Animal Production Research

Vol. 13, No. 2, 2024 (87-98)
doi: 10.22124/ar.2024.26114.1803
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872

University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Effect of vitamins thiamine and riboflavin on population growth, functional traits, and body fat and protein reserves in Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) colonies

F. Salehpor[1], M. Ghafari[2]*, A. Rahimi[3], M. Mokhbar[2]

1. Former MSc Student, Animal Science Department, Urmia University, Urmia, Iran
2. Associate Professor, Animal Science Department, Urmia University, Urmia, Iran
3. Assistant Professor, Animal Science Research Department, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Sanandaj, Iran

(Received: 25-11-2023 – Revised: 04-04-2024 – Accepted: 07-04-2024)

Introduction: Honey bees need nutrients such as protein, carbohydrates, lipids, minerals, and vitamins. Among nutrients, vitamins are particularly important for their roles in brood rearing, hypopharyngeal gland development, ovary development, longevity, bee immunity, bee weight, and flight muscle development. The vitamins stored in the body of the bees are vitally important in strengthening the immune system, normal growth, and development of broods, producing royal jelly, longevity of bees, and especially wintering quality of honey bees. Among the vitamins required by the honey bees, the most important are thiamine and riboflavin. Pollen quality depends on the supply of vitamins required by honey bees. Most pollen grains are poor and deficient in thiamine and riboflavin. This study aimed to investigate the effect of thiamine and riboflavin on population growth, functional traits, and fat and protein reserves of the bee body in Iranian honey bee colonies.

Materials and methods: An experiment was conducted in a completely randomized design with four treatments and seven repetitions from April 2022 to September 2023 in the climatic conditions of Kurdistan province, Iran. Experimental treatments included the sugar syrup (control), thiamine (1500 ppm), riboflavin (1500 ppm), and the combination of thiamine and riboflavin (1500 ppm). From the beginning of 14 April 2023, experimental treatments were fed with the mentioned concentrations of vitamins thiamine, riboflavin, and their combination of 0.5 liters every other day for 45 days and 15 days without feeding. Then, traits such as honey production, pollen collection, population (adults and broods), and protein and fat content of carcass were measured in experimental treatments.

Results and discussion: The results of the effect of thiamine, riboflavin, and their combination on the population of adult bees showed that the addition of thiamine and riboflavin in the bees' nutrition was significantly effective in the increase of adult bees' population in the investigated periods as well as the average of the entire period (P<0.05). A comparison of the averages of the experimental treatments revealed that the highest and lowest adult bee populations were associated with the treatments fed the vitamin combination and the control group, respectively. The results of the effect of thiamine, riboflavin, and their combination on the population of broods showed that the addition of thiamine and riboflavin in the diet of bee colonies during the studied periods did not have a significant effect on the increase in the population of newborns, but it showed a significant effect on the average of the entire period (P<0.05). The results of the mean comparison showed that the highest population of broods in the studied honey bee colonies was related to the treatments fed with the combination of thiamine and riboflavin, and the lowest population of broods was related to the control treatment. The results of the effect of thiamine and riboflavin on honey and pollen production traits showed that the use of vitamins and their combination in honey bee nutrition caused a significant increase in honey and pollen production traits of

* Corresponding author: araz11306@gmail.com

experimental treatments (P<0.05). The results of the mean comparison showed that the highest and lowest amounts of honey and pollen production of the studied honey bee colonies were observed in the treatment fed with the combination of vitamins and the control group, respectively. The effect of thiamine and riboflavin on the carcass protein and fat showed that the use of thiamine, riboflavin, and their combination in feeding the colonies had a significant effect on the amount of carcass protein and fat (P<0.01). A comparison of treatments showed that honey bees in the treatment fed the vitamin combination had the highest carcass protein and fat, and honey bees in the control treatment had the lowest carcass fat and protein.
Conclusions: Based on the results of the present experiment, it could be concluded that the use of thiamine and riboflavin, and their combination in feeding honey bees had a positive effect on population growth, functional traits, and fat and protein reserves of the bees' body in the colonies and improved the performance and increased the economic efficiency of the colony.
Keywords: Thiamine, Population growth, Riboflavin, Honey bee, Performance traits
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 Urmia University, 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 no specific funding for this work.
Acknowledgment: The authors would like to thank the beekeeping cooperative of Saqqez City, Iran, and the beekeepers who contributed to the implementation of this research.

How to cite this article:

Salehpor, F., Ghafari, M., Rahimi, A., & Mokhbar M. (2024). Effect of vitamins thiamine and riboflavin on population growth, functional traits, and body fat and protein reserves in Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) colonies. *Animal Production Research*, *13*(2), 87-98. doi: 10.22124/ar.2024.26114.1803

تحقیقات تولیدات دامی

سال سیزدهم/شماره دوم/تابستان ۱۴۰۳ (۹۸-۸۷)

مقاله پژوهشی

اثر ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین روی رشد جمعیت، صفات عملکردی و ذخایر چربی و پروتئین بدن زنبورها در کلنی‌های زنبورعسل ایرانی (*Apis melliefa meda*)

فرزاد صالح پور[۱]، مختار غفاری[۲*]، عطاله رحیمی[۳]، مهدی مخبر[۲]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۴ – تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۱/۱۶ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۱۹)

چکیده

نقش ویتامین‌ها در تغذیه زنبورعسل به‌ویژه در مواقعی که تغذیه کمکی با شربت شکر یا جایگزین‌های گرده مطرح می‌شود، اهمیت دارد. به‌همین منظور، جهت بررسی تـأثیر ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب تیامین-ریبوفلاوین روی رشد جمعیت، صفات عملکردی و ذخایر چربی و پروتئین بدن زنبورها در کلنی‌های زنبورعسل نژاد ایرانی، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و هفت تکرار در بازه زمانی فروردین ۱۴۰۱ تا شهریور ۱۴۰۲ در شرایط اقلیمی استان کردستان انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار شاهد (شربت شکر با نسبت یک به یک)، تیمار تیامین با غلظت ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام به‌صورت محلول در شربت شکر، تیمار ریبوفلاوین با غلظت ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام به‌صورت محلول در شربت شکر، و ترکیب ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین با غلظت ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام به‌صورت در شربت شکر بودند. صفاتی نظیر جمعیت زنبورهای بالغ و نوزادان، میزان پروتئین و چربی لاشه زنبورها، تولید عسل و مقدار گرده جمع‌آوری‌شده در مطالعه حاضر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که جمعیت زنبورهای بالغ و نوزادان، تولید عسل و میزان جمع‌آوری گرده در کلنی‌های تغذیه شده با ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین و ترکیب تیامین-ریبوفلاوین به‌طور معنی‌داری نسبت به کلنی‌های شاهد بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). همچنین، درصد پروتئین و چربی لاشه زنبورهایی که با ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب تیامین-ریبوفلاوین تغذیه شدند نسبت به زنبورهای شاهد بیشتر بود ($P<۰/۰۱$). به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین و ترکیب تیامین-ریبوفلاوین باعث بهبود رشد جمعیت، صفات عملکردی و ذخایر چربی و پروتئین بدن زنبورها و افزایش بازده اقتصادی کلنی‌های زنبورعسل می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تیامین، رشد جمعیت، ریبوفلاوین، زنبورعسل، صفات عملکرد

* نویسندهٔ مسئول: araz11306@gmail.com

doi: 10.22124/ar.2024.26114.1803

مقدمه

زنبورعسل (*Apis mellifera* L) به‌علت نقش ممتاز و برجسته‌ای که در گرده‌افشانی گیاهان بر عهده دارد، از نظر اقتصادی و اکولوژیکی، حیاتی‌ترین حشره برای حفظ اکوسیستم‌ها، کشاورزی پایدار و تأمین امنیت غذایی محسوب می‌شود (Rahimi *et al.*, 2023b). علاوه بر این، زنبورعسل با تولید عسل، زهر، ژل رویال و موم و جمع‌آوری گرده گل و بره‌موم و همچنین اشتغال‌زایی در صنایع جانبی، نقش مهمی در اقتصاد کشور ایفا می‌کند (Rahimi *et al.,* 2022). زنبورعسل همانند همه موجودات زنده برای فعالیت‌های حیاتی و رشد و نمو خود به پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها، مواد معدنی و آب احتیاج دارد. زمانی که گیاهان در طبیعت دارای گل‌های زیادی هستند زنبورعسل، نیازهای غذایی خود را از شهد و گرده گل‌ها به‌دست می‌آورد (Rahimi *et al.,* 2019; Rezvan *et al.*, 2023).

سلامتی کلنی‌های زنبورعسل به همان اندازه که به وجود شهد گل‌ها وابسته است به گرده گل‌ها نیز بستگی دارد. گرده گل، منبع مهم تامین پروتئین‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی مورد نیاز برای زنبورعسل است و زنبورعسل از این مواد، بیشتر در ساختمان ماهیچه‌ها، غدد و ترشحات آن‌ها و سایر بافت‌های بدن استفاده می‌کند (Sharma and Kumar, 2010; Frizzera *et al*., 2020). کمبود یا عدم وجود گرده در طبیعت، به‌طور مستقیم بر عملکرد ملکه تاثیر منفی می‌گذارد و موجب کاهش میزان تخم‌گذاری ملکه و عدم رشد مناسب تخمدان‌های آن، کاهش طول عمر زنبورها، کاهش تولید ژل رویال به‌وسیله زنبورهای پرستار، عدم تولید زهر به مقدار کافی، کاهش تولید موم و شان‌بافی، حساس شدن زنبورها نسبت به بیمارها و آفات، عدم توانایی لازم برای زمستان‌گذارنی، کاهش جمعیت و راندمان کلنی و نهایتاً باعث بالا رفتن مرگ و میر کلنی‌ها می‌شود (Elbassiouny, 2006; Hagedorn *et al.*, 2015; Rahimi *et al.,* 2017; Rahimi *et al.,* 2021). در چنین شرایطی، بزرگ‌ترین وظیفه زنبوردار، تأمین گرده در قالب مکمل یا جانشین گرده برای کلنی است که آن هم از راه تغذیه مصنوعی زنبورها امکان پذیر است (Rezvan *et al*., 2023). نیاز زنبورها به پروتئین‌ها و ویتامین‌ها در شرایط مختلف فرق می‌کند. میزان تخم‌گذاری و پرورش نوزاد، تولید و برداشت محصولات مختلف از کلنی زنبورعسل مانند ژل رویال، زهر و غیره و به‌طورکلی، فعالیت‌های پروازی، نیاز زنبورها را به مصرف گرده بالا می‌برند (Pryor, 2000). نیازهای ویتامینی زنبورعسل به‌خوبی شناخته نشده است، ولی با وجود این، آثار مثبت آن در رشد و نمو طبیعی نوزادان، رشد و توسعه غدد هیپوفارنژیال و طول عمر زنبورها به اثبات رسیده است (Nehzati, 2009; Huang, 2010). زنبورعسل همانند تمام جانوران دیگر به ویتامین‌ها نیاز ضروری دارد که باید با سایر مواد مغذی به‌ویژه پروتئین‌ها در تغذیه زنبورعسل در تعادل باشند. عدم وجود این مواد در جیره غذایی زنبورها منجر به بروز انواع نارسایی‌ها و بیماری‌ها می‌شود (Forghani *et al.*, 2007; Glavinic *et al.*, 2017). در بررسی‌های انجام شده روی زنبورعسل مشخص شده است ویتامین‌های گروه B برای رشد و نمو طبیعی نوزادان، رشد غدد شیری، ترشح ژل رویال، طول عمر زنبورها و کیفیت زمستان‌گذرانی زنبورها بسیار ضروری هستند (Pryor, 2006; Nawaz *et al.*, 2008). از بین ویتامین‌ها، ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین، پنتوتنیک اسید، پیریدوکسین، ویتامین C و ویتامین A برای پرورش نوزاد و توسعه غدد شیری ضروری هستند که باید از راه گرده تأمین شوند (Huang, 2010). نتایج یک مطالعه در خصوص آثار سطوح مختلف ویتامین E روی صفات عملکردی و تولیدمثلی کلنی‌های زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera meda*) نشان داد که تغذیه کلنی‌ها با ویتامین E (۳۰ پی‌پی‌ام در شربت شکر) سبب افزایش میزان تخم‌گذاری ملکه، رشد جمعیت، افزایش تولید عسل و بهبود کیفیت زمستان‌گذرانی کلنی‌ها شد (Darat *et al*., 2017; Rahimi *et al.,* 2018). در یک مطالعه دیگر، کلنی‌های زنبورعسل با رژیم غذایی حاوی بیشتر ویتامین‌های مورد نیاز زنبورها و رژیم غذایی فاقد ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین تغذیه شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که زنبورهای کلنی‌های تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی بیشتر ویتامین‌های مورد نیاز زنبورها دارای رشد غدد شیری، سطح نیتروژن بدن و طول عمر بیشتری نسبت به زنبورهای تازه متولد شده که رژیم غذایی آنها فاقد ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین بود، بودند (Herbert and Shimanuki, 1978).

به‌علت خشکسالی‌های مکرر و تغییرات آب و هوایی و اقلیمی در سال‌های اخیر، دوره گل‌دهی گیاهان کوتاه شده

است و همچنین در برخی از فصول سال، طبیعت از لحاظ گرده گل فقیر است و ضرورت دارد به‌شیوه‌های جایگزین مختلف، نیازهای غذایی زنبورها به مواد موجود در گرده گل‌ها تأمین شود. با توجه به مقدار ویتامین‌های موجود در گرده‌های جمع‌آوری شده به‌وسیله زنبورعسل مشخص شده است که گرده گل‌ها از لحاظ یک سری ویتامین‌ها از جمله ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین فقیر است (Back, 1956). فقر ویتامینی همراه با اتلاف ویتامینی صورت گرفته به‌وسیله ذخیره گرده در کندو منجر به کاهش شدید این گروه از ویتامین‌ها در گرده می‌شود که برای جبران این کاهش، مکمل‌سازی ویتامین‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد (Nahzati, 2009). بر همین اساس، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آنها روی صفات عملکردی کلنی‌های زنبورعسل در شرایط اقلیمی استان کردستان طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان اجرای آزمایش: مطالعه حاضر طی بازه زمانی فروردین ماه سال ۱۴۰۱ تا شهریور ماه سال ۱۴۰۲ روی ۲۸ کلنی زنبورعسل نژاد ایرانی با ملکه هم‌سن نیمه‌خواهری در شرایط اقلیمی شهرستان سقز استان کردستان انجام شد.

نحوه اجرای آزمایش: کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه در اوایل فروردین ۱۴۰۱ برای اجرای آزمایش تهیه شدند و در دهه سوم اردیبهشت ۱۴۰۱ از لحاظ سن ملکه و جمعیت نوزاد و زنبورهای بالغ، همسان‌سازی شدند. مطالعه حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و هفت تکرار در شرایط اقلیمی شهرستان سقز اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- غلظت ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام ویتامین تیامین محلول در شربت شکر (به‌نسبت یک به یک)، ۲- غلظت ۱۵۰۰ پی-پی‌ام ویتامین ریبوفلاوین محلول در شربت شکر (به‌نسبت یک به یک)، ۳- غلظت ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام ترکیب ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین محلول در شربت شکر (به‌نسبت یک به یک) و ۴- شاهد (شربت شکر به‌نسبت یک به یک) بودند. از ۲۵ فروردین ماه سال ۱۴۰۲، کلنی‌ها طی یک دوره ۶۰ روزه با تیمارهای مورد آزمایش تغذیه شدند. نحوه تغذیه به این صورت بود که کلنی‌ها ۱۵ روز به‌صورت یک روز در میان با ۰/۵ لیتر از تیمارهای مربوط به خود تغذیه شدند و پنج روز بدون تغذیه باقی ماندند و این فرآیند سه مرتبه تکرار شد (مجموعاً ۴۵ روز تغذیه و ۱۵ روز عدم تغذیه). در مطالعه حاضر، صفاتی نظیر مقدار ذخیره عسل، میزان گرده جمع‌آوری شده، جمعیت زنبورهای بالغ و نوزاد، پروتئین و چربی لاشه زنبورها در تیمارهای آزمایشی به‌شرح زیر اندازه‌گیری شدند.

تولید عسل: برای ارزیابی مقدار عسل تولیدی کلنی‌ها در فصل برداشت عسل در منطقه، وزن عسل برداشتی و باقیمانده در هر کندو محاسبه شد. تفاوت وزن قاب‌های عسل هر کندو قبل و بعد از استخراج عسل، میزان عسل تولیدی قاب‌ها و مجموع عسل استخراج شده از قاب‌های هر کلنی، میزان عسل تولیدی آن کلنی را تشکیل داد. جهت ارزیابی وزن دقیق عسل باقیمانده، از روش ارزیابی سطح عسل باقیمانده روی قاب‌ها به‌وسیله قاب‌های مخصوص که با سیم گالوانیزه به مستطیل ۱۰×۵ سانتی‌متر کادربندی شده است، استفاده شد. برای تخمین عسل باقیمانده با استفاده از تجربیات محققین ایرانی (Yarahmadi *et al.*, 2007) و دیگر کشورها از روش تبدیل سطح به وزن استفاده شد، بدین ترتیب که هر دسی‌متر مربع عسل در دو طرف قاب، معادل ۳۰۴ گرم عسل در نظر گرفته شد. با قرار دادن این کادرها روی هر دو طرف قاب-های باقیمانده عسل در کندوها، مجموعاً سطح عسل باقیمانده در هر کلنی محاسبه و ثبت شد. در پایان، با جمع بستن عسل باقیمانده و برداشتی، کل عسل تولیدی هر کندو به‌دست آمده و برای آن کندو ثبت شد. برآورد این صفت روی تمام کلنی‌های مورد مطالعه در فصل برداشت عسل در منطقه انجام شد.

برآورد جمعیت زنبورهای بالغ و نوزاد: ارزیابی جمعیت زنبورهای بالغ طی اجرای این پروژه به‌صورت بصری و در دو مرحله که نوبت اول در ماه‌های اردیبهشت تا خرداد و نوبت دوم در ماه‌های مرداد تا شهریور سال ۱۴۰۲ انجام شد (Rahimi *et al.*, 2023a). اندازه‌گیری در هر نوبت، هر ۱۵ روز یک‌بار انجام شد (در مجموع، در هر نوبت، دو بار). این ارزیابی بدین صورت بود که در هنگام بازدید کندو، قابی که دو طرف آن از زنبور بالغ پوشیده شده باشد را به‌عنوان یک قاب کامل زنبور در نظر گرفته و در صورتی که زنبورهای بالغ بخشی از سطح قاب را پوشش دهند متناسب با جمعیت مذکور، کسری از یک قاب به‌عنوان جمعیت زنبورهای بالغ در نظر گرفته شد. مجموع جمعیت قاب‌ها به‌عنوان جمعیت کندو در نظر گرفته و ثبت شد. ارزیابی جمعیت نوزادان نیز

در دو مرحله در ماه‌های اردیبهشت تا خرداد و مرداد تا شهریور روی تمام کلنی‌های مورد مطالعه انجام شد. جمعیت نوزادان شامل قاب‌های حاوی تخم، لارو و شفیره است که اندازه‌گیری آنها در ماه‌های اردیبهشت تا خرداد همانند ارزیابی جمعیت زنبورهای بالغ به‌صورت یک قاب کامل نوزاد و کسری از یک قاب نوزاد ارزیابی شده و سپس مجموع آنها به‌عنوان جمعیت نوزادان کلنی ثبت شد. در اواخر فصل یعنی در ماه‌های مرداد تا شهریور، برای محاسبه دقیق جمعیت نوزادان از یک قاب خالی کادربندی شده با سیم گالوانیزه استفاده شد، به‌طوری که فضای داخل قاب به مربع‌های ۵×۵ سانتی‌متر تقسیم شده است و سپس با انطباق قاب‌های کادربندی شده روی تک‌تک قاب‌های نوزادان هر کلنی، تعداد کادرهای حاوی نوزاد در هر قاب شمارش شد و سطح پوشش نوزادان بر حسب سانتی‌متر مربع محاسبه شد (Tahmasebi *et al.*, 2022).

ارزیابی جمع‌آوری گرده: اندازه‌گیری سطح گرده ذخیره شده براساس دستور العمل مشخص (Page *et al.*, 2002) انجام شد. بدین ترتیب، طول و عرض یک کادر خالی به اندازه‌های دو سانتی‌متری درج و سپس به‌وسیله سیم گالوانیزه کادربندی شد. شبکه‌های مربع به‌دست آمده مساحتی برابر با چهار سانتی‌متر داشتند. با منطبق نمودن کادر تقسیم بندی شده روی تک تک شان‌های کلنی‌ها و شمارش تعداد شبکه‌های مربع پر از گرده، سطح گرده ذخیره شده کلنی‌ها ارزیابی شد. ارزیابی این صفت در ماه‌های اردیبهشت تا خرداد، هر هفته یک بار و در مجموع به تعداد چهار بار روی کلنی‌های مورد مطالعه انجام شد.

ارزیابی پروتئین لاشه: برای تعیین پروتئین لاشه زنبورها از تیمارهای آزمایشی، نمونه زنبور کارگر برداشته شد و سپس این ارزیابی با استفاده از دستگاه کجلدال انجام شد. بدین منظور، مقدار ۰/۵ گرم از هر نمونه زنبور تر را با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین کرده و در داخل لوله آزمایش دستگاه مخصوص هضم ریخته شد. سپس، پنج گرم کاتالیزور و ۱۵ cc اسید سولفوریک غلیظ به نمونه اضافه شد. عمل هضم آن‌قدر ادامه پیدا کرد تا محلول شفافی به‌دست آید. پس از سرد شدن محلول مذکور، مقداری آب مقطر به آن اضافه شده و در داخل دستگاه کجلدال قرار داده شد. این دستگاه تمام مراحل کار را به‌صورت اتوماتیک انجام داده و درصد پروتئین نمونه را نشان داد. پروتئین خام لاشه زنبوران کارگر جوان با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$CP = \frac{\text{اسید مصرفی} * 0.0175}{\text{وزن نمونه}} * 100$$

ارزیابی چربی لاشه: اندازه‌گیری چربی خام با روش سوکسله و حلال دی اتیل اتر به‌مدت شش ساعت انجام گرفت. بدین منظور، ۰/۵ گرم از هر نمونه در ظرف مخصوص چربی‌گیر (تیمبل) در محل مخصوص دستگاه سوکسله برای استخراج چربی قرار داده شد. پس از پر کردن بالن از حلال و برقراری جریان آب سرد در کندانسور به‌وسیله گرمای حاصل از بخار آب، حلال تبخیر شده و پس از سرد شدن در کندانسور به‌صورت قطراتی روی نمونه وارد شد که با حل شدن چربی نمونه در حلال دوباره به مخزن برگشت. این چرخه به مدت ۴ تا ۶ ساعت ادامه یافت تا کلیه چربی موجود در نمونه حل شد. پس از جدا کردن چربی، نمونه به آون منتقل شد. سپس، در حرارت ۱۰۰ درجه سلسیوس خشک شده و پس از سرد شدن توزین شد و از تفاوت وزن اولیه و ثانویه، میزان چربی در ماده خشک و در نهایت، چربی نمونه اصلی محاسبه شد. چربی خام لاشه زنبوران کارگر جوان با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد چربی} = \frac{\text{وزن ثانویه} - \text{وزن اولیه}}{\text{وزن اولیه}} * 100$$

تجزیه آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه 9.4 با روش GLM در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه شدند. تجزیه واریانس داده‌ها به‌روش تجزیه واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. مدل‌های آماری ذیل برای تجزیه دادها مورد استفاده قرار گرفت.

مدل ۱: $Y_{ijk}= \mu + T_i + TI_j + T_i \times TI_j + E_{ijk}$

مدل ۲: $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

در مدل‌های بالا، Y_{ijk} و Y_{ij} مقدار مشاهده در هر واحد آزمایشی، μ، میانگین، T_i، اثر تیمار، TI_j، اثر زمان، $T_i \times TI_j$، اثر متقابل زمان در تیمار و E_{ijk} و E_{ij}، خطای آزمایشی است. مدل ۱ برای صفاتی مانند میزان جمع‌آوری گرده، جمعیت زنبوران بالغ و نوزادان که در چند دوره در یک فصل اندازه‌گیری شدند، مورد استفاده قرار گرفت و مدل ۲ برای صفاتی مانند پروتئین لاشه زنبوران کارگر،

چربی لاشه زنبوران کارگر و تولید عسل مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

جمعیت زنبورهای بالغ: نتایج مربوط به تأثیر ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب تیامین-ریبوفلاوین روی جمعیت زنبوران بالغ در دوره‌های زمانی مورد بررسی و همچنین میانگین کل دوره آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج حاکی از آن است که اضافه کردن ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین در تغذیه زنبورهای مورد مطالعه روی رشد جمعیت زنبوران بالغ در دوره‌های زمانی مورد بررسی و همچنین میانگین کل دوره مؤثر بود، به‌طوری که در دوره اول و دوم، استفاده از ویتامین تیامین و ترکیب تیامین-ریبوفلاوین و در دوره سوم، چهارم و میانگین کل دوره نیز ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین و ترکیب آنها باعث افزایش معنی‌دار جمعیت زنبورهای بالغ نسبت به تیمار شاهد شدند (P<۰/۰۵). مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی نشان داد تیمار تغذیه شده با ترکیب ویتامین‌های تیامین-ریبوفلاوین در هر چهار دوره زمانی مورد بررسی و همچنین میانگین کل دوره‌ها دارای بیشترین و تیمار شاهد داری کمترین جمعیت زنبورهای بالغ بود. نتایج این پژوهش نشان داد که اضافه کردن ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین و به‌خصوص ترکیب آنها نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش معنی‌دار جمعیت زنبورهای بالغ کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه شد که با نتایج برخی از محققین که گزارش کردند استفاده از مکمل‌ها باعث افزایش جمعیت زنبورهای بالغ می‌شود، همخوانی دارد (Back, 1956; Anderson and Dietz, 1976; Krol, 1993; Morais *et al.,* 2013; Mollod poor *et al.*, 2019). هم‌راستا با نتایج مطالعه حاضر، نتایج یک مطالعه روی تاثیر سطوح مختلف مولتی ویتامین بر رشد جمعیت کلنی‌های زنبورعسل ایرانی نشان داد که اضافه کردن مولتی ویتامین به جیره غذایی زنبورها باعث افزایش رشد جمعیت کلنی‌های زنبورعسل می‌شود (Chaichi Mansour *et al*., 2014).

جمعیت نوزادان: نتایج مربوط به تاثیر ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها بر جمعیت نوزادان کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه در دوره‌های زمانی مورد بررسی و همچنین میانگین کل دوره آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، استفاده از ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین در تغذیه زنبورهای مورد مطالعه روی افزایش جمعیت زنبوران بالغ در دوره‌های زمانی مورد بررسی و همچنین میانگین کل دوره موثر بود (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین جمعیت نوزادان کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه مربوط به تیمارهای تغذیه شده با ترکیب ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بود. نتایج این پژوهش نشان داد که اضافه کردن ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین به‌خصوص ترکیب آنها باعث افزایش جمعیت نوزادان کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه می‌شود که با نتایج تحقیقات سایر محققین (Back, 1956; Anderson and Dietz, 1976; Krol, 1993; Brodschneider and Crailsheim, 2010; Morais *et al.,* 2013; Wilde *et al.*, 2014; Jafariani, 2021) مبنی بر این‌که ویتامین‌های B کمپلکس برای پرورش نوزاد و رشد جمعیت ضروری هستند، مطابقت دارد. بر اساس نتایج پژوهش‌های صورت گرفته، تغذیه کلنی‌ها تنها با مواد قندی (شکر و عسل) هرگز نمی‌تواند موجب رشد و نمو و تقویت کلنی‌ها شود و کلنی‌ها با مصرف این گونه مواد قندی تنها اندکی رشد کرده و ناگهان رشد آنها متوقف می‌شوند، به‌طوری که از این زمان به بعد، هر اندازه عسل یا شکر در اختیار آن‌ها گذاشته شود آن‌را به داخل سلول‌های محل ذخیره شهد حمل نموده و ذخیره می‌کنند و دیگر رشدی از خود نشان نمی‌دهند (Somerville, 2005). همچنین، تغذیه کلنی‌ها با مواد قندی، اختلالاتی در رشد و نمو غدد بالا حلقی، غدد مومی

جدول ۱- اثر ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها بر صفت جمعیت زنبورهای بالغ

Table 1. Effect of vitamins thiamine, riboflavin, and their combination on the adult honey bee population trait

Treatments	Period				Total
	1	2	3	4	
Riboflavin	2.54^{b}	4.20^{c}	5.01^{b}	5.95^{b}	4.23^{c}
Thiamine	2.8^{a}	4.61^{b}	5.28^{ab}	6.15^{ab}	4.52^{b}
Riboflavin + Thiamine	2.9^{a}	5.34^{a}	5.79^{a}	6.44^{a}	4.89^{a}
Control	2.37^{b}	3.97^{c}	4.39^{c}	5.01^{c}	3.78^{d}
SEM	0.08	0.10	0.11	0.10	0.05
P-value	0.005	0.001	0.001	0.001	0.001

$^{a-d}$ Values with different superscripts within a column are significantly different (P<0.05).

و زهری زنبورها ایجاد نموده و طول عمر زنبور را کاهش می‌دهد و علی‌رغم این موارد، پرورش نوزادان کلنی را تحت تاثیر قرار داده و آن‌را کم می‌کند. در چنین شرایطی اگر مقادیری مواد پروتئینی و ویتامینی (به‌صورت مکمل گرده یا جانشین گرده) در اختیار زنبورها گذاشته شود کلنی شروع به رشد و نمو نموده و جمعیت آنها نیز به‌تدریج افزایش خواهد یافت (Mattila and Otis, 2006; Crailsheim, 2009). همچنین، در مطالعه دیگری گزارش شده است که زنبورهای تازه متولد شده می‌توانند با تغذیه از مواد قندی خالص مدتی زندگی کنند (DeGrandi-Hoffman *et al*., 2008)، اما بررسی‌های بیشتر نشان داده است که وزن و ازت موجود در بدن آنها کاهش می‌یابد و مرگ و میر زنبورها در این شرایط، خیلی بیشتر از زنبورانی است که گرده در اختیار دارند. همچنین، رشد غدد تولیدکننده ژل رویال در زنبورهای تازه متولد شده‌ای که فقط از عسل و یا مواد قندی تغذیه کنند دچار اختلال می‌شود. از این رو، ادامه پرورش نوزاد با استفاده از محلول قندی غیرممکن است. بنابراین، نتیجه گرفته می‌شود که زنبورهای عسل به مواد قندی به‌عنوان منبع انرژی و به گرده گل یا سایر مکمل‌های پروتئینی به‌عنوان منابع پروتئینی، لیپیدی، ویتامینی و مواد معدنی نیازمند هستند (Hrassnigg *et al*., 2003; Somerville and Nicol, 2022). زنبورداری صنعتی بدون برنامه‌ریزی جهت فراهم نمودن مواد مغذی مورد نیاز برای کلنی‌ها امکان پذیر نیست و یا سود آن بسیار کم است. بنابراین، باید با شناخت و مدیریت تغذیه‌ای صحیح کلنی‌ها، سبب افزایش تولیدات آنها شد (Somerville, 2005).

تولید عسل: نتایج مربوط به تاثیر ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها روی صفت تولید عسل کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج به‌دست آمده نشان داد استفاده از ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها در تغذیه زنبورها باعث افزایش معنی‌دار تولید عسل کلنی‌های زنبورعسل شد (P<۰/۰۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین مقدار تولید عسل کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه مربوط به تیمار تغذیه شده با ترکیب ویتامین‌ها و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد اضافه کردن ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین در غذای زنبورها باعث افزایش جمعیت زنبورهای بالغ و نوزادان و به تناسب آن باعث افزایش تولید عسل کلنی می‌شود. نتایج مطالعات مختلف نیز همین موضوع را تایید می‌کنند (Robinson, 2005; Somerville, 2005). این محققین گزارش کردند تامین مواد مغذی کلنی از راه جانشین یا مکمل گرده در فصول کمیاب شدن گرده در طبیعت، تاثیر زیادی در افزایش جمعیت کلنی و تولید عسل دارد. نتایج مطالعه دیگری روی تاثیر یک دوره بدون گرده و جانشین‌های آن روی کلنی‌ها نشان داد رشد جمعیت کلنی‌ها طی یک دوره بدون گرده یا جانشین آن به‌شدت کاهش یافت و این موضوع منجر به کاهش شدید تولید عسل کلنی‌ها شد (Somerville, 2005). بنابراین، در این شرایط لازم است تأمین نیاز کلنی به مواد مغذی از راه جانشین یا مکمل گرده صورت گرفته تا از کاهش جمعیت و یا کاهش روند افزایش جمعیت و کاهش تولیدات کلنی به‌خصوص عسل جلوگیری به‌عمل آید.

جدول ۲- تاثیر ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها بر صفت جمعیت نوزادان زنبورعسل

Table 2. Effect of vitamins thiamine, riboflavin, and their combination on the brood honey bee population trait

Treatments	Period				Total
	1	2	3	4	
Riboflavin	41281	46583	41752	36891	41585[a]
Thiamine	43394	44114	41529	39166	42225[a]
Riboflavin + Thiamine	44343	41637	38949	40945	44343[a]
Control	35496	38217	35176	31817	35177[b]
SEM	2721.21	2481.90	256.73	2989.76	2056.26
P-value	0.23	0.13	0.18	0.29	0.04

[a-b] Values with different superscripts within a column are significantly different (P<0.05).

جدول ۳- اثر ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب تیامین- ریبوفلاوین روی صفت تولید عسل کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه

Table 3. Effect of vitamins of thiamine, riboflavin, and thiamine-riboflavin combination on the honey production trait of the studied honey bee colonies

Treatments	Honey production (kg)
Riboflavin vitamin	21.27[a]
Thiamine vitamin	22.21[a]
Riboflavin + Thiamine	23.40[a]
Control	16.64[b]
SEM	1.01
P-value	0.03

[a-b] Values with different superscripts within a column are significantly different ($P<0.05$).

جمع‌آوری گرده: تاثیر ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها بر میزان جمع‌آوری گرده کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه در دوره‌های زمانی مورد بررسی و همچنین میانگین کل دوره‌ها در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد اضافه کردن ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها در غذای زنبورها در دوره‌های زمانی دوم، سوم و چهارم و همچنین میانگین کل دوره‌ها باعث افزایش معنی-دار جمع‌آوری گرده کلنی‌های مورد مطالعه شد ($P<۰/۰۵$). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد تیمار تغذیه شده با ویتامین تیامین دارای بیشترین مقدار جمع‌آوری گرده و تیمار شاهد دارای کمترین مقدار جمع‌آوری گرده در همه دوره‌ها به‌صورت جداگانه و همچنین در میانگین کل دوره‌ها بود. نتایج مطالعات مختلف نشان داد اضافه کردن مولتی ویتامین به‌میزان یک سی‌سی به جیره غذایی زنبورها باعث افزایش تخم‌گذاری ملکه می‌شود. از آنجایی‌که بین تخم-گذاری ملکه و افزایش جمعیت کلنی، رابطه مستقیم گزارش شده است. بنابراین، اضافه کردن مولتی ویتامین به جیره غذایی زنبورها باعث افزایش جمعیت کلنی شده و به تناسب آن روی افزایش تولیدات کلنی از جمله عسل و گرده تاثیر مثبت دارد (Elbassiouny, 2006; Chaichi Mansour *et al.,* 2014). هم‌راستا با نتایج تحقیقات این محققین، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اضافه کردن ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها روی افزایش جمعیت کلنی و همچنین تولید عسل و گرده کلنی های مورد مطالعه، تاثیر مثبت و معنی دار داشته است.

چربی و پروتئین لاشه: اثر ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها بر چربی و پروتئین لاشه زنبورهای کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج نشان داد استفاده از ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها در تغذیه کلنی‌ها، تاثیر معنی‌داری بر مقدار چربی و پروتئین لاشه زنبورها داشت ($P<۰/۰۵$). بدین ترتیب، زنبورهای تغذیه شده با ویتامین‌های تیامین و ریبوفلاوین به‌صورت جداگانه و ترکیب آنها، درصد چربی و پروتئین لاشه بیشتری نسبت به گروه شاهد داشتند ($P<۰/۰۱$). نتایج مقایسه میانگین نشان داد زنبورهای تیمارهای تغذیه شده با ترکیب ویتامین‌ها دارای بیشترین پروتئین و چربی لاشه و زنبورهای تیمار شاهد دارای کمترین پروتئین و چربی لاشه بودند. نتایج یک مطالعه نشان داد که اضافه کردن مولتی ویتامین به جیره غذایی زنبورها باعث افزایش پروتئین و چربی لاشه آنها شد (Chaichi Mansour *et al.,* 2014) که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. نتایج مطالعه دیگری روی تاثیر خمیر

جدول ۴- اثر ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها روی صفت جمع‌آوری گرده کلنی‌های زنبورعسل

Table 4. Effect of vitamins thiamine, riboflavin, and their combination on the pollen collection trait of the honey bee colonies

Treatments	Period				Total
	1	2	3	4	
Riboflavin	207.9[a]	155.9[b]	318.57[c]	428.8[bc]	260.83[b]
Thiamine	272.16[a]	328.32[a]	521.09[a]	700.9[a]	433.8[a]
Riboflavin + Thiamine	197.78[a]	293.8[ab]	420.17[ab]	658.8[ab]	339.30[ab]
Control	164.7[a]	151.3[b]	287.2[bc]	361.8[c]	260.1[b]
SEM	27.53	50.53	64.17	82.77	41.09
P-value	0.07	0.05	0.02	0.01	0.01

[a-c] Values with different superscripts within a column are significantly different ($P<0.05$).

شیرین حاوی نانومکمل AVP-4 (حاوی ویتامین‌های B_1، B_2، B_6، B_{12}، A، D، E، K، H_2، C،...)(محصول شرکت دانش بنیان اسپادانا اصفهان) روی صفات تخم‌گذاری ملکه، اندازه جمعیت، و پروتئین و چربی لاشه نشان داد که اضافه کردن این جیره به رژیم غذایی زنبورها هیچ تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد (خمیر شیرین بدون نانومکمل) نداشت که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت نداشت. در مطالعه حاضر، میزان پروتئین لاشه زنبورهای تغذیه شده با ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها بین ۵۲/۵۹ تا ۵۵/۰۶ متغییر بود که با نتایج برخی از محققین مطابقت داشت (Ghorbani, 2016; Ghosh *et al.*, 2016; Bamidel *et al.*, 2021). در یک مطالعه، میزان پروتئین لاشه زنبورعسل ایرانی حداقل، ۴۳/۲۳ و حداکثر، ۷۰/۰۵ درصد گزارش شد (Nehzati, 2000). میزان پروتئین لاشه زنبورها در مطالعه‌ای دیگر بین ۵۲/۲۷ تا ۵۵/۸۷ درصد گزارش شد (Ghorbani, 2016). به‌طور کلی، پروتئین مهمترین ماده مغذی و شاخص قابل اعتماد در ارزیابی کیفیت یک غذا در نظر گرفته می‌شود. نتایج حاصل از یک پژوهش، میزان پروتئین لاشه زنبورها را ۳۰ تا ۴۰ درصد گزارش نمود. بر اساس نتایج این پژوهش، میزان پروتئین لاشه زنبورهای کمتر از ۴۰ درصد نشان‌دهنده سوء تغذیه و کمبود پروتیئن در آن جیره غذایی است (Somerville, 2005).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس یافته‌های این پژوهش، استفاده از ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها در جیره زنبورها با توجه به تأثیرگذاری مثبت و معنی‌دار روی جمعیت زنبورها (زنبورهای بالغ و نوزادان)، تولید عسل، گرده و میزان پروتئین و چربی لاشه، می‌تواند باعث بهبود عملکرد و افزایش بازده اقتصادی کلنی‌های زنبورعسل شود. سطح مناسب این ویتامین‌ها به‌خصوص ترکیب آن‌ها در تغذیه زنبورعسل برابر با ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام در نیم لیتر شربت ساکارز (یک به یک) است، لذا توصیه می‌شود به جیره غذایی زنبورها اضافه شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از تعاونی زنبورداران شهرستان سقز و زنبوردارانی که در کارهای اجرای این پژوهش نهایت همکاری را داشتند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

جدول ۵- اثر ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین و ترکیب آن‌ها بر مقدار چربی و پروتئین لاشه زنبورهای عسل

Table 5. Effect of vitamins thiamine, riboflavin, and their combination on the amount of carcass fat and protein of honey bees

Treatments	Fat (%)	Protein (%)
Riboflavin	5.86^{ab}	53.87^{a}
Thiamine	5.66^{b}	52.59^{a}
Riboflavin + Thiamine	6.08^{a}	55.06^{a}
Control	4.60^{c}	37.36^{c}
SEM	0.15	0.12
P-value	0.001	0.001

$^{a-c}$ Values with different superscripts within a column are significantly different (P<0.05).

فهرست منابع

Anderson, J., & A. Dietz. (1976). pyridoxine requirement of the honey bee (*Apis mellifera*) for brood rearing. *Apidologie*, *7*, 67-84.

Back, E. (1956). Influence of the vitamins in pollen on the longevity of honey bees, the development of their pharyngeal glands and their ability to rear brood. *Insectes Sociaux, 3*, 285-292.

Bamidele, J. A., Idowu, A. B., Ademolu, K., & Osipitan, A. A. (2021). Nutritional composition of *Apis mellifera*. (Hymenoptera: Apidae) from three ecological zones of Nigeria. *Journal of Apiculture Research*, *60*(3), 445-56. doi: 10.1080/00218839.2021.1874709

Brodschneider, R., & Crailsheim, K. (2010). Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, *41*(3), 278-294. doi: 10.1051/apido/2010012

Chaichi Mansour, S., Alou Qhutbi, A., & Nehzati Paghaleh, G. (2014). Different levels of multivitamins affect the number of eggs, larvae, and pupae (rearing babies), population growth, percentage of fat and protein in

worker carcasses, and wintering of honey bee colonies. In: Proceeding of 8th National Congress on Livestock and Poultry Nutrition, 4 -5 March., Iran. Pp. 507-514. [In Persian]

Crailsheim, K. (2009). Nutrition and Health in Honey Bees. *Apidologie*, 41, 278–294. doi:10.1051/apido/2010012

Darat, M., Tahmasbi, G. H., & Zareei, L. (2017). The effects of different levels of vitamin E on Performance and reproductive traits of Iranian honeybee colonies. *Iranian Honey Bee Science and Technology, 8*(14), 1-12. doi: 10.22092/HBSJ.2017.111892

De Grandi-Hoffman, G., Wardell, G., Ahumada-Secura, F., Rinderer, T. E., Danka, R., & Pettis, J. (2008). Comparisons of pollen substitute diets for honeybees: consumption rates by colonies and effects on brood and adult populations. *Journal of Apiculture Research*, *47*, 265-270. doi: 10.3896/IBRA.1.47.4.06

Elbassiouny, A. M. (2006). Effect of vitamin additive and colony management on honey bee performance. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, *14*(1), 427-438. doi: 10.21608/AJS.2006.15578

Frizzera, D., Del Fabbro, S., Ors, G., Zanni, V., Bortolomeazzi, R., Nazzi, F., & Annoscia, D. (2020). Possible side effects of sugar supplementary nutrition on honey bee health. *Apidologie, 51*(4), 594-608. doi: 10.1007/s13592-020-00745-6

Forghani, M. A., Tahmasbi, G. H., & Foladee, H. (2007). A study on the nutritional effect of thiamine (B_1) and pantothenic acid (B_5) supplements on royal jelly production and population growth in honeybee colonies (*Apis mellifera*). Proceedings of the 6th Iranian Honeybee Seminar, November 1, 2007, Agricultural Education Publications, Karaj, Iran. P. 145. [In Persian]

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* a sustainable food source. *Journal of Asia-Pacific Entomology, 19*, 487-495. doi: 10.1016/j.aspen.2016.03.008

Glavinic, U., Stankovic, B., Draskovic, V., Stevanovic, J., Petrovic, T., Lakic, N., & Stanimirovic, Z. (2017). Dietary amino acid and vitamin complex protects honey bees from immunosuppression caused by *Nosema ceranae*. *PloS One, 12*(11), e0187726. doi: 10.1371/journal.pone.0187726

Ghornani, V. (2016). Investigating the effect of mineral nanosupplements on honey production, population growth, and increasing brood rearing in honey bee colonies. Ph.D. dissertation. University of Tehran, Iran.

Hagedorn, H. H., Maferof, M., & Moeller, F. E. (2015). Effect of the age of pollen used in pollen supplements on their nutritional value for the honeybee. I. Effect on thoracic weight, development of hypopharyngeal glands, and brood rearing. *Journal of Apicultural Research, 7*(2), 89-95. doi: 10.1080/00218839.1968.11100195

Herbert Jr, E. W., & Shimanuki, H. (1978). Mineral requirements for brood-rearing by honeybees fed a synthetic diet. *Journal of Apicultural Research*, *17*(3), 118-122. doi: 10.1080/00218839.1978.11099916

Hrassnigg, N., Leonhard, B., & Crailsheim, K. (2003). Free amino acids in the haemolymph of honeybee queens. *Amino Acids*, *24*, 205-212. doi: 10.1007/s00726-002-0311-y

Huang, Z. (2010). Honey bee nutrition. *American Bee Journal*, *138*, 22-26.

Jafariani, A. (2021). The effect of B vitamins on queen egg laying, colony population growth, honey bee queen egg laying. MSc thesis. University of Guilan, Iran. [In Persian]

Krol, A. (1993). Effect of dietary vitamin B1 on the condition and development of honeybees. *Pszczelnicze-zeszyty-naukowe Poland*, *37*, 11-21.

Mattila, H. R., & Otis, G. W. (2006). The effects of pollen availability during larval development on the behavior and physiology of spring-reared honey bee. *Apidologie*, *37*, 533-546. doi: 10.1051/apido:2006037

Mollud Poor, V. (2019). Investigating the effect of mineral nano supplements on honey production, population growth, and increasing brood rearing in bee colonies. Ph.D. Thesis, University of Tehran, Iran. [In Persian]

Morais, M., Turcatto, A. P., Francoy, T. M., Gonçalves, L. S., Cappelari, F. A., & Jong, D. (2013). Evaluation of inexpensive pollen substitute diets through quantification of hemolymph proteins. *Journal of Apicultural Research, 52*(3), 119-121. doi: 10.3896/IBRA.1.52.3.01

Nahzati, G. (2009). Digestion study of several protein supplements in honey bees. Ph.D. Thesis, University of Tehran. [In Persian]

Nawaz, M., Ashfaq, M., & Ali, A. (2008). Studies on improvement of artificial diet and its effect on biological characters of *Chrysoperla carnea* Stephens. *Pakistan Journal of Entomology*, *30*(1), 73-76.

Page, R., Laidlaw, H., & Erickson, E. (2002). Closed population honeybee breeding 4. The distribution of sex alleles with top crossing. *Journal of Apicultural Research, 24*(1), 38-42. doi: 10.1080/00218839.1985.11100646

Pryor, W. A. (2000). Vitamin E and heart disease: Basic science to clinical intervention trials. *Free Radical Biology and Medicine*, *28*, 141-164. doi: 10.1016/s0891-5849(99)00224-5

Rahimi, A., Mirmoayedi, A., Kahriz, D., Zarei, L., & Jamali, J. (2017). Morphological diversity and phylogenetic relationships Study of Iranian subspecies honey bee (*Apis mellifera meda*) populations via morphological characteristics. *Sociobiology*, *64*(1), 33-41. doi: 10.13102/sociobiology.v64i1.1179

Rahimi, A., Mirmoayedi, A., Kahriz, D., Zarei, L., & Jamali, J. (2018). Genetic variation in Iranian honeybees, *Apis mellifera meda* Skorikow, 1829, (Hymenoptera: Apidae) inferred from RFLP analysis of two mtDNA regions (COI and 16S rDNA). *Sociobiology*, *65*(3), 482-490. doi: 10.13102/sociobiology.v65i3.2876

Rahimi, A., Mirmoayedi, A., Kahriz, D., Zarei, L., & Jamali, J. (2019). Phylogenetic relationship study of Iranian subspecies honeybee with other honeybee subspecies using morphological and molecular markers. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 123*, 323-334. doi: 10.22092/asj.2018.121251.1676 [In Persian]

Rahimi, A., Mirmoayedi, A., Kahriz, D., Zarei, L., & Jamali, J. (2021). Genetic diversity evaluation of Iranian honeybee (*Apis mellifera meda*) populations based on PCR-RFLP marker analyses. *Modern Genetics Journal,16*(3), 219-233. [In Persian]

Rahimi, A., Mirmoayedi, A., Kahriz, D., Zarei, L., & Jamali, J. (2022). Molecular genetic diversity and population structure of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) populations: Implications for breeding and conservation. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *129*(4), 1-12. doi: 10.1007/s41348-022-00657-w

Rahimi, A., Tahmasebi, G. H., Bahmani, H. R., Salehi, S., Zare, B., Parsanaseb, A., & Rokhzad, B. (2023a). Comparative Evaluation of Performance for Improved Iranian Honey Bee queens (*Apis mellifera meda* Skorikov 1929) in the Climate Conditions of Kurdistan Province. *Research on Animal production*. *14*(39), 102-111. doi: 20.1001.1.122518622.1402.14.39.11.2 [In Persian]

Rahimi, A., Mirmoayedi, A., Kahriz, D., Zarei, L., & Jamali, J. (2023b). Genetic characterization of Iranian honeybees, *Apis mellifera meda* Skorikow, 1829, based on microsatellite DNA polymorphism. *Biochemical Genetics*, *61*(2), 1-25. doi: 10.1007/s10528-023-10368-y

Rezvan, M., Dashab, G. R., Elmi, M., Tajabadi, N., Shojayan, K., & Behjatuan Esfahani, M. (2023). Investigating the effect of sweet paste containing AVP-4 nanosupplement on queen egg laying rate, population size, and carcass biochemical characteristics in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Animal Science Journal, 139*, 123-134. doi: 10.22092/ASJ.2022.360217.2261 [In Persian]

Robinson, A. (2005). Worker nutrition and division of labor in honeybees. *Animal Behavior*, *69*, 427-435.

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

Somerville, D. (2005). Honey bee nutrition and supplementary feeding. *Agnote Nsw Agriculture*, *178*, 1-8.

Somerville, D., & Nicol, H. I. (2022). Mineral content of honey bee-collected pollen from southern New South Wales. *Australian Journal* of *Experimental Agriculture*, *42*(8), 1131-1136. doi: 10.1071/EA01086

Tahmasebi, G., Ebadi, R., Baneh, H., Parichehreh, Sh., Babaei, M., Seyfie, E., & Sartippour, A (2022). The variation trend of the functional traits of improved queens of Iranian honeybees (*Apis mellifera meda*) during four generations in different private apiaries. *Animal Production Research*, *11*, 91-105. doi: 10.22124/AR.2022.15688.1534 [In Persian]

Yarahamdi, S., Miraei Ashtiani, S., Ebadi, R., & Tahmasabi, G. (2007). Phenotypic correlation between nine morphological traits and three production traits in the population of honey bees in Tehran province. *Agricultural Sciences and Techniques and Natural Resources*, *5*(2), 157-168. [In Persian]

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