نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۳۹، تابستان ۱۴۰۲
ص‌ص: ۱۲۳~۱۳۴

بررسی تأثیر خمیر شیرین حاوی نانومکمل AVP-4 بر میزان تخم‌گذاری ملکه، اندازه جمعیت و خصوصیات بیوشیمیایی لاشه در کلنی های زنبور عسل (*Apis mellifera*)

* مسعود رضوان[1]، غلامرضا داشاب[1*]، مصطفی یوسف الهی[1]، ناصر تاج آبادی[2]، کمال شجاعیان[1]، محمد بهجتیان اصفهانی[3]

۱- گروه علوم دامی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- استادیار، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات ، آموزش و ترویج کشاورزی،کرج، ایران

۳- مدیر تحقیق و توسعه شرکت دانش بنیان اسپادانا مکمل، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت : مهر ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش : آبان ۱۴۰۱

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۵۴۴۱۴۷۹

Email: dashab@uoz.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ ASJ.2022.360217.2261

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر خمیر شیرین حاوی نانومکمل AVP-4 بر روی میزان تخم‌ریزی ملکه، وزن لاشه، اندازه جمعیت، پرورش نوزاد، پروتئین و چربی بدن در زنبور عسل اروپایی می‌باشد. در این آزمایش از ۲۰ کلنی با ملکه همسن و همسان‌سازی شده استفاده شد. کندوهای مورد استفاده از نوع لانگستروت بوده و کلنی‌ها از نظر جمعیت نوزادان، جمعیت زنبوران بالغ و مقادیر ذخایر غذایی(گرده و عسل)یکسان‌سازی شدند. آزمایش مزرعه در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تیمار شامل تیمار اول شاهد خمیرشیرین بدون مکمل، تیمار دوم خمیرشیرین حاوی ۲/۵٪ نانومکمل، تیمار سوم خمیرشیرین حاوی ۵٪ نانومکمل و تیمار چهارم خمیرشیرین حاوی ۷/۵ ٪ نانومکمل در پنج تکرار انجام گرفت. اندازه‌گیری میزان تخم و لارو و شفیره هر ۱۵ روز یکبار صورت پذیرفت و اندازه‌گیری جمعیت کلنی به صورت قابی صورت پذیرفت. برای تعیین پروتئین خام و چربی بدن بر اساس روش‌های AOACاستفاده شد. نتایج به دست آمده نشان داد با مقایسه میانگین تخم گذاری ملکه، پرورش نوزاد، اندازه جمعیت و پروتئین خام در کل دوره آزمایشی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در کل دوره آزمایشی وجود نداشت (P>۰/۰۵). مقایسه میانگین میزان چربی (عصاره اتری) تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارها داشت (P<۰/۰۵). استفاده از نانومکمل AVP-4 در تغذیه زنبوران عسل تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها بر تخم‌ریزی ملکه، پرورش نوزاد، جمعیت کلنی و درصد پروتئین خام لاشه نسبت به شاهد نداشت. لذا جهت تایید نتایج نیار به انجام آزمایشات تکمیلی در زمان‌های مختلف به ویژه فصول خشک و اندازه‌گیری صفات بیشتر در کلنی زنبور می باشد.

واژه‌های کلیدی: مکمل اسید آمینه، ویتامین و معدنی، زنبورعسل، خمیر شیرین، ملکه، زنبورهای کارگر.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 139 pp: 123-134

Investigating the effect of sweet paste containing AVP-4 Nano-supplement on queen laying, population size and biochemical characteristics of the carcass in honey bee (*Apis mellifera*) colonies.

By: Masoud Rezvan[1], Gholam Reza Dashab[1*], Mostafa Yousef Elahi[1], Nasser Tajabadi[2], Kamal Shojayan[1], Mohammad Behjatian Esfahani[3]
1: Department of Animal Science, University of Zabol, Zabol, Iran
2: Head of Honey Bee Research Department, Country Animal Science Research Institute, Karaj, Iran
3: Director of Research and development of Danesh Banyan Spadana Moklam, Isfahan, Iran
Corresponding Author: dashab@uoz.ac.ir

Received: October 2022 **Accepted: November 2022**

The aim of this research is to investigate the effect of sweet paste containing AVP-4 Nanosupplement on queen egg laying rate, carcass weight, population size, brood rearing, protein and body fat in European honey bees. In this experiment, 20 colonies with the same age and homogenized queen were used. The hives used were of the Langstroth type and the colonies were homogenized in terms of the population of newborns, the population of adult bees, and the amount of food reserves (pollen and honey). The field experiment was carried out in the form of a completely randomized design in four treatments, including the first control treatment of sweet dough without Nano-supplement, the second treatment of sweet dough containing 2.5% of Nano-supplement, the third treatment of sweet dough containing 5% of Nano-supplement, and the fourth treatment of sweet dough containing 7.5% of Nanosupplement in five replications. The amount of eggs, larvae and pupae was measured every 15 days and the colony population was measured in a frame. It was used to determine crude protein and body fat based on AOAC methods. The obtained results showed that there was no significant difference between the treatments in the entire experimental period by comparing the mean egg laying of the queen, brood rearing, population size and crude protein in the entire experimental period ($P>0.05$). Comparison of the average amount of fat (ether extract) had a significant difference among the treatments ($P<0.05$). The use of AVP-4 supplement in feeding honey bees had no significant difference between the treatments on queen egg laying, brood rearing, colony population and percentage of raw carcass protein compared to the control. Therefore, in order to confirm the results, additional tests should be done at different times especially dry seasons and more traits should be measured in the bee colony.

Key words: Amino acid, Vitamin and mineral supplement, Honey bee, Sweet paste, Queen, Worker bees

مقدمه

زنبورهای عسل به‌دلیل فعالیت‌های گرده‌افشانی، از نظر اقتصادی حیاتی‌ترین حشرات اجتماعی برای اکوسیستم و تامین مواد غذایی ما هستند. زنبورهای عسل سهم قابل توجهی در گرده افشانی محصولات کشاورزی و گیاهان بومی و در نتیجه کشاورزی پایدار و تنوع زیستی دارند. این امر در کنار تولید عسل، این حشرات را از نظر اکولوژیکی و اقتصادی نیز مهم می‌کند. زنبورهای عسل، ژل رویال، عسل، موم، بره موم و زهر تولید می‌کنند (Ahmad و همکاران، ۲۰۲۰؛ Higes و همکاران، ۲۰۱۰).

به طور کلی، زنبورهای عسل از کربوهیدرات‌ها و لیپیدها برای پر کردن ذخایر انرژی، ترکیبات پروتئینی برای رشد و نمو استفاده می‌کنند و مواد معدنی، ویتامین‌ها و آب اجزای جدایی‌ناپذیر فرآیندهای متابولیک هستند (Frizzera و همکاران، ۲۰۲۰).

بیشتر موجودات زنده برای فعالیت‌های روزانه خود به یک رژیم غذایی متعادل به شکل درشت مغذی‌ها (پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها) و ریز مغذی‌ها (مواد معدنی و نمک) نیاز دارند (Adgaba و همکاران، ۲۰۲۰). تغذیه زنبورهای عسل به دو دسته تقسیم می شود؛ از جمله شهد و گرده جمع‌آوری شده از گل ها. شهد گل منبع اصلی کربوهیدرات‌ها است، در حالی که گرده پروتئین‌ها، لیپیدها، ویتامین‌ها، استرول‌های ضروری و برخی ریزمغذی‌های دیگر را که برای زنده ماندن نیاز دارند را تامین می کند. (Al-Kahtani و همکاران، ۲۰۲۰؛ Brodschnei و Crailsheim، ۲۰۱۰).

کمبود یا عدم وجود گرده در تغذیه زنبور عسل موجب عدم یا کاهش تولید ژله رویال، کاهش میزان تخم‌گذاری ملکه، عدم رشد مناسب تخمدان‌های ملکه، کاهش طول عمر زنبورها، عدم تولید زهر به مقدار کافی، کاهش تولید موم و شان‌سازی، حساس شدن نسبت به بیماری‌ها مخصوصاً بیماری نوزما، عدم توانایی لازم برای زمستان‌گذرانی و در آخر باعث کاهش راندمان فعالیت کندو و کاهش جمعیت کلنی خواهد شد (De Grandi-Hoffman و همکاران، ۲۰۰۸؛ Rammesh وVankiw، ۲۰۰۷). زنبورهای بالغ برای انجام وظایف اساسی بدن مثل ترمیم بافت‌ها، سیستم ایمنی، تولید آنزیم‌ها و پپتیدها نیازمند اسیدهای آمینه هستند، با افزایش سن نیاز به اسیدهای آمینه ضروری کاهش می-یابد (Vande Restو همکاران، ۲۰۱۳).

ویتامین‌ها در دانه گرده عبارتند از ویتامین سی، ویتامین ای، پرو-ویتامین آ، ویتامین‌های گروه ب شامل تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، پانتوتنیک اسید، پیریدوکسین، اسید فولیک و بیوتین می باشند که برای رشد طبیعی نوزادان عسل ضروری است. همچنین گرده حاوی مقادیر کمی ویتامین ای و دی است (Somerville، ۲۰۰۵).

تعدادی از مواد معدنی مانند پتاسیم (K)، فسفر (P)، منیزیم (Mg)، کلسیم (Ca)، سدیم (Na)، گوگرد (S)، آهن (Fe)، مس (Cu)، منگنز (Mn) روی (Zn)، کروم (Cr)، نیکل (Ni) و سلنیوم (Se) در نمونه‌های گرده زنبور عسل در سراسر جهان یافت شده است. جهت تنظیم مناسب فرآیندهای فیزیولوژیکی و مسیرهای متابولیکی، مواد معدنی ضروری هستند. استفاده کافی از آن‌ها برای محافظت از سلول، عملکرد، سلامت و حفظ هموستاز اساسی است. کلسیم، مس، آهن، سلنیوم و روی نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی دارند (Stathopoulou و همکاران، ۲۰۱۲).

کنسانتره تقویتی زنبور عسل AVP-4 (شرکت دانش بنیان اسپادانا مکمل اصفهان) به عنوان نسل جدید نانومکمل‌های خوراک زنبور عسل می‌باشد که حاوی ویتامین A، ویتامین D، ویتامین E، ویتامین K، ویتامین های B1، B2، B6، B12، ویتامین H2، ویتامین C، نیاسین،کلسیم پانتوتنات، اسیدفولیک، کولین کلراید، مس، روی، منگنز، آهن، سدیم، پتاسیم، لیزین، متیونین با مقادیر تضمین شده می‌باشند. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر خمیر شیرین حاوی نانومکمل AVP-4 بر روی میزان تخم‌ریزی ملکه، وزن لاشه، اندازه جمعیت، پرورش نوزاد، پروتئین و چربی بدن در زنبور عسل اروپایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در فصل بهار سال ۱۴۰۱در زنبورستان شخصی در استان گلستان، شهرستان مینودشت، مراتع روستای ترسه به مدت ۴۵ روز در شرایط مزرعه انجام شد.در این آزمایش از ۲۰ کلنی با ملکه همسن و همسان‌سازی شده برای انجام کار استفاده شد. کندوهای مورد استفاده از نوع لانگستروت بوده و کلنی‌ها از نظر جمعیت نوزادان، جمعیت زنبوران بالغ و مقادیر ذخایر غذایی (گرده و عسل) یکسان‌سازی شدند.

برای تهیه جیره‌های آزمایشی (خمیر شیرین) از مخلوط پودر شکر، عسل، آب و نانومکمل AVP-4 محصول شرکت تولیدی مکمل های غذایی زنبور عسل (شرکت اسپادانا مکمل اصفهان) استفاده شد. جیره‌های آزمایشی به عنوان مکمل غذایی شامل چهار سطح مختلف از نانومکمل کنسانتره زنبور عسل AVP-4 محصول شرکت دانش بنیان اسپادانا مکمل می‌باشد که عبارتند از: تیمار اول شاهد بدون نانومکمل، تیمار دوم خمیرشیرین حاوی

۲/۵ درصد نانومکمل ، تیمار سوم خمیرشیرین حاوی ۵ درصد نانومکمل و تیمار چهارم خمیرشیرین حاوی ۷/۵ درصد نانومکمل مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری میزان تخم و لارو و شفیره در سه مرحله در تاریخ-های ۳۰ اردیبهشت، ۱۴ و ۲۹ خرداد ۱۴۰۱ در فواصل ۱۵ روز یکبار انجام شد. برای اندازه‌گیری صفات از قاب خالی که به وسیله سیم به مربع های ۵×۵ سانتیمتری تقسیم شده و مساحت ۲۵ سانتیمتر مربع را به خود اختصاص می‌داد، که در داخل هر مربع صد سلول شان قرار دارند، استفاده شد (Sharm و Kumar، ۲۰۱۰). این اندازه‌گیری با قرار دادن قاب درجه‌بندی شده بر روی سطح شان دارای تخم، لارو و شفیره و شمارش تعداد مربع‌ها صورت گرفت و به این صورت میزان پرورش نوزاد در هر کلنی به نسبت تعداد سلول‌های هر مربع مشخص شد.

اندازه‌گیری اندازه جمعیت به صورت قابی صورت گرفت. بدین صورت پوشیده بودن دو طرف قاب از زنبور، جمعیت یک قاب محسوب شده و کمتر از آن کسری از یک عدد تلقی شد. این اندازه‌گیری در سه مرحله در تاریخ‌های ۳۰ اردیبهشت، ۱۴ و ۲۹ خرداد ۱۴۰۱ در فواصل ۱۵ روز انجام شده و رکوردها جهت تجزیه و تجلیل ثبت شدند.

برای تعیین وزن لاشه تازه زنبورهای کارگر جوان، نمونه‌ها (هر نمونه به‌صورت تصادفی که حاوی ۵۰ زنبور کارگر جوان بوده از قسمت‌های مختلف کلنی برداشت گردید). سپس در درون کیسه-های سربسته در فریزر قرار گرفته و بتدریج کیسه‌ها از فریزر خارج شده و پس از شمارش تعداد لاشه‌های تازه با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ وزن شدند.

برای اندازه‌گیری این صفات بیوشیمیایی به صورت تصادفی از زنبوران کارگر جوان نمونه‌برداری انجام گرفت، بدین‌صورت که نمونه‌ها را در درون کیسه‌های پلاستیکی قرار داده و داخل فریزر قرار گرفته تا منجمد شوند. به تدریج کیسه‌های پلاستیکی از فریزر خارج گردیده و پس از وزن و شمارش زنبورها، نمونه‌ها در داخل آون در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و سپس وزن گردیده و پس از پودر کردن ۵۰ لاشه برای تعیین میزان چربی و پروتئین بر اساس روش‌های AOAC مورد استفاده قرار گرفت.

برای تعیین پروتئین لاشه از دستگاه کلدال استفاده گردید. بدین-منظور مقدار ۰/۵ گرم از نمونه با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شده و در داخل لوله آزمایش مخصوص هضم قرار گرفت، با افزودن اسید سولفوریک غلیظ و قرص کاتالیزور به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۳۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. عمل هضم به قدری ادامه یافت تا محلول کاملاً صاف و شفاف به دست آمد، سپس محلول سرد دشده و به آن آب مقطر اضافه شد، در دستگاه کلدال قرار داده شد که کلیه عملیات در این دستگاه به صورت خودکار انجام و درصد پروتئین خام نمونه را نشان داد. از محلول سولفات آمونیوم ۵ درصد برای استاندارد کردن استفاده شد. از ۴۰ ٪ آب مقطر، ۴۰ ٪ هیدروکسید سدیم و معرف در تیتراسیون استفاده شد. مواد به کار رفته شده در تهیه معرف عبارت است از متیل رد، اسید بوریک و برومو کروزول. در هنگام تیتراسیون رنگ محلول معرف پوست پیازی می‌شود.

برای اندازه‌گیری چربی خام از روش سوکسوله و حلال در ان-هگزان به مدت شش ساعت استفاده گردید. برای این کار به اندازه ۰/۵ گرم از نمونه در تیمبل قرار داده شد. پس از پر کردن بالون از حلال و برقراری جریان آب سرد در کندانسور، ان-هگزان به-صورت قطره‌ای روی نمونه ریخته شده، با حل شدن چربی نمونه در حلال دوباره به مخزن برگشت یافت. اینکار آنقدر ادامه یافت تا کلیه چربی موجود در نمونه حل شود. بعد از جدا کردن چربی، نمونه به آون منتقل شد. بعد از خشک شدن در حرارت ۱۰۰ درجه سانتیگراد و سرد شدن در دسیکاتور وزن شدند. میزان چربی در ماده خشک و در نهایت چربی از تفاوت اولیه و ثانویه، نمونه اصلی محاسبه گردید.

در نهایت پس از اندازه‌گیری صفات مختلف عملکردی، بیوشیمیایی لاشه و تعیین میانگین هر کلنی، تجزیه و تحلیل داده‌ها برای صفات عملکردی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی (اثر تیمار و دوره برداشت به عنوان دو عامل قابل کنترل) و برای صفات بیوشیمی لاشه نمونه های برداشت شده از سه دوره زمانی

با هم ادغام شدند و تجزیه پروتئین صورت گرفت، لذا از طرح کاملا تصادفی (اثر تیمار) برای صفات بیوشیمی لاشه استفاده گردید. تجزیه و تحلیل با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با روش توکی کرامر در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج

میزان پرورش نوزاد زنبورعسل: مقایسه میانگین به صورت جداگانه برروی لارو و شفیره و همچنین مجموع لارو و شفیره به عنوان پرورش نوزاد انجام شده است. نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای حاوی نانومکمل AVP-4 بر تعداد لارو در جدول ۱ ارائه شده است. تیمارهای مختلف اثرات معنی‌داری بر میزان لارو نداشت (P>۰/۰۵)، اما از نظر عددی بیشترین تعداد لارو مربوط به تیمار سه (خمیرشیرین حاوی ۵ ٪ نانومکمل) با (۶۱۸۳/۳۳ عدد) و تیمار یک (خمیرشیرین بدون نانومکمل) با (۴۵۵۳/۳۳عدد) کمترین تعداد لارو را داشتند. همچنین اندازه‌گیری میزان لارو در دوره‌های مختلف برداشت شامل ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز از شروع آزمایش تفاوت معنی داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). اما از نظر عددی بازهم بیشترین تعداد لارو مربوط به دوره اول (۵۵۲۲/۲۲ عدد) و دوره سوم با (۴۷۸۸/۸۹عدد) کمترین تعداد لارو را به خود اختصاص دادند.

نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای حاوی نانومکمل-AVP 4بر تعداد جمعیت شفیره در جدول ۱ ارائه شده است (P>۰/۰۵)، اما از نظر عددی بیشترین جمعیت شفیره مربوط به تیمار سه (خمیر شیرین حاوی ۵ ٪ نانومکمل) با (۱۲۹۸۳/۳۳عدد) و تیمار یک (خمیرشیرین بدون نانومکمل) با (۱۱۴۵۳/۳۳ عدد) کمترین سطح تعداد شفیره را داشت. اندازه‌گیری جمعیت شفیره در دوره های مختلف برداشت شامل ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز تفاوت معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵). بنحوی که بیشترین تعداد شفیره مربوط به دوره دوم (۱۵۲۲۷/۷۸عدد) و دوره اول با (۹۳۵۰/۰۰عدد) کمترین تعداد شفیره را داشت.

بدلیل تداخل جمعیت لاروی و شفیره در کلنی زنبور عسل، همچنین تجزیه و تحلیل توام جمعیت لارو و شفیره نیز انجام گرفت که نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای حاوی نانومکمل AVP-4 بر کل جمعیت لارو و شفیره در جدول ۱ ارائه شده است. مجموع جمعیت لارو و شفیره (پرورش نوزاد) تفاوت معنی داری را بین تیمار ها نشان نداد (P>۰/۰۵)، اما مشابه جمعیت لارو و شفیره به تنهایی در اینجا هم بیشترین تعداد نوزاد مربوط به تیمار سه (خمیرشیرین حاوی ۵ ٪ نانومکمل) با (۱۹۱۶۶/۶۷عدد) و تیمار یک (خمیرشیرین بدون نانومکمل) با (۱۶۰۰۶/۶۷عدد) کمترین تعداد لارو و شفیره را داشتند، اما اندازه جمعیت لارو و شفیره یا جمعیت نوزاد تحت تأثیر دوره‌های مختلف برداشت قرار گرفت (P<۰/۰۵). بیشترین میزان تعداد نوزاد مربوط به دوره دوم (۲۰۵۱۶/۶۷ عدد) و دوره اول با (۱۴۸۷۲/۲۲ عدد) کمترین تعداد میزان لارو و شفیره را داشتند.

جدول ۱ میانگین اثرات تیمارها و دوره‌های برداشت بر صفات عملکردی کلنی زنبور عسل(عدد)

تیمار	تکرار	تعداد لارو		تعداد شفیره		مجموع لارو و شفیره	
		میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
۱	۱۵	a۴۵۵۳/۳۳	۲۱۱۲/۱۶	a۱۱۴۵۳/۳۳	۳۲۰۹/۵۵	a۱۶۰۰۶/۶۷	۳۷۲۵/۲۹
۲	۱۲	a۵۱۶۶/۶۷	۱۳۹۳/۰۶	a۱۲۹۳۳/۳۳	۳۹۹۳/۰۲	a۱۸۱۰۰	۳۸۲۹/۷۹
۳	۱۲	a۶۱۸۳/۳۳	۲۲۵۳/۰۱	a۱۲۹۸۳/۳۳	۴۹۲۸/۱۸	a۱۹۱۶۶/۶۷	۴۰۶۹/۰۳
۴	۱۵	a۵۰۸۶/۶۷	۲۲۱۹/۶۷	a۱۱۵۶۰/۰۰	۴۴۲۹/۵۸	a۱۶۶۴۶/۶۷	۵۰۷۵/۶۹
SEM		۶۶۰/۵۱		۷۴۳/۰۱		۱۱۲۶/۴۲	
p-value		۰/۴۵		۰/۳۷		۰/۲۹	
دوره برداشت							
اول	۱۸	a۵۵۲۲/۲۲	۱۸۷۶/۰۳	c۹۳۵۰/۰۰	۳۴۴۲/۶۸	b۱۴۸۷۲/۲۲	۳۲۰۱/۹۹
دوم	۱۸	a۵۲۸۸/۸۹	۱۵۱۴/۵۹	a۱۵۲۲۷/۷۸	۳۶۴۴/۳۰	a۲۰۵۱۶/۶۷	۳۹۳۷/۹۴
سوم	۱۸	a۴۷۸۸/۸۹	۲۶۸۷/۸۶	b۱۱۸۷۷/۷۸	۲۹۶۴/۸۰	b۱۶۶۶۶/۶۷	۳۷۷۲/۵۰
SEM		۵۷۲/۰۲		۶۴۳/۴۶		۹۷۵/۵۱	
p-value		۰/۶۷		۰/۰۰۲		۰/۰۱	

مقایسات میانگین ها به صورت ستونی می باشد و گروههایی با حروف مشابه اختلاف غیرمعنی‌دار (P>۰/۰۵) و گروههای با حروف غیرمشابه معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

تیمارها ۱: شاهد خمیرشیرین بدون نانو مکمل ۲: خمیر شیرین حاوی ۲/۵ ٪ نانومکمل ۳: خمیر شیرین حاوی ۵ ٪ نانومکمل ۴: خمیر شیرین حاوی ۷/۵ ٪ نانومکمل

میزان تخم‌ریزی ملکه زنبورعسل: نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای حاوی نانومکمل4-AVP بر میزان تخم‌ریزی ملکه زنبورعسل در جدول ۲ ارائه شده است. میزان تخم‌ریزی ملکه تحت تأثیر تیمارهای حاوی نانومکمل قرار نگرفت (P>۰/۰۵)، اما از نظر عددی بیشترین میزان تخم‌ریزی ملکه مربوط به تیمار چهار (خمیرشیرین حاوی ۷/۵ ٪ نانومکمل) با (۴۹۷۳/۳۳عدد) و تیمار یک (خمیرشیرین بدون نانومکمل) با (۳۰۲۰/۰۰عدد) کمترین سطح میزان تخم‌ریزی ملکه را بهمراه داشت. همچنین اثرات دوره‌های مختلف برداشت بر میزان تخم‌ریزی مکله نیز تفاوت معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵). با این حال بیشترین میزان تخم‌ریزی ملکه مربوط به دوره سوم (۳۹۱۶/۶۷عدد) و دوره دوم با (۳۷۸۳/۳۳عدد) کمترین سطح میزان تخم‌ریزی ملکه را به خود اختصاص دادند. یکی از دلایل عدم وجود تفاوت معنی‌دار با شاهد وجود گرده در طبیعت و انتقال آن به درون کندو و عدم استفاده از مکمل پروتئین در تغذیه کلنی‌ها باشد.

جدول ۲ میانگین اثرات تیمارها و دوره‌های برداشت بر صفات عملکردی کلنی زنبور عسل(عدد)

تیمار	تکرار	تعداد تخم		اندازه جمعیت کلنی	
		میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
۱	۱۵	a۳۰۲۰/۰۰	۱۲۴۸/۵۴	a۱۰/۲۳	۲/۰۹
۲	۱۲	a۳۳۳۳/۳۳	۱۹۲۵/۵۹	a۱۰/۰۸	۱/۹۸
۳	۱۲	a۴۰۰۰/۰۰	۱۸۶۵/۴۸	a۱۰/۵۴	۱/۳۶
۴	۱۵	a۴۹۷۳/۳۳	۲۷۹۰/۱۵	a۱۰/۵۳	۲/۲۹
SEM		۶۱۵/۰۲		۰/۳۱	
p-value		۰/۱۹		۰/۶۸	
دوره برداشت					
اول	۱۸	a۳۸۵۰/۰۰	۲۲۴۵/۳۲	c۸/۵۰	۰/۶۲
دوم	۱۸	a۳۷۸۳/۳۳	۲۷۱۸/۸۳	b۹/۸۱	۰/۶۲
سوم	۱۸	a۳۹۱۶/۶۷	۱۳۵۲/۲۳	a۱۲/۷۵	۰/۹۷
SEM		۵۳۲/۶۲		۰/۲۶	
p-value		۰/۹۸		۰/۰۰۰۰۸	

مقایسات میانگین‌ها به صورت ستونی می‌باشد و گروههایی با حروف مشابه اختلاف غیرمعنی‌دار (P>۰/۰۵) و گروههای با حروف غیرمشابه معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

تیمارها ۱: شاهد خمیرشیرین بدون نانومکمل ۲: خمیر شیرین حاوی ۲/۵ ٪ نانومکمل ۳: خمیر شیرین حاوی ۵ ٪ نانومکمل ۴: خمیر شیرین حاوی ۷/۵ ٪ نانومکمل

اندازه جمعیت زنبورعسل: نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای حاوی نانومکمل4-AVP بر اندازه جمعیت در جدول ۲ ارائه شده است. میزان جمعیت تحت تأثیر تیمارهای مختلف قرار نگرفت (P>۰/۰۵)، اما از نظر عددی بیشترین میزان جمعیت مربوط به تیمار سه (خمیرشیرین حاوی ۵ ٪ نانومکمل) (۱۰/۵۴ قاب) و تیمار دو (خمیرشیرین حاوی ۲/۵ ٪ نانومکمل) (۱۰/۰۸ قاب) کمترین سطح میزان جمعیت را داشتند، اما اندازه جمعیت تحت تأثیر اثرات دوره‌های برداشت قرار گرفت (P<۰/۰۵). به نحوی که میزان جمعیت مربوط به دوره سوم (۱۲/۷۵ قاب)

بیشترین و دوره اول با (۸/۵۰ قاب) کمترین میزان جمعیت را داشتند.

میزان خاکستر لاشه زنبورعسل کارگر: نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای حاوی نانومکمل AVP-4 بر میزان خاکستر لاشه در جدول ۳ ارائه شده است. تیمارهای حاوی نانومکمل تأثیر معنی‌داری بر میزان خاکستر نداشت (P>۰/۰۵)، اما از نظر عددی بیشترین میزان خاکستر مربوط به تیمار دو (خمیرشیرین حاوی ۲/۵ ٪ نانومکمل) با (۶/۰۴ درصد) و تیمار سه (خمیرشیرین حاوی ۵ ٪ نانومکمل) با (۳/۶۸ درصد) کمترین میزان خاکستر را داشتند.

وزن زنبورعسل کارگر: نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای مختلف حاوی نانومکمل AVP-4 بر وزن لاشه زنبوران کارگر در جدول ۳ ارائه شده است. وزن لاشه در زنبوران کارگر تحت تأثیر تیمارهای حاوی نانومکمل قرار نگرفت (P>۰/۰۵)، اما باز هم از نظر عددی بیشترین میزان وزن لاشه مربوط به تیمار سه (خمیرشیرین حاوی ۵ ٪ نانومکمل) با (۴/۱۸ درصد) و تیمار دو (خمیرشیرین حاوی ۲/۵ ٪ نانومکمل) با (۳/۷۸ درصد) کمترین میزان وزن لاشه را داشتند.

میزان پروتئین لاشه زنبورعسل کارگر: نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای حاوی نانومکمل AVP-4 بر میزان پروتئین لاشه زنبور عسل کارگر در جدول ۳ ارائه شده است. مشابه سایر صفات میزان پروتئین لاشه تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای مختلف نداشت (P>۰/۰۵)، اما از نظر عددی بیشترین میزان پروتئین لاشه مربوط به تیمار سه (خمیرشیرین حاوی ۷/۵ ٪ نانومکمل) با (۵۳/۷۹ درصد) و تیمار دو (خمیرشیرین حاوی ۲/۵٪ نانومکمل) با (۵۳/۰۴ درصد) کمترین میزان پروتئین را داشتند. علت عدم اختلافات معنی‌دار در بین تیمارهای می‌تواند فصل سال با ورود گرده از خارج به داخل کندو باشد.

جدول ۳ مقایسه میانگین صفات بیوشیمی لاشه بر اساس درصد ماده خشک لاشه در کلنی زنبور عسل

تیمار	خاکستر		عصاره اتری		پروتئین خام		وزن لاشه		درصد ماده آلی		درصد ماده آلی بر اساس وزن لاشه	
۱	۴/۳۶	a	۶/۳۱	b	۵۳/۳۲	a	۴/۰۵	a	۹۵/۶۴	a	۳۰/۴۸	a
۲	۶/۰۴	a	۱۰/۵۸	a	۵۳/۰۴	a	۳/۷۸	a	۹۳/۹۶	a	۳۰/۸۱	a
۳	۳/۶۸	a	۶/۳۴	b	۵۳/۳۶	a	۴/۱۸	a	۹۶/۳۲	a	۳۰/۴۸	a
۴	۴/۹۹	a	۵/۷۳	b	۵۳/۷۹	a	۳/۹۳	a	۹۵/۰۰	a	۳۱/۶۹	a
	۰/۶۹		۰/۱۸۷		۲/۰۳		۰/۰۹۸		۰/۶۹		۰/۷۶	
	۰/۱۷		۰/۰۰۰۱		۰/۹۹		۰/۰۹		۰/۱۷		۰/۶۴	

مقایسات میانگین ها به صورت ستونی می باشد و گروههایی با حروف مشابه اختلاف غیرمعنی‌دار (P>۰/۰۵) و گروههای با حروف غیرمشابه معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

تیمارها ۱: شاهد خمیرشیرین بدون نانومکمل ۲: خمیر شیرین حاوی ۲/۵ ٪ نانومکمل ۳: خمیر شیرین حاوی ۵ ٪ نانومکمل ۴: خمیر شیرین حاوی ۷/۵ ٪ نانومکمل

میزان عصاره اتری (چربی) لاشه زنبورعسل کارگر: نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای حاوی نانومکمل4-AVP بر میزان عصاره اتری (چربی) لاشه زنبورعسل کارگر در جدول ۳ ارائه شده است. اثرات تیمارهای مختلف حاوی مقادیر متفاوت نانومکمل تأثیر معنی‌داری بر میزان چربی (عصاره اتری) داشت (P<۰/۰۵). تیمار دو (خمیرشیرین حاوی ۲/۵ ٪ مکمل)بیشترین تأثیر را بر میزان عصاره اتری داشت (P<۰/۰۵)، اما تیمارهای یک، سه و چهار تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). میزان عصاره اتری مربوط به تیمار دو (خمیرشیرین حاوی ۲/۵٪ نانومکمل) با (۱۰/۵۸ درصد) بیشترین و تیمار چهار (خمیرشیرین حاوی ۷/۵ ٪ نانومکمل) با (۵/۷۳ درصد) کمترین میزان عصاره اتری را داشتند. نتایج فوق نشان داد که مصرف نانومکمل -AVP 4 می تواند تا حدودی از لاغر شدن زنبوران عسل جلوگیری کند.

بحث

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر با نتایج برخی از محققین که گزارش نمودند که استفاده از مکمل‌ها باعث افزایش تخم‌گذاری ملکه، پرورش نوزاد و افزایش میزان جمعیت می‌شود، مطابقت نداشت (فرقانی، ۱۳۸۷؛ مولود پورفرد، ۱۳۹۷؛ اشرفی پارچین، ۱۳۹۵؛ جعفریانی،۱۳۹۲ ؛ جواهری و همکاران، ۱۳۹۱؛ Brodschneider وCrailsheim، ۲۰۱۰؛ Morais و همکاران، ۲۰۱۳)، اما با نتایج برخی از محققین مطابقت داشت (قربانی، ۱۳۹۴؛ Wildeو همکاران، ۲۰۱۴). مورایس و همکاران درمطالعه‌ای به منظور بررسی تأثیر مصرف پروتئین بر تحریک پذیری جمعیت نوزاد، مشاهده کردند که جیره کیک حاوی ۲۰ درصد گرده بیشترین میزان تأثیر بر جمعیت نوزاد و جیره شکر حاوی خمیر عسل به نسبت ۲:۱ کمترین میزان تأثیر را بر پرورش نوزاد داشت (Morais و همکاران، ۲۰۱۳). برای افزایش جمعیت لاروها در کلنی زنبور عسل حضور پیریدوکسین در جیره‌های غذایی لازم است. کلنی‌ها زمانی توانایی پرورش نوزاد دارند که در جیره آن‌ها و در هر ۵۰۰ گرم غذا، ۴ میلیگرم پیریدوکسین وجود داشته باشد. تا پایان مرحله لاروی به ۵/۴ میکروگرم پیریدوکسین نیاز دارند (Brodschneider وCrailsheim ، ۲۰۱۰).

در تحقیقات بر روی اثرات سطوح مختلف نیاسین شامل افزودن ۱۰۰۰ میلی‌گرم نیاسین در نیم لیتر شربت شکر تأثیر مثبتی بر صفات عملکردی و تولید مثلی کلنی‌های زنبور عسل دارد (مولود پورفرد، ۱۳۹۷). در پژوهشی با بررسی تأثیر اسیدهای آمینه ایزولوسین، والین و لوسین، نتایج نشان داد در کلنی‌های زنبور عسل استفاده از مکمل اسیدهای آمینه باعث افزایش پرورش نوزاد، افزایش جمعیت و تولید عسل نسبت به گروه شاهد می-گردد. احتمالاً این افزایش در همه دوره‌ها نسبت به شاهد به خاطر بهبود در صفات مؤثر در رشد و توسعه کلنی مثل پروتئین همولنف است. با توجه به نتایج استفاده از اسیدهای آمینه محدود کننده موجب افزایش میزان پرورش نوزاد و میزان جمعیت در اوایل فصل می‌شود (اشرفی پارچین، ۱۳۹۵). محققان مطالعه‌ای به منظور بررسی تأثیر مکمل‌های غذایی در فصل بهار بر رشد و بهره‌وری کلنی‌های زنبور عسل انجام دادند. آزمایش‌ها در ماه مارس تا ژوئن سال ۲۰۱۳ در دانشگاه وارمیا و مازوری در اولشتین، لهستان انجام شد. ۱۲۰ کلنی زنبور عسل به پنج گروه تقسیم شدند. کیک عسل شکر با افزودنی‌های مختلف به پنج گروه از کلنی ها داده شد (گروه اول: کیک عسل شکر با Beeodine، گروه دوم: کیک عسل شکر با محلول Immunebee ، گروه سوم: کیک عسل شکر با محلول Betonic، گروه IV با کیک عسل شکر بدون محلول افزودنی و گروه V فقط با کیک عسل شکر). نتایج این مطالعه تفاوت معنی-داری در پرورش نوزاد را در بین همه گروه‌ها به جز در گروهی که محلول Immunebee داده شده بود، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. به طور مشابه نیز در مقدار تولید عسل در بین همه گروه ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما از نظر عددی بالاترین میزان تولید عسل متعلق به گروه I با Beeodine و کمترین آن در گروه V بدون کیک و بدون مواد افزودنی بود (Wildeو همکاران، ۲۰۱۴). در تحقیقی با بررسی تأثیر نانو مکمل معدنی گزارش گردید که افزودن مکمل معدنی تأثیر معنی‌داری بر افزایش پرورش نوزاد، رشد جمعیت و میزان تولید عسل ندارد (قربانی،۱۳۹۴).

مصرف سطوح مناسب ویتامین‌های گروه B در جیره غذای زنبور عسل می‌تواند اثرات مثبتی بر روی میزان رشد جمعیت، پرورش نوزادان، تخم‌گذاری ملکه و تولید عسل داشته باشد (جعفریانی ،۱۳۹۲). جواهری و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند، اثرات سطوح مختلف ویتامین ث (ال- اسید اسکوربیک) در افزایش جمعیت و تولید عسل در کلنی‌های زنبور عسل (*Apis mellifera*) تاثیر مثبت دارد. به نحوی که تیمار با ppm ۳۰۰۰ نسبت به تیمار شاهد منجر به افزایش ۵۸ درصدی جمعیت کلنی گردیده است (جواهری و همکاران، ۱۳۹۱).

اشرفی پارچین (۱۳۹۵) در پژوهشی با بررسی تأثیر اسیدهای آمینه ایزولوسین، والین و لوسین، نتایج نشان داد در کلنی‌های زنبور عسل استفاده از مکمل اسیدهای آمینه باعث افزایش میزان جمعیت نسبت به گروه شاهد می‌شود. احتمالاً این افزایش در همه دوره‌ها نسبت به شاهد به خاطر بهبود در صفات موثر در رشد و توسعه کلونی مثل پروتئین همولنف است. با توجه به نتایج استفاده از اسید آمینه‌های محدود کننده موجب افزایش میزان جمعیت در اوایل فصل می‌شود. در مطالعه‌ای بر روی اثرات اسیدهای آمینه ال-متیونین و ال-لیزین مورد بررسی قرار داده شد. نتایج نشان داد بیشترین میزان جمعیت مربوط به تیمار متیونین و لیزین و کمترین جمعیت مربوط به تیمار شاهد بود (پناهی زاده، ۱۳۹۸). در تحقیقی با بررسی تأثیر نانو مکمل معدنی گزارش گردید که افزودن مکمل معدنی تأثیر معنی‌داری بر افزایش رشد جمعیت ندارد (قربانی، ۱۳۹۴).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر در مورد میزان پروتئین خام در دامنه بین ۵۳/۰۴ تا ۵۳/۷۹ با نتایج برخی از محققین مطابقت داشت (نهضتی، ۱۳۸۷؛ قربانی، ۱۳۹۴؛ Ghosh و همکاران، ۲۰۱۶)، اما از مقادیر پروتئین گزارش شده توسط برخی دیگر از محققین بیشتر بود (Bamidel و همکاران، ۲۰۲۱؛ Somerville، ۲۰۰۵). نهضتی (۱۳۸۷) میزان پروتئین لاشه را حداقل ۴۳/۲۳ و حداکثر ۷۰/۰۵ درصد گزارش نمود (نهضتی،۱۳۸۷). میزان پروتئین لاشه در مطالعه‌ای دیگر بین ۵۲/۲۷ تا ۵۵/۸۷ درصد گزارش شد (قربانی، ۱۳۹۴). پروتئین به طور کلی مهمترین ماده مغذی و شاخص قابل اعتماد در ارزیابی کیفیت یک غذا در نظر گرفته می‌شود. بر اساس ماده خشک، محتوای پروتئین مربوطه لارو، شفیره و کارگران بالغ زنبورعسل به ترتیب ۳۵/۳، ۴۵/۹ و ۵۱ درصد گزارش شدند (Ghosh و همکاران، ۲۰۱۶). بامیدل و همکاران (۲۰۲۱) محتوای پروتئین زنبورعسل در محدوده ۷/۴ تا ۸/۷ درصد بر اساس وزن تازه و بر اساس وزن خشک میزان پروتئین لاشه ۳۷/۱ درصد گزارش کردند که کمتر از مقدار گزارش شده توسط برخی از محققین می‌باشد. نتایج حاصل از پژوهشی میزان پروتئین لاشه ۳۰ تا ۴۰ درصد گزارش گردید و میزان پروتئین لاشه کمتر از ۴۰ درصد نشان دهنده سوء تغذیه و کمبود پروتئین است (Somerville، ۲۰۰۵). آمدام و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند میزان پروتئین در بدن و همولنف کارگران زمستان‌گذران در مقایسه با سایر فصول بسیار بالاتر و در بهار و اوایل تابستان پایین‌تر است (Amdameو همکاران، ۲۰۰۴).

نتایج حاصل از این آزمایش در مورد میزان عصاره اتری (چربی) در دامنه بین ۵/۷۳ تا ۱۰/۵۸ بیش از نتایج برخی از محققین بود (نهضتی، ۱۳۸۷؛ قربانی،۱۳۹۴؛ Ghosh و همکاران، ۲۰۱۶).

نهضتی (۱۳۸۷) در پژوهشی میزان درصد عصاره اتری لاشه در دامنه بین ۷/۵۹ تا ۸/۰۴ درصد گزارش کرد. در مطالعه‌ای دیگر میزان عصاره اتری لاشه بین ۶/۸ تا ۷/۱ درصد گزارش شد (قربانی، ۱۳۹۴). محتوای چربی لارو، شفیره و بالغین زنبور عسل *A. mellifera* بر اساس ماده خشک ۱۴، ۱۶ و ۶/۹ درصد گزارش شده است (Ghosh و همکاران، ۲۰۱۶).

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از نانومکمل AVP-4 در جیره مکمل زنبور عسل اثرات معنی‌دار بر تخم‌ریزی ملکه، پرورش نوزاد، جمعیت کلنی نسبت به شاهد نداشت، اما در دوره‌های برداشت روند مثبتی نسبت به شاهد مشاهده گردید و همچنین درصد پروتئین خام لاشه اثر معنی‌داری نسبت به شاهد نداشت، اما بر میزان چربی لاشه اثر مثبت داشت. لذا چنین می‌توان نتیجه گرفت که اصولا نانومکمل مورد استفاده مکمل مناسب در تغذیه زنبوران در فصول گلدهی گیاهان نیست، زیرا میزان گرده و شهد فراوان نیازمندی زنبوران به مواد

مختلف مغذی را تامین می کند، اما ممکن است استفاده از مکمل در فصول پاییز یا اواخر زمستان قبل وجود شهد و گرده بهاری در طبیعت تأثیر مثبت داشته باشد، لذا توصیه می‌گردد اثرات نانومکمل در فصول خشک و بر روی صفات بیشتری از زنبوران ملکه و کارگران مورد مطالعه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نانومکمل AVP-4 از شرکت دانش بنیان اسپادانا مکمل اصفهان تهیه گردیده و تمام آزمایشات بیوشیمی تحقیق هم در همین شرکت انجام شد، لذا تمامی نویسندگان مقاله از همکاری شرکت مذکور کمال تشکر را دارند.

منابع

اشرفی پارچین، م. ۱۳۹۵. بررسی تأثیر اسیدهای آمینه ایزولوسین،والین و لوسین بر طول عمر،رشد جمعیت و میزان پروتئین همولنف زنبور عسل. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم زراعی و دامی، دانشگاه تهران.

پناهی زاده، س. ۱۳۹۸. اثرات اسید امینه های ال متیونین و ال لیزین بر میزان تولید عسل،رشد جمعیت کلنی و تخم گذاری ملکه زنبور عسل. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی.

جعفریانی، ا. ۱۳۹۲. تأثیر مصرف ویتامین های گروه B روی میزان تخم گذاری ملکه زنبور عسل ، رشد جمعیت و میزان تولید عسل . پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی ، دانشگاه گیلان.

جواهری، س.، طهماسبی، غ.، میرهادی، س. و تاج آبادی، ن. ۱۳۹۱. اثر سطوح مختلف ویتامین ث (ال – اسید اسکوربیک) در افزایش جمعیت و تولید عسل در کلنی های زنبورعسل (*Apis mellifera L.*). *علوم دامی (پژوهش و سازندگی)*، ۲۵ (۴) (۹۷)، ۱-۶.

فرقانی، م.ر. ۱۳۸۷. تأثیر گرده خرما و ویتامین B1 و B2 بر روی تولید ژل رویال کلنی زنبور عسل. رساله دکتری تغذیه دام ، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

قربانی، و. ۱۳۹۴. بررسی اثر نانو مکمل معدنی بر تولید عسل، رشد جمعیت و افزایش پرورش نوزاد در کلنی‌های زنبور عسل. پایان-نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

مولود پورفرد، ج. ۱۳۹۷. اثرات سطوح مختلف نیاسین بر صفات عملکردی و تولید مثلی کلنی های زنبور عسل ایرانی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

نهضتی، غ. ۱۳۸۷. مطالعه هضم چند مکمل پروتئینی در زنبور عسل . پایان نامه دوره دکترای علوم دامی. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

Adgaba, N., Al-Ghamdi, A., Sharma, D., Tadess, Y., Alghanem, S.M., Khan, K.A., Ansari, M.J. and Mohamed, G.K.A. (2020). Physico-chemical, antioxidant and anti-microbial properties of some Ethiopian mono-floral honeys. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(9): 2366-2372.

Ahmad, S., Campos, M.G., Fratini, F., Altaye, S.Z. and Li, J. (2020). New insights into the biological and pharmaceutical properties of royal jelly. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2): 382.

Ahmed, S., Sulaiman, S.A., Baig, A.A., Ibrahim, M., Liaqat, S., Fatima, S., Jabeen, S., Shamim, N. and Othman, N.H. (2018). Honey as a potential natural antioxidant medicine: an insight into its molecular mechanisms of action. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1: 19.

Al-Kahtani, S.N., Taha, E.-K., Khan, K.A., Ansari, M.J., Farag, S.A., Shawer, D.M., et al., (2020). Effect of harvest season on the nutritional value of bee pollen protein. *PLoS ONE* 15 (12): e0241393.

Amdam, G.V., K. Hartfelder, K. Norberg, A. Hagen and S.W. Omholt**.** (2004). Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite Varroa destructor (Acari: Varroidae). *J. Econ. Entomol*. 97: 741–747.

Bamidele J.A., Idowu A.B., Ademolu K., Osipitan A.A. (2021). Nutritional composition of *Apis mellifera adansonii*L. (Hymenoptera: Apidae) from three ecological zones of Nigeria. *J. Apicul. Res*. 60(3): 445–56.

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

De Grandi-Hoffman, G., Wardell, G., Ahumada-Secura, V., Rinderer, T.E., Danka, R. and Pettis, J. (2008). Comparisons of pollen substitute diets for honeybees: consumption rates by colonies and effects on brood and adult populations. *J. Apic. Res.* 47: 265–270.

Frizzera, D., Del Fabbro, S., Ors, G., Zanni, V., Bortolomeazzi, R., Nazzi, F. and Annoscia, D. (2020). Possible side effects of sugar supplementary nutrion on honey bee health. *Apidologie*, 51(4): 594–608.

Ghosh, S., Jung, C., Meyer-Rochow, V.B. (2016). Nutritional value and chemical composition of larvae, pupae, and adults of worker honey bee, *Apis mellifera ligustica* as a sustainable food source. *J. Asia Pac. Entomol.*, 19: 487–95.

Higes, M., Martín-Hernández, R. and Meana, A. (2010). Nosema ceranae in Europe: an emergent type C nosemosis. *Apidologie*, 41(3): 375-392.

Morais, M.M. et al. (2013). Evaluation of inexpensive pollen substitute diets through quantification of haemolymph proteins. *Journal of Apicultural Research*, 52: 119-121.

Rammesh, R. and Pankiw, T. (2007). Effects of protein- constraind drood food on honey bee (Apis mellifera L.)pollen foragin and colony growth. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 61: 1471–1478.

Sharma, V. P. and Kumar, N. R. **(**2010). Changes in honeybee behaviour and biology under the influence of cellphone radiations. *Current Science (Bangalore)*, 98(10): 1376-1378.

Somerville, D. (2005). Fat bees, Skinny bees, a manual on honeybee nutrition for beekeepers, RIRDC publication No.51.54, Goulburn, Australia.

Stathopoulou, M.G., Kanoni, S., Papanikolaou, G., Antonopoulou, S., Nomikos, T.and Dedoussis, G. (2012). Mineral intake. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 108: 201-236.

Van de Rest, O., van der Zwaluw, N.L. and de Groot, L.C. (2013). Literature review on the role of dietary protein and amino acids in cognitive functioning and cognitive decline. *Amino acids*, 45: 1035-1045.

Wilde, J., Siuda, M. and Bak, B. (2014). Development and productivity of honeybee colonies administered food supplements in spring. *Medycyna Weterynaryjna*, 70 (12): 750–753.