Xu, B.; Wang, Y.; Yang, Z. and Yang, W., 2014.** Protein content in larval diet affects adult longevity and antioxidant gene expression in honey bee workers. Entomologia Experimentalis et Applicata. Vol. 151, No. 1, pp: 19-26.

20. **Mattila, H. and Otis, G., 2006.** Influence of pollen diet in spring on development of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. Journal of economic entomology. Vol 99, No. 3, pp: 604-613.

21. **Mortazavi, M.; Chamani, M.; Amin Afshar, M.; Sadeghi, A. and Tahmasebi, G., 2020.** Investigation of the effects of essential amino acids on 6 overexpression of theVg and Sod Gene in *Apis mellifera*. Iranian Journal of applied animal science. Vol. 11, No 4, pp: 747-753.

22. **Nehzati Paghale,GH.A., 2008.** Studying the digestibility of some protein Supplements in Honey Bees, Animal science dept. collage of agriculure, university of Tehran. (In Persian).

23. **Paoli, P.P.; Donley, D.; Stabler, D.; Saseendranath, A.; Nicolson, S.W.; Simpson, S.J. and Wright, G.A., 2014.** Nutritional balance of essential amino acids and carbohydrates of the adult worker honeybee depends on age. Amino acids. Vol. 46, No. 6, pp: 1449-1458.

24. **Schmidt, J.O.; Thoenes, S.C. and Levin, M.D., 1987.** Survival of honey bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), fed various pollen sources. Annals of the Entomological Society of America. Vol. 80, No. 2, pp: 176-183.

25. **Somerville, D., 2000.** Honeybee nutrition and supplementary feeding. Agriculture (agonte) Goulburn, New South Wales Australia. Páginas. 8 p.

26. **Stanimirović, Z.; Glavinić, U.; Lakić, N.; Radović, D.; Ristanić, M.; Tarić, E. and Stevanović, J., 2017.** Efficacy of plant-derived formulation Argus Ras in Varroa destructor control. Acta Veterinaria. Vol. 67, No. 2, pp: 191-200.

27. **Staveley, J.P.; Law, S.A.; Fairbrother, A. and Menzie, C.A., 2014.** A causal analysis of observed declines in managed honey bees (*Apis mellifera*). Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal. Vol. 20, No. 2, pp: 566-591.

28. **Wang, H.; Zhang, S.-W.; Zeng, Z.J. and Yan, W.Y., 2014.** Nutrition affects longevity and gene expression in honey bee (*Apis mellifera*) workers. Apidologie. Vol. 45, No. 5, pp: 618-625.