Animal Production Research
Vol. 14, No. 2, 2025 (93-101)
doi: 10.22124/ar.2025.28536.1849
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872
University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Effect of using a food supplement with sugar on the growth and development of hypopharyngeal glands, body weight, and carcass compositions of nurse honey bees raised in laboratory cages

R. Kalateh[1], B. Dastar[1]*, A. Nadimi[2], Sh. Kotook[1], F. Sarvarzadeh[3], E. Kord[3]

1. Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2. Department of Entomology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3. Kavoshgar Sepehr Javan Company, Dezful, Iran

(Received: 01-10-2024 – Revised: 09-02-2025 – Accepted: 10-02-2025 – Available online: 13-04-2025)

Abstract

Introduction: Supplemental nutrition is valuable to overcome periods of resource scarcity and support colony development, bee growth, rearing, grazing behavior, and resistance to diseases under stressful conditions. It is necessary to provide protein food to stimulate colony strength in maximizing honey production and plant pollination. If young worker bees do not consume the required protein, their mammary (hypopharyngeal) glands will not develop ultimately. So, the royal jelly does not support the normal growth and development of worker larvae or egg production in the adult queen. This experiment was designed to evaluate the effects of the use of a honey bee enhancer supplement called Prody 400 on the weight of different body parts, the growth of hypopharyngeal glands, and the carcass composition of nurse bees

Materials and methods: This experiment was conducted with three treatments and four repetitions in laboratory cages. The experiment was done from the middle of September to the beginning of October 2022. The experimental treatments included: 1) The group without the use of supplements (control treatment), 2) The treatment using the supplement in diluted sucrose syrup, and 3) The treatment using the supplement in a sweet paste. Kaushgar Sepehr Javan Company prepared Prody 400 enhancer supplement. Carcass composition data were analyzed in the form of a randomized complete block design using the SAS software based on the GLM procedure, and data related to head weight, breast weight, belly weight, and hypopharyngeal gland growth were analyzed in the form of a repeated measure design based on the Mixed procedure. A comparison of average treatments and the age of nurse bees was done using a protected t-test. The results are reported as least squares means with standard error.

Results and discussion: In the treatments of syrup and sweet paste with supplements, as well as the average of different ages, a significant difference was observed in the growth of hypopharyngeal glands, so that the highest growth was observed at 9 days, then at 6 days, at 12 days, and finally at 3 days (P<0.05), while in the control treatment, there was no significant difference in the growth of hypopharyngeal glands at different ages. Comparing the average of different treatments as well as the ages of 6 and 9 days, the highest growth of hypopharyngeal glands was in the sucrose syrup treatment with supplements, which was significantly different from the other two treatments (P<0.05). The trend of head and chest weight changes in the sucrose syrup treatment with supplements was different from the other two treatments in a way that at the ages of 6, 9, and 12 days, the head weight was significantly higher than at the age of 3 days (P<0.05). The results of the experiment also showed that the weight

* Corresponding author: dastar@gau.ac.ir

of the bee head has a positive correlation with the growth of the hypopharyngeal glands and can be used as an indicator of the growth rate of the hypopharyngeal glands. In the present experiment, the nurse bees' head weight and the growth rate of hypopharyngeal gland acini at 6 and 9 days in syrup treatment with supplements were higher compared to other ages, which is consistent with other studies that reported that amino acid supplement feeding causes colony growth. The bees that received the Prody 400 supplement had a higher breast weight compared to the control group. Other research reports also showed that the chest weight of honey bees increases when using amino acid supplements. This issue is important from the point of view that the flight muscle mass increases with bee grazing and, consequently, colony growth. Adult honey bees, which are responsible for grazing, need strong flight muscles of the thorax to collect pollen and nectar. The fresh and dry weight of the thorax is a measure of flight muscle growth.

Conclusions: The use of the Prody 400 supplement during the absence or deficiency of protein substances (pollen) can affect the growth of hypopharyngeal glands as well as growth. The chest has a positive effect on better performance in the grazing periods of honey bees. Also, the use of this supplement increased the colony population by strengthening the nurse bees to produce more royal jelly. The results of this experiment also showed that the head weight of nurse bees had a positive correlation with the growth of hypopharyngeal glands and can be used as an indicator of the degree of growth of hypopharyngeal glands.

Keywords: Carcass compositions, Hypopharyngeal glands, Honey bee, Food supplement, Body weight

Ethics statement: This study was conducted with the full consideration of animal welfare and the approval of this study was granted by the Ethics Committee of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

Data availability statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Funding: The authors received financial support for this research from the Kavoshgar Sepehr Javan Company, dezful, Iran.

Acknowledgment: The authors express their gratitude to the Vice-Chancellor for Research and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

How to cite this article:

Kalateh, R., Dastar, B., Nadimi, A., Kotook, Sh., Sarvarzadeh, F., & Kord, E. (2025). Effect of using a food supplement with sugar on the growth and development of hypopharyngeal glands, body weight, and carcass compositions of nurse honey bees raised in laboratory cages. *Animal Production Research*, *14*(2), 93-101. doi: 10.22124/ar.2025.28536.1849

تحقیقات تولیدات دامی

سال چهاردهم/شماره دوم/تابستان ۱۴۰۴ (۱۰۱-۹۳)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

اثر استفاده از مکمل غذایی همراه شکر روی رشد غدد شیری، وزن بدن و ترکیبات لاشه زنبورعسل پرستار پرورش‌یافته در قفس‌های آزمایشگاهی

رضا کلاته[۱]، بهروز دستار[۱*]، احمد ندیمی[۲]، شهرام کتوک[۱]، فاطمه سرورزاده[۳]، احسان کرد[۳]

۱- گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- گروه حشره شناسی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- شرکت کاوشگر سپهر جوان، دزفول

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۱۰ – تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۱/۲۱ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۲۲ – تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۴/۰۱/۲۴)

چکیده

تغذیه تکمیلی برای غلبه بر دوره‌های کمبود منابع و حمایت از توسعه کلنی، رشد و نمو زنبورها، پرورش نوزاد، رفتار چراگری و مقاومت در برابر بیماری‌ها در شرایط تنش‌زا ارزشمند است. هدف از این پژوهش، بررسی اثرگذاری پودر تقویت‌کننده ویژه زنبور عسل با نام تجاری Prody 400 حاوی اسیدهای آمینه ضروری، مواد معدنی و ویتامین بر رشد غدد هیپوفارنژیال، وزن بدن و ترکیبات لاشه زنبورهای عسل پرستار بود. این پژوهش با سه تیمار و چهار تکرار در قفس‌های طراحی شده برای پژوهش‌های زنبورعسل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی انجام شد. تیمارهای پژوهشی شامل: ۱- گروه بدون استفاده از مکمل (شاهد)، ۲- تیمار استفاده‌کننده از مکمل در شربت ساکارز رقیق، و ۳- تیمار استفاده‌کننده از مکمل در خمیر شیرین بود. نتایج نشان داد که رشد غدد هیپوفارنژیال در تیمار شربت به‌همراه مکمل و همچنین، تیمار مکمل به‌همراه خمیر شیرین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ($P<۰/۰۵$). وزن سر و قفسه سینه زنبورهای پرستار تغذیه شده با شربت ساکارز به‌همراه مکمل نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). همچنین، نتایج پژوهش نشان داد که وزن سر زنبورعسل همبستگی مثبتی با رشد غدد هیپوفارنژیال دارد و می‌تواند به‌عنوان شاخصی از میزان رشد غدد هیپوفارنژیال باشد. بر اساس نتایج این پژوهش، می‌توان نتیجه گرفت استفاده از مکمل پرودی ۴۰۰ در زمان‌های کمبود گرده، با رشد غدد هیپوفارنژیال سبب تولید ژل رویال بیشتر شده و با رشد قفسه سینه سبب بهبود قدرت پروازی می‌شود که پیامد آن می‌تواند افزایش رشد کلنی زنبورعسل باشد.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات لاشه، زنبورعسل، غدد هیپوفارنژیال، مکمل غذایی، وزن بدن

* نویسندهٔ مسئول: dastar@gau.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2025.28536.1849

مقدمه

کاهش سلامت زنبورعسل به‌طور مستقیم به کمبود شهد و گرده و عوامل بیماری‌زا نسبت داده شده است (DeGrandi-Hoffman et al., 2008). از این رو، در کلنی‌های زنبورعسل، تغذیه مناسب برای سلامتی و بقای طولانی مدت بسیار مهم است (Steen, 2007; Brodschneider & Crailsheim, 2010; Avni et al., 2014). وضعیت تغذیه یک کلنی، تأثیر قابل توجهی بر رشد و نمو زنبورها، طول عمر آن‌ها، فعالیت چراگری، رشد و نمو لاروها و تخم‌ریزی ملکه و مقاومت در برابر بیماری‌ها دارد (Avni et al., 2014). تغذیه نامناسب باعث کاهش مقاومت در برابر آفت‌کش‌ها (Tosi et al., 2017) و کاهش تدریجی زنبورهای کارگر می‌شود. تغذیه تکمیلی برای غلبه بر دوره‌های کمبود منابع و حمایت از توسعه کلنی در شرایط تنش‌زا ضروری است (DeGrandi-Hoffman et al., 2008). با این حال، گرده گل گاهی اوقات تمامی نیازهای کلنی را حتی در فصل رشد گیاهان احتمالاً به‌دلیل کمبودهای تغذیه‌ای برآورده نمی‌کند (DeGrandi-Hoffman et al., 2016; DeGrandi-Hoffman et al., 2018)، که این نیاز می‌تواند با مخلوط‌ها و نسبت‌های مختلف ریزمغذی‌ها برطرف شود (Bonoan et al., 2018). تهیه خوراک پروتئینی برای تحریک استحکام کلنی در به حداکثر رساندن تولید عسل و گرده‌افشانی گیاهان لازم است (Saffari et al., 2010). De Groot (1952) با پرورش زنبورها در قفس و اندازه‌گیری آستانه اختلال رشد، حداقل نیازها را برای ۱۰ اسید آمینه ضروری مختلف شناسایی کرد. ده اسیدآمینه دیگر مورد نیاز برای پروتئین‌سازی می‌توانند به‌وسیله زنبورها ساخته شوند و جزء اسیدهای آمینه غیرضروری محسوب می‌شوند. اگر زنبورهای کارگر جوان، پروتئین مورد نیاز را مصرف نکنند، غدد شیری (هیپوفارنژیال) آن‌ها به‌طور کامل رشد نمی‌کند و ژل رویال آن‌ها برای رشد و نمو طبیعی لاروها و تولید تخم به‌وسیله زنبور ملکه کافی نیست. علاوه بر این، ویتامین‌ها نیز برای پرورش لاروها ضروری به‌نظر می‌رسند. به‌طور کلی، نیاز کلنی زنبورعسل تا زمانی که ذخایر گرده در کندو فراوان باشد یا گرده تازه در مزرعه در دسترس زنبورهای عسل باشد، تأمین می‌شود. دانستن ترکیب مواد معدنی در صورت استفاده از گرده برای مکمل رژیم غذایی زنبورعسل، مهم است. گزارش شده است که استفاده از مواد معدنی کمیاب در تغذیه زنبورعسل می‌تواند سلامت و بهره‌وری را به‌طور چشم‌گیری افزایش دهد (Mattila & Otis, 2006). با این حال، برخی از مواد غذایی پروتئینی با بهبود تغذیه، توسعه مستمر کلنی را در مکان‌ها و زمان‌های کمبود گرده در شرایط طبیعی تضمین می‌کنند. مطالعات مربوط به بررسی کمبود مواد مغذی در قفس‌های پرورشی و کلنی‌ها می‌تواند درک ما را از نحوه واکنش زنبورهای عسل به تغذیه نامناسب و تأثیر این موضوع بر زنبورهای کلنی و چگونگی کمک مکمل‌های غذایی به زنبورها در مواجهه با عوامل تنش‌زای ترکیبی مانند تغذیه نامناسب و قرار گرفتن در معرض آفت‌کش‌ها افزایش دهد (Tosi et al., 2017). آزمایش در قفس، اهمیت اسیدهای آمینه ضروری و مکمل اسید آمینه را به‌علت عدم ورود منبع گرده به‌خوبی نشان می‌دهد (Hendriksma et al., 2019).

غدد هیپوفارنژیال، ساختارهای ترشحی هستند که در سر زنبورعسل بین چشم و مغز قرار دارند. در شرایط عادی، مسیر تکاملی و عملکردی غدد نشان می‌دهد که زنبورعسل در چه سنی است و چه وظایفی را انجام می‌دهد. در سن تقریباً سه تا ۱۲ روزگی، زنبور، رفتارهای پرستاری را در کندو انجام می‌دهد. در همین زمان، غدد هیپوفارنژیال به اوج اندازه و ظرفیت ترشحی خود می‌رسند و بخش عمده پروتئین مورد نیاز لاروهای در حال رشد و زنبور ملکه را تولید می‌کنند. غدد هیپوفارنژیال در این سن شبیه یک خوشه انگور هستند که در آن، هر انگور، یک ساختار لوبی مجزا است که به نام آسینی شناخته می‌شود. همان‌طور که زنبور کارگر، مسن می‌شود و وظایف مختلفی را در کندو انجام می‌دهد، غدد هیپوفارنژیال کوچک می‌شوند و عملکردهای مختلفی مانند شکستن قندهای موجود در شهد را به عهده می‌گیرند. بنابراین، غدد هیپوفارنژیال با سن زنبورعسل و وظیفه مرتبط با سن آن‌ها در ارتباط هستند (Corby-Harris & Snyder, 2018).

استفاده از قفس‌های آزمایشگاهی در مطالعات زنبور عسل به‌دلیل کنترل شرایط آزمایش، نتایج رضایت‌بخشی به‌همراه دارد (Kalateh & Dastar, 2023). از این رو، این پژوهش با هدف بررسی اثرگذاری پودر تقویت‌کننده ویژه زنبورعسل با نام تجاری Prody-400 بر رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال، وزن تازه سر، وزن قفسه سینه، وزن شکم، رطوبت، چربی و

مواد معدنی لاشه زنبورهای پرستار در شرایط قفس آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌منظور ارزیابی آثار استفاده از مکمل تقویت‌کننده ویژه زنبورعسل با نام پرو دی ۴۰۰ بر وزن قسمت‌های مختلف بدن، رشد غدد هیپوفارنژیال و ترکیبات لاشه زنبورهای پرستار با سه تیمار و چهار تکرار در قفس‌های آزمایشگاهی طراحی شده برای پژوهش‌های زنبورعسل از ۲۰ شهریور ماه تا ۱۰ مهر ماه سال ۱۴۰۱ در آزمایشگاه زنبورعسل دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱) گروه بدون استفاده از مکمل (تیمار شاهد)، ۲) تیمار استفاده‌کننده از مکمل در شربت ساکارز رقیق، و ۳) تیمار استفاده‌کننده از مکمل در خمیر شیرین بودند. مکمل تقویت‌کننده پرودی ۴۰۰ از شرکت کاوشگر سپهر جوان تهیه شد که ترکیب آن شامل ویتامین‌های B_1، B_2، B_3، B_5، B_6 و مواد معدنی سلنیوم، کروم، کلسیم، آهن، روی، بور، پتاسیم، منگنز، منیزیم و اسیدهای آمینه اسید اسپارتیک، اسید گلوتامیک، سرین، گلایسین، هیستیدین، آرژنین، ترئونین، آلانین، پرولین، تیروزین، والین، متیونین، ایزولوسین، لوسین، فنیل‌آلانین، تریپتوفان و لیزین بود.

در ابتدا، یک قاب شفیره از یک کلنی سالم و قوی برداشته شد و در انکوباتور در دمای ۳۳ درجه سلسیوس با ۶۵ درصد رطوبت گذاشته شد و سپس، برای هر یک از سنین ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روزگی، تعداد ۱۵ زنبور تفریخ شده به داخل هر یک از قفس‌های آزمایشگاهی (تعداد ۶۰ زنبور برای هر تیمار در هر سن) انتقال یافت و تیمارها روی آن‌ها اعمال شدند. با توجه به گزارش Kalateh and Dastar (2023)، قفس‌های آزمایشی استفاده شده از جنس پلی‌اتیلن با حجم ۱۷۰۰ سی‌سی، قطر دهانه ۱۴۰ میلی‌متر و ارتفاع ۱۲۵ میلی‌متر بودند که در داخل هر قفس، یک سرنگ ۲/۵ سی‌سی برای مصرف آب زنبورها و یا شربت ساکارز تعبیه شده بود (شکل ۱). در قفس‌های مربوط به تیمار خمیر شیرین، یک ظرف کوچک پلاستیکی نیز به ابعاد ۱۰ × ۱۰ میلی‌متر به‌عنوان فیدر برای تغذیه خمیر شیرین تعبیه شده بود. شربت ساکارز و خمیر شیرین روزانه در اختیار زنبورها قرار می‌گرفت. همه‌ی قفس‌ها در یک اتاق بسته و تاریک با دمای ۱±۳۰ درجه سلسیوس و رطوبت ۶۵ درصد نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری وزن قسمت‌های مختلف بدن و رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال، در سنین ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روزگی، تعداد ۱۰ عدد زنبور از هر قفس گرفته شده و سپس، روی یخ گذاشته شدند و به آزمایشگاه منتقل شدند.

برای بررسی وزن قسمت‌های مختلف بدن، ابتدا سر و سینه و شکم زنبورها از هم جدا شد و سپس، با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند. برای بررسی رشد غدد هیپوفارنژیال، ابتدا سر زنبورها به‌دقت جدا شد و سپس، سر با استفاده از پنس در ظرف پتری شیشه‌ای کوچک حاوی موم ثابت شد. برای محکم قرار گرفتن سر، دو سنجاق در چشم‌ها و یکی در حفره دهانی قرار داده شد. برش کوچکی بین چشم‌ها و فک پایین در هر طرف صفحه صورت با استفاده از یک تیغ تیز ایجاد شد. با استفاده از پنس ریز، صفحه صورت همراه با حفره دهانی به‌سمت بالا برگردانده شده و با پنس و یک سنجاق به صفحه مومی سنجاق شد. یک قطره محلول آب نمک ریخته شد و سپس، با استفاده از فورسپس بسیار ریز، غدد هیپوفارنژیال به‌آرامی برداشته شدند و روی آن، لام میکروسکوپی گذاشته شده و سپس، با میکروسکوپ دوربین‌دار عکس گرفته شد (Corby-Harris & Snyder, 2018) (شکل ۲). برای اندازه‌گیری آسینی‌ها از نرم افزار Image J نسخه ۱/۵۲ استفاده شد. برای اندازه‌گیری رطوبت لاشه از دستگاه آون در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس استفاده شد. نمونه‌ها پس از خشک شدن به دسیکاتور انتقال داده شدند و پس از آن، با ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شدند. میزان خاکستر با کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس و مقدار چربی لاشه زنبورها با روش سوکسله و حلال دی اتیل اتر به‌مدت شش ساعت اندازه‌گیری شد.

داده‌های ترکیبات لاشه در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS (2013) نسخه ۹/۴ بر اساس رویه GLM و داده‌های مربوط به وزن سر، وزن سینه، وزن شکم، رشد غدد هیپوفارنژیال در قالب طرح داده‌های تکرار شده در زمان بر اساس رویه Mixed همان نرم افزار تجزیه شدند. مقایسه میانگین تیمارها و سن زنبورهای پرستار با استفاده از آزمون t محافظت شده انجام شد. در نهایت، نتایج به‌صورت میانگین حداقل مربعات به‌همراه خطای استاندارد گزارش شد.

نتایج

وزن سر: تاثیر تیمارهای آزمایشی و سن زنبورهای عسل بر وزن سر در جدول ۱ گزارش شده است. در هنگام مقایسه وزن سر زنبورهای عسل در تیمار شاهد مشاهده شد که با افزایش سن زنبورها، وزن سر آن‌ها تغییر چندانی نداشت به‌طوری که وزن سر در تمام سنین از نظر آماری مشابه با وزن سر زنبورها در ۳ روزگی بود. در تیمار خمیر شیرین به‌همراه مکمل، روند تغییرات وزن سر زنبورها تقریباً مشابه با تیمار شاهد بود با این تفاوت که فقط در سن ۶ روزگی وزن سر به‌طور معنی‌داری بیشتر از سن ۳ روزگی بود ($P<۰/۰۵$). روند تغییرات وزن سر در تیمار شربت ساکارز به‌همراه مکمل، متفاوت با دو تیمار دیگر بود به‌شکلی که وزن سر در سنین ۶، ۹ و ۱۲ روزگی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سن ۳ روزگی بود ($P<۰/۰۵$). در هنگام مقایسه میانگین دوره‌های آزمایشی مشاهده شد که وزن سر زنبورها در ۶ و ۹ روزگی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سن‌های ۳ و ۱۲ روزگی بود ($P<۰/۰۵$). میانگین تیمارهای پژوهشی وزن سر در تیمار شربت ساکارز به‌همراه مکمل به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو تیمار دیگر بود ($P<۰/۰۵$).

وزن سینه: تاثیر تیمارهای پژوهشی و سن زنبورهای عسل بر وزن سینه در جدول ۲ گزارش شده است. با افزایش سن زنبورها در تیمار شاهد، وزن سینه آن‌ها از نظر آماری تغییر معنی‌داری نداشت در حالی که در تیمار شربت ساکارز و همچنین خمیر شیرین به‌همراه مکمل در سن ۹ روزگی، وزن سینه به‌طور معنی‌داری بیشتر از سن ۳ روزگی بود ($P<۰/۰۵$). در مقایسه میانگین سن، بیشترین وزن سینه زنبورهای عسل در سن ۹ روزگی مشاهده شد که با سن ۳ روزگی اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$)، ولی اختلاف معنی‌داری در سایر سنین مشاهده نشد. با مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد که وزن سینه زنبورها در تیمار شربت ساکارز و خمیر شیرین با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند، ولی در هر دو این تیمارها، وزن سینه به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود ($P<۰/۰۵$).

وزن شکم: تاثیر تیمارها و سن زنبورهای عسل بر وزن شکم در جدول ۳ گزارش شده است. تیمارهای آزمایشی تاثیر معنی‌داری بر وزن شکم زنبورهای پرستار نداشتند، ولی وزن شکم زنبورهای پرستار در سنین ۶ تا ۱۲ روزگی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سن ۳ روزگی بود ($P<۰/۰۵$).

اندازه غدد هیپوفارنژیال: تاثیر تیمارهای پژوهشی و سن زنبورهای پرستار بر رشد غدد هیپوفارنژیال در جدول ۴ گزارش شده است. در تیمارهای شربت و خمیر شیرین به‌همراه مکمل و همچنین، میانگین سنین مختلف، اختلاف معنی‌داری در رشد غدد هیپوفارنژیال مشاهده شد به‌طوری که بیشترین رشد در ۹ روزگی و سپس، ۶ روزگی و ۱۲ روزگی و در انتها، ۳ روزگی مشاهده شد ($P<۰/۰۵$)، در حالی که در تیمار شاهد، اختلاف معنی‌دار در رشد غدد هیپوفارنژیال در سنین مختلف مشاهده نشد. در مقایسه میانگین تیمارهای مختلف و همچنین، سنین ۶ و ۹ روزگی، بیشترین رشد غدد هیپوفارنژیال در تیمار شربت ساکارز به‌همراه مکمل بود که با دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$).

Fig. 1. Cages designed for this research

شکل ۱- قفس‌های طراحی شده جهت این پژوهش

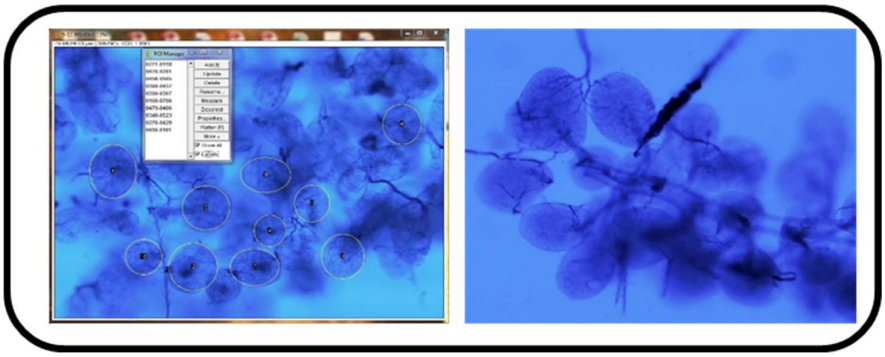

Fig. 2. Measuring the acini growth rate of hypopharyngeal glands of honey bees at different ages (in μm^2)
شکل ۲- اندازه‌گیری میزان رشد آسینی غدد هیپوفارنژیال زنبورهای عسل در سنین مختلف (بر حسب میکرومتر مربع)

جدول ۱- مقایسه میانگین (± خطای معیار) وزن سر زنبورهای عسل در سنین مختلف (بر حسب میلی‌گرم)
Table 1. Comparison of mean (± standard error) head weight of honey bees at different ages (in mg)

Age	Control	Supplement in dilute syrup	Supplement in a sweet paste	Average age of bees
3 days old	8.7 ± 0.17^{ab}	8.7 ± 0.17^{c}	8.6 ± 0.17^{b}	8.7 ± 0.09^{c}
6 days old	$9.1 \pm 0.17^{a,y}$	$10.4 \pm 0.17^{a,x}$	$9.1 \pm 0.17^{ab,y}$	9.5 ± 0.09^{a}
9 days old	$9.2 \pm 0.17^{a,y}$	$10.5 \pm 0.17^{a,x}$	$9.4 \pm 0.17^{a,y}$	9.7 ± 0.09^{a}
12 days old	$8.4 \pm 0.17^{b,y}$	$9.7 \pm 0.20^{b,x}$	$8.9 \pm 0.17^{ab,xy}$	9.1 ± 0.09^{b}
Average of the treatments	8.9 ± 0.9^{y}	9.9 ± 0.09^{x}	9.0 ± 0.08^{y}	

[a-c] The presence of dissimilar letters in each column indicates a significant difference in different ages ($P<0.05$).
[x-y] The presence of dissimilar letters in each row indicates a significant difference between different treatments ($P<0.05$).

جدول ۲- مقایسه میانگین (± خطای معیار) وزن سینه زنبورهای عسل در سنین مختلف (بر حسب میلی‌گرم)
Table 2. Comparison of mean (± standard error) thorax weight of honey bees at different ages (in mg)

Age	Control	Supplement in dilute syrup	Supplement in a sweet paste	Average age of bees
3 days old	37.4 ± 0.87	37.2 ± 0.87^{bc}	36.7 ± 0.87^{b}	37.1 ± 0.13^{b}
6 days old	36.6 ± 0.87^{y}	$39.5 \pm 0.87^{ab,x}$	$37.9 \pm 0.87^{ab,y}$	38.1 ± 0.13^{ab}
9 days old	35.7 ± 0.87^{y}	$40.7 \pm 0.87^{a,x}$	$40.1 \pm 0.87^{a.x}$	38.8 ± 0.13^{a}
12 days old	35.3 ± 0.99^{y}	$38.6 \pm 0.99^{abc,x}$	$38.1 \pm 0.86^{ab,x}$	37.3 ± 0.14^{ab}
Average of the treatments	36.3 ± 0.41^{y}	39.1 ± 0.40^{x}	37.8 ± 0.39^{x}	

[a-c] The presence of dissimilar letters in each column indicates a significant difference in different ages ($P<0.05$).
[x-y] The presence of dissimilar letters in each row indicates a significant difference between different treatments ($P<0.05$).

جدول ۳- مقایسه میانگین (± خطای معیار) وزن شکم زنبورهای عسل در سنین مختلف (بر حسب میلی‌گرم)
Table 3. Comparison of average (± standard error) abdomen weight of honey bees at different ages (in mg)

Age	Control	Supplement in dilute syrup	Supplement in a sweet paste	Average age of bees
3 days old	47.6 ± 5.36^{b}	37.6 ± 5.36^{b}	37.9 ± 5.36^{b}	41.1 ± 2.77^{b}
6 days old	63.7 ± 5.36^{a}	73.4 ± 5.36^{a}	58.5 ± 5.36^{a}	65.2 ± 2.77^{a}
9 days old	76.8 ± 5.36^{a}	62.4 ± 5.36^{a}	61.6 ± 5.36^{a}	67.0 ± 2.77^{a}
12 days old	63.3 ± 6.19^{ab}	62.6 ± 6.19^{a}	61.1 ± 5.36^{a}	62.3 ± 3.07^{a}
Average of the treatments	62.8 ± 2.64	59.1 ± 2.64	54.8 ± 2.54	

[a-b] The presence of dissimilar letters in each column indicates a significant difference in different ages ($P<0.05$).

اندازه غدد هیپوفارنژیال: تاثیر تیمارهای آزمایشی و سن زنبورهای پرستار بر رشد غدد هیپوفارنژیال در جدول ۴ گزارش شده است. در تیمارهای شربت و خمیر شیرین به‌همراه مکمل و همچنین، میانگین سنین مختلف، اختلاف معنی‌داری در رشد غدد هیپوفارنژیال مشاهده شد به‌طوری که بیشترین رشد در ۹ روزگی و سپس، ۶ روزگی و ۱۲ روزگی و در انتها، ۳ روزگی بود ($P<0/05$)، در حالی که در تیمار شاهد، اختلاف معنی‌دار در رشد غدد هیپوفارنژیال در

سنین مختلف مشاهده نشد. در مقایسه میانگین تیمارهای مختلف و همچنین، سنین ۶ و ۹ روزگیف بیشترین رشد غدد هیپوفارنژیال در تیمار شربت ساکارز به‌همراه مکمل بود که با دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$). *همبستگی وزن سر با رشد غدد هیپوفارنژیال:* همبستگی بین وزن سر با رشد غدد هیپوفارنیژیال زنبورهای پرستار در جدول ۵ گزارش شده است. در سنین ۶، ۹ و ۱۲ روزگی بین وزن سر زنبورهای پرستار با رشد غدد هیپوفارنژیال همبستگی مثبت معنی‌دار وجود داشت ($P<۰/۰۵$)، در حالی که در سن ۳ روزگی، همبستگی بین دو صفت مذکور مشاهده نشد. همچنین، در تیمارهای شربت ساکارز و خمیر شیرین به‌همراه مکمل، همبستگی مثبت معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$)، در حالی که در تیمار شاهد، بین دو صفت وزن سر و سن زنبورهای پرستار، همبستگی وجود نداشت.

ترکیبات لاشه: تاثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان ترکیبات لاشه در جدول ۶ نشان می‌دهد که هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود نداشت.

بحث

وزن سر زنبورهای پرستار تغذیه شده با شربت ساکارز به‌همراه مکمل بیشتر از دو تیمار دیگر بود که با گزارش Hendriksma (2019) و Hrassnigg and Crailsheim (1998) مطابقت دارد. Hendriksma et al. (2019) گزارش کرد سر زنبورهای تغذیه شده با مکمل اسید آمینه در قفس، رشد قابل توجهی دارد و تغذیه مکمل اسیدآمینه باعث رشد کلنی می‌شود. در پژوهش حاضر، اندازه وزن سر زنبورهای پرستار و میزان رشد آسینی‌های غدد هیپوفارتژیال در ۶ و ۹ روزگی در تیمار شربت با مکمل در مقایسه با سایر سنین بیشتر بود که با گزارش Crailsheim and Hrassnigg (1998) مطابقت دارد. همچنین، وزن سر زنبورهای عسل با رشد غدد هیپوفارنژیال، همبستگی مثبت داشت و این همبستگی برای تیمارهای شربت و خمیر شیرین به‌همراه مکمل بالا بود. Hrassnigg and Crailsheim (1998) نیز گزارش کردند که وزن سر زنبورهای عسل با میانگین حجم آسینی، همبستگی مثبت دارد.

قطر آسینی‌های غدد هیپوفارنژیال شاخصی برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی زنبورهای عسل کارگر است که رشد آنها از رشد نوزادان کلنی حمایت می‌کند (Dolezal & Toth, 2018). در دوره زمانی که زنبورهای کارگر وظیفه پرستاری دارند چنانچه با منابع پروتئینی مناسب تغذیه شوند غدد هیپوفارنژیال به‌خوبی رشد می‌کنند و زمانی که زنبورها چراگر می‌شوند این غدد تحلیل می‌روند (Hrassnigg & Crailsheim, 1998; Saffari et al., 2010)، اندازه غدد هیپوفارنژیال به‌مقدار پروتئین گرده مصرفی وابسته است و تغذیه زنبورهای پرستار با خوراک کم کیفیت سبب کوچک‌تر شدن غدد هیپوفارنژیال می‌شود و به‌همین دلیل، اندازه این غدد یک شاخص مناسب برای تغذیه در زنبورهای بالغ جوان است (Brodschneider et al., 2009). مکمل‌های پروتئینی نیز غدد هیپوفارنژیال زنبورهای جوان را برای تولید ژله رویال تحریک می‌کنند و به‌همین دلیل، تغذیه کلنی با مکمل پروتئینی می‌تواند مشابه با گرده گل باعث رشد جمعیت کلنی شود (López-Alonso, 2012; DeGrandi-Hoffman et al., 2018). Mofller and Wang (1970) گزارش کردند زنبورهای کارگری که دچار کمبود پروتئین بودند در مقایسه با زنبورهایی که با پروتئین کافی تغذیه شدند رشد غدد هیپوفارنژیال و فعالیت پرستاری کمتری داشتند و رفتار چراگری را سریع‌تر آغاز کردند. Vaezi et al., (2023) گزارش کردند استفاده از اسید آمینه ایزولوسین به‌مقدار ۱/۵ میکروگرم در یک لیتر شربت در مقایسه با تیمار شاهد سبب افزایش رشد غدد هیپوفارنژیال می‌شود. Darvishzadeh (2015) نیز نشان داد اسید آمینه ال-پرولین با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در جیره بر رشد غدد هیپوفارنژیال و تحریک کلنی به مصرف شربت ساکارز، تأثیر مثبتی دارد. در این پژوهش نیز استفاده از مکمل پرودی که حاوی اسیدآمینه است در تیمار شربت ساکارز سبب بزرگ‌تر شدن غدد هیپوفارنژیال شد که مشابه با گزارش Otis and Huang (1989) است که در خوراک‌های حاوی افزودنی‌های پروتئینی زنبورهای کارگر دارای آسینی بزرگ‌تری در لوبول‌های غدد هیپوفارنژیال بودند. در عین-حال، اندازه آسینی‌ها تحت تاثیر سن زنبور پرستار است (Saffari et al., 2010).

مشابه با نتایج این پژوهش، Altaye (2010) و Darvishzadeh (2015) گزارش کردند غدد هیپوفارنژیال در ۹ روزگی به بیشترین اندازه خود می‌رسند و سپس، کوچک‌تر می‌شوند. همچنین، مکمل پرودی حاوی ویتامین‌ها و مواد معدنی است که برای رشد غدد هیپوفارنژیال زنبورها ضروری هستند. Mohebodini et al. (2018) گزارش کردند زنبورهای تغذیه شده با سطوح بالای تیامین، سطح آسینی

بیشتری دارند. در آزمایش Talal and Zahra (2018) نیز زنبورهای تغذیه شده با ویتامین C مخلوط شده با منابع پروتئینی دارای غدد هیپوفارنژیال بزرگ‌تری بودند. آن‌ها گزارش کردند که ویتامین C مخلوط با منابع پروتئینی (آرد سویا) می‌تواند به‌عنوان غذای مکمل مناسبی در فصول خشک‌سالی استفاده شود.

زنبورهای عسل بالغ که وظیفه چراگری بر عهده دارند برای جمع‌آوری گرده و شهد به ماهیچه‌های پرواز قوی قفسه سینه نیاز دارند (Brodschneider & Crailsheim, 2010). وزن تازه و خشک قفسه سینه معیاری برای رشد عضلانی پرواز است (Brodschneider et al., 2009)، در این پژوهش تیمارهای شربت ساکارز و خمیر شیرین که دارای مکمل پرودی ۴۰۰ بودند در مقایسه با گروه شاهد دارای وزن سینه بالاتری بودند. مکمل پرودی منبعی پروتئینی و حاوی اسیدهای آمینه است و بر اساس گزارش Hendriksma (2019)، استفاده از مکمل‌های اسید آمینه باعث افزایش وزن قفسه سینه زنبورهای عسل می‌شود. این موضوع از این نظر مهم است که بیشتر بودن توده عضلانی پرواز سبب افزایش چراگری زنبور و به‌تبع آن، رشد کلنی می‌شود. تیمارها و سن زنبورهای عسل بر وزن شکم زنبورهای پرستار تاثیر معنی‌دار نداشت که مغایر با نتایج Hendriksma (2019) است که وزن شکم زنبورهای عسل تغذیه شده با مکمل اسید آمینه بیشتر از تیمار شربت ساکارز بود.

مقایسه میانگین میزان ترکیبات لاشه زنبورهای عسل نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد که این نتایج با گزارشات Abbasian and Ebadi (2002) و Nehzati (2009) تفاوت دارد که ممکن است به‌علت استفاده از سطوح بالاتر پروتئین در پژوهش‌های آن‌ها باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین (± خطای معیار) میزان رشد آسینی غدد هیپوفارنژیال زنبورهای عسل در سنین مختلف (میکرومتر مربع)

Table 4. Comparison of mean (± standard error) of acini growth rate of hypopharyngeal glands of honey bees at different ages (square micrometers)

Age	Control	Supplement in dilute syrup	Supplement in a sweet paste	Average age of bees
3 days old	83.3 ± 3.06	85.7 ± 3.06^{d}	81.9 ± 3.06^{b}	83.6 ± 1.56^{d}
6 days old	82.3 ± 3.06^{y}	$131.4 \pm 3.06^{b,x}$	$83.9 \pm 5.59^{b,y}$	99.1 ± 1.56^{b}
9 days old	82.3 ± 3.06^{z}	$149.6 \pm 3.06^{a,x}$	$92.6 \pm 3.04^{a,y}$	108.2 ± 1.56^{a}
12 days old	81.1 ± 3.48^{y}	$107.3 \pm 3.48^{c,x}$	$83.5 \pm 3.04^{b,y}$	90.7 ± 1.74^{c}
Average of the treatments	82.3 ± 1.58^{y}	118.5 ± 1.58^{x}	85.3 ± 1.52^{y}	

[a-d] The presence of dissimilar letters in each column indicates a significant difference in different ages (P<0.05).
[x-z] The presence of dissimilar letters in each row indicates a significant difference between different treatments (P<0.05).

جدول ۵- همبستگی بین وزن سر و رشد غدد هیپوفارنژیال زنبورهای عسل در سنین مختلف

Table 5. Correlation between head weight and growth of hypopharyngeal glands of honey bees at different ages

Age	Control	Supplement in dilute syrup	Supplement in a sweet paste	Average age of bees
3 days old	0.111	0.261	0.198	0.216
6 days old	0.791	0.463	0.846	0.925 **
9 days old	0.785	0.663	0.923	0.935 **
12 days old	0.787	0.959	0.221	0.847 **
Average of the treatments	0.201	0.903 **	0.772 **	0.878 **

** Significant at P<0.05.

جدول ۶- مقایسه میانگین (± خطای معیار) ترکیبات لاشه زنبورعسل (درصد)

Table 6. Comparison of the average (± standard error) composition of honey bee carcasses (percentage)

Item	Control	Supplement in dilute syrup	Supplement in a sweet paste
Moisture	1.20 ± 78.6	0.12 ± 77.2	1.49 ± 77.1
Ash	0.11 ± 5.1	0.51 ± 6.6	0.22 ± 6.4
Fat	0.84 ± 10.1	0.82 ± 10.7	0.53 ± 11.2

نتیجه‌گیری کلی

از نتایج این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از مکمل پرودی ۴۰۰ که حاوی اسیدهای آمینه، مواد معدنی و ویتامینی است در هنگام نبود و یا کمبود مواد پروتئینی (گرده)، می‌تواند اثر مثبتی بر رشد غدد هیپوفارنژیال و همچنین، رشد قفسه سینه برای عملکردهای بهتر در دوره‌های چراگری زنبورهای عسل داشته باشد. همچنین، استفاده از این مکمل با تقویت زنبورهای پرستار برای تولید بیشتر ژل رویال سبب افزایش جمعیت کلنی می‌شود. نتایج این پژوهش همچنین نشان می‌دهد که وزن سر زنبورهای پرستار دارای همبستگی مثبتی با رشد غدد هیپوفارنژیال است و می‌تواند به‌عنوان شاخصی از درجه رشد غدد هیپوفانژیال باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت مالی شرکت کاوشگر سپهر جوان در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را داریم. همچنین، بر خود لازم می‌دانیم مراتب تشکر صمیمانه خود را از حوزه معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌عمل آوریم.

فهرست منابع

Abbasian, A. R., & Ebadi. R. (2002) Nutritional Effect of Some Protein Sources on Longevity, Protein and Fatbody of Bee Workers (*Apis mellifera L.*). *Journal of Water and Soil Science*, *6*(2), 149-158. [In Persian]

Altaye, S, Z., Pirk, C. W., Crewe, R. M., & Nicolson, S. W. (2010). Convergence of carbohydrate-biased intake targets in caged worker honeybees fed different protein sources. *Journal of Experimental Biology*, *213*(19), 3311-3318. doi: 10.1242/jeb.046953

Avni, D., Hendriksma, H. P., Dag, A., Uni, Z., & Shafir, S. (2014). Nutritional aspects of honey bee-collected pollen and constraints on colony development in the eastern Mediterranean. *Journal of Insect Physiology*, *69*, 65-73. doi: 10.1101/008524

Black, J. (2006). Honeybee nutrition: review of research and practices. Rural Industries Research and Development Corporation. Canberra, Australia. Pp. 11-30

Bonoan, R. E., O'Connor, L. D., & Starks, P. T. (2018). Seasonality of honey bee (*Apis mellifera*) micronutrient supplementation and environmental limitation. *Journal of Insect Physiology*, *107*, 23-28. doi: 10.1016/j.jinsphys.2018.02.002

Brodschneider, R., & Crailsheim, K. (2010). Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, *41*(3), 278-294.

Brodschneider, R., Riessberger-Gallé, U., & Crailsheim, K. (2009). Flight performance of artificially reared honeybees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, *40*(4), 441-449. doi: 10.1051/apido/2009006

Corby-Harris, V., & Snyder, L. A. (2018). Measuring hypopharyngeal gland acinus size in honey bee (*Apis mellifera*) workers. *Journal of Visualized Experiments*, *139*, e58261. doi: 10.3791/58261-v

Darvishzadeh, A. (2015). Effect of proline as a nutrient on hypopharyngeal glands during development of *Apis mellifera* (*Hymenoptera: Apidae*). *Arthropods*, *4*(4), 137.

De Groot, A. P. (1952). Amino acid requirements for growth of the honeybee (*Apis mellifica L.*). *Experientia*, *8*(5), 192-194. doi: 10.1007/bf02173740

DeGrandi-Hoffman, G., Chen, Y., Rivera, R., Carroll, M., Chambers, M. E., Hidalgo, G., & Watkins deJong, E. (2016). Honey bee colonies provided with natural forage have lower pathogen loads and higher overwinter survival than those fed protein supplements. *Apidologie*, *47*, 186-196. doi: 10.1007/s13592-015-0386-6

DeGrandi-Hoffman, G., Gage, S. L., Corby-Harris, V., Carroll, M., Chambers, M., Graham, H., Watkins deJong, E., Hidalgo, G, Calle S, Azzouz-Olden, F., Meador, C., Snyder, L., & Ziolkowski, N. (2018). Connecting the nutrient composition of seasonal pollens with changing nutritional needs of honey bee (*Apis mellifera L.*) colonies. *Journal of Insect Physiology*, *109*, 114-124. doi: 10.1016/j.jinsphys.2018.07.002

DeGrandi-Hoffman, G., Wardell, G., Ahumada-Segura, F., Rinderer, T., Danka, R., & 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*, *47*(4), 265-270. doi: 10.3896/ibra.1.47.4.06

Dolezal, A. G., & Toth, A. L. (2018). Feedback between nutrition and disease in honey bee health. *Current Opinion in Insect Science*, *26*, 114-119. doi: 10.1016/j.cois.2018.02.006

Hendriksma, H. P., Pachow, C. D., & 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*, *117*, 103906. doi: 10.1016/j.jinsphys.2019.103906

Hrassnigg, N., & Crailsheim, K. (1998). Adaptation of hypopharyngeal gland development to the brood status of honeybee (*Apis mellifera L.*) colonies. *Journal of Insect Physiology*, *44*(10), 929-939. doi: 10.1016/s0022-1910(98)00058-4

Huang, Z. Y., & Otis, G. W. (1989). Factors determining hypopharyngeal gland activity of worker honey bees (*Apis mellifera L.*). *Insectes Sociaux*, *36*(4), 264-276. doi: 10.1007/bf02224880

Kalateh, R., & Dastar, B. (2023). Introduction and considerations of using laboratory cages in bee experiments. *Honeybee Science Journal*, *14*(26), 2-17. doi: 10.22034/hbsj.2023.129867 [In Persian]

López-Alonso, M. (2012). Trace minerals and livestock: Not too much not too little. *ISRN Veterinary Science*, *2*, 704825. doi: 10.5402/2012/704825

Mattila, H. R., & Otis, G. W. (2006). Effects of pollen availability and Nosema infection during the spring on division of labor and survival of worker honey bees (*Hymenoptera: Apidae*). *Environmental Entomology*, *35*(3), 708-717. doi: 10.1603/0046-225x-35.3.708

Mohebodini, H., Maqsoudlou, A., Dastar, B., & Tahmasebi, Gh. (2018). Royal jelly production, amount of royal jelly thiamine and hypopharyngeal glands development in Iranian honey bee (*Apis mellifera Meda*) colonies fed with different levels of thiamine. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*, *31*(4), 417-425. [In Persian]

Nehzati, G. A., Nikkhah, A., Tahmasbi, G. H., & Moradi Shahr Babak, M. (2009). Effect of supplemental diets of corn gluten, soybean meal and bakery yeast on body weight, protein and fat percent in worker honey bees. *Iranian Journal of Animal Science*, *39*(1), 49-56. [In Persian]

Saffari, A., Kevan, P. G., & Atkinson, J. (2010). Consumption of three dry pollen substitutes in commercial apiaries. *Journal of Apicultural Science*, *54*(1), 5-12.

Salama, S. A. (2020). Effect of some food additives on honey bee hypopharyngeal glands (*Apis mellifera*) in the south of Saudi Arabia. *World Wide Journal of Multidisciplinary Research and Development*, *6*(11), 53-60.

Somerville, D. (2000). Honey bee nutrition and supplementary feeding. Agnote DAI/178. *NSW Agriculture*.

Steen, S. (2007). Effect of a home-made pollen substitute on honey bee. Sterols in the honey bee and the yellow fever mosquito. *Journal of Apicultural Research*, *46*(2), 114-119. doi: 10.3896/ibra.1.46.2.09

Tosi, S., Nieh, J. C., Sgolastra, F., Cabbri, R., & Medrzycki, P. (2017). Neonicotinoid pesticides and nutritional stress synergistically reduce survival in honey bees. *Proceedings of the Royal Society, Biological Sciences*, *284*(1869), 20171711. doi: 10.1098/rspb.2017.1711

Vaezi, H., Rezayazdi, K., Nehzati, G. A., & Ghorbani, V. (2023). Effect of feeding different levels of the isoleucine amino acid on hemolymph protein concentration and growth of hypopharyngeal glands in worker bees (*Apis mellifera*). *Animal Production Research*, *11*(4), 91-102. doi: 10.22124/ar.2022.22023.1696 [In Persian]

Wang, D. I., & Mofller, F. E. (1970). The division of labor and queen attendance behavior of Nosema-infected worker honey bees. *Journal of Economic Entomology*, *63*(5), 1539-1541. doi: 10.1093/jee/63.5.1539

Zahra, A., & Talal, M. (2008). Impact of pollen supplements and vitamins on the development of hypopharyngeal glands and on brood number in honey bees. *Journal of Apicultural Science*, *52*(2), 5-12.