Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)

49(2), Summer, 2026

10.22055/ppr.2026.52373.1893

The effect of feeding with rapeseed, corn, and date pollen on biological and physiological characteristics of Iranian honey bees, *Apis mellifera meda*

R. Chenari[1], A. Rasekh[1]*, S. A. Hemmati[1]

1. ***Corresponding Author:** Department of Plant Protection, College of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran (a.rasekh@scu.ac.ir)

Received: 13 June 2026 Revised: 10 August 2026 Accepted: 29 August 2026

Abstract

Background and Objectives

Honey bees demand substances such as proteins, fats, vitamins, and minerals for their survival, growth, and reproduction. These compounds are mainly supplied to honeybees from flower pollen. This well indicates the importance of pollen in the life of honeybees. This study explored the effect of feeding six different pollen diets, including rapeseed, date, corn, and their mixtures, on the biological and physiological characteristics of the Iranian honey bee, *Apis mellifera* meda (Hym., Apidae).

Materials and Methods

This study was conducted for 35 days in a breeding cage (disposable plastic cup) at a temperature of 29±1°C and a humidity of 60 to 70% in a germinator. In each cage, 50 newly emerged worker bees had access to honey syrup (natural bee honey and water, in a 1:1 ratio) and water, in addition to the corresponding pollen diet. In a subsequent experiment, the pollen food preference of worker bees towards different pollen treatments (including 6 pollen diets, similar to the previous experiment) was ascertained under natural conditions (Southwest of Iran, Ahvaz), under choice (treatments concurrently) and non-choice access (treatments separately on different days). To undertake the experiments, Iranian honey bee hives with 8 population frames were employed. In each diet, 1.2 g of pollen was provided to the bees in three Petri dishes (each containing 0.7 g). Petri dishes containing pollen were placed in a tray and placed on a table (one meter high) 10 meters away from the hives. Every two hours (8, 10, 12, and 2 p.m.), photographs were taken of each Petri dish with the number of bees attracted to each dish (containing pollen from different treatments) counted further.

Results

According to the findings, the highest consumption on all days belonged to rapeseed pollen and the lowest consumption to the mixed diet of rapeseed pollen and corn. Workers fed only canola pollen weighed more than bees on other food treatments. After counting the daily mortality of bees in the cage, it was determined that the lowest number of deaths was linked to bees that had been fed rapeseed pollen (6 percent) and the highest mortality to the corn pollen diet (69 percent). The area of hypopharyngeal glands was influenced by the type of pollen diet, determined in the first seven days of rearing and remained unchanged with increasing age. Bees that fed on rapeseed pollen revealed significantly higher levels of hypopharyngeal glands. Adding other pollens (date or corn) in small amounts (20%) or combining these two pollens (10% each) with rapeseed pollen resulted in a significant reduction in the level of hypopharyngeal glands (approximately threefold), compared to the rapeseed pollen treatment

alone. It appears that small amounts of other low-quality pollen in the diet can have an inhibitory effect on the growth of the hypopharyngeal glands. By inspecting the size of the rectal surface, it was determined that the type of pollen diet had no impact on rectal size. A comparison of the protease enzyme activity of midgut extracts from worker bees fed different pollen diets demonstrated that the highest amount of protease activity was observed in the midgut of worker bees fed a mixture of "rapeseed and corn pollen." The lowest protease activity was also noted when consuming a mixture of all three types of pollen (rapeseed, date, and corn pollen). The results of choice and non-choice access tests of hives to different pollen diets under natural conditions indicated that in both access conditions, the consumption of date pollen and corn pollen was higher compared to other pollen diets.

Discussion

The results of the present study exhibit a significant effect of the type of pollen diet on the biological and physiological characteristics of worker bees, based on which rapeseed pollen was identified as the highest quality pollen. Nevertheless, under both choice and non-choice access conditions in nature, foraging worker bees consumed significantly higher amounts of date and corn pollen compared to canola pollen. This reveals that workers are attracted to the apparent attractiveness of pollen over its true value. These results demonstrate the significance of beekeepers' attention to providing high-quality pollen in sufficient quantity for hives.

Keywords: Pollen preference, Percentage of mortality, rectum hypopharyngeal glands, Protease activity

Associate editor: Gh. Tahmasbi (Ph.D.)

Citation: Chenari, R., Rasekh, A. & Hemmati, S. A. (2026). The effect of feeding with rapeseed, corn, and date pollen on biological and physiological characteristics of Iranian honey bees, *Apis mellifera meda*. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *49*(2), 17-38. https://doi.org/ 10.22055/ppr.2026.52373.1893

گیاه‌پزشکی (مجله علمی کشاورزی)
جلد ۴۹، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۵

10.22055/ppr.2026.52373.1893

تاثیر تغذیه با گرده‌های کلزا، ذرت و خرما روی ویژگی‌های زیستی و فیزیولوژیکی زنبورعسل ایرانی *Apis mellifera meda*

ریحانه چناری[۱]، آرش راسخ[۱*]، سیدعلی همتی[۱]

۱- * **نویسنده مسوول**: گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران (a.rasekh@scu.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۲۳ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۵/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۰۷

چکیده

در این مطالعه تأثیر تغذیه از شش جیره گرده شامل گرده‌های کلزا، خرما، ذرت و مخلوط آن‌ها روی ویژگی‌های زیستی و فیزیولوژیکی زنبورعسل ایرانی *pis mellifera meda* (Apidae) بررسی شد. این مطالعه طی ۳۵ روز در قفس پرورش (لیوان پلاستیکی) در شرایط دمایی ۲۹±۱ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰ تا ۷۰ درصد انجام شد. در هر قفس پرورش تعداد ۵۰ زنبور کارگر تازه ظاهر شده علاوه بر جیره گرده مربوطه، به شربت‌عسل و آب دسترسی داشتند. مطابق با یافته‌ها، بیشترین مصرف مربوط به گرده کلزا بود. کمترین میزان مرگ و میر (۶ درصد) نیز در زنبورهایی بود که از گرده کلزا تغذیه کرده بودند. مساحت غدد هیپوفارنژیال تحت تاثیر نوع جیره گرده، در هفت روز اول پرورش قرار گرفت و با افزایش سن بدون تغییر باقی ماند. بیشترین مساحت غدد هیپوفارنژیال در جیره گرده کلزا به ثبت رسید. مقایسه فعالیت آنزیم پروتئاز روده میانی زنبورها نیز نشان داد که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در زنبورهایی دیده شد که از جیره مخلوط گرده کلزا و ذرت تغذیه کرده بودند. در هر دو شرایط دسترسی انتخابی و غیرانتخابی به جیره‌های مختلف گرده در شرایط طبیعی، میزان مصرف گرده خرما و ذرت در مقایسه با سایر گرده‌ها خیلی بیشتر بود، و با توجه به ارزش غذایی بالای گرده کلزا در مقایسه با این گرده‌ها، این موضوع نشان دهنده جلب کارگران کاوشگر به جذابیت‌های ظاهری گرده در مقابل ارزش واقعی آن‌ها می‌باشد. این نتایج اهمیت توجه زنبورداران در فراهم نمودن گرده با کیفیت بالا و به مقدار کافی برای کندوها را نشان می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: پروتئین کل بدن، ترجیح گرده، درصد تلفات، رکتوم، غدد هیپوفارنژیال

دبیر تخصصی: دکتر غلامحسین طهماسبی

مقدمه

زنبورعسل اروپایی *Apis mellifera* L. (Hym., Apidae) از جمله حشراتی است که به طور مستقیم برای انسان مفید بوده و از جنبه‌های متنوعی شامل تولید عسل، گرده، موم، بره موم، ژل رویال و زهر در مصارف صنعتی، بهداشتی، غذایی و دارویی دارای اهمیت اقتصادی می‌باشد (Mousavi, 2018). زنبورعسل همچنین به طور غیرمستقیم نقش تعیین‌کننده‌ای در گرده‌افشانی گیاهان دارد (Mishra, 1995; Kaushik, 2012; Toosi et al., 2024). بسیاری از گیاهان در عدم حضور گرده‌افشان‌ها، محصول اقتصادی قابل قبولی تولید نکرده و حتی محصولاتی چون سبزیجات، طالبی، یونجه، کدوتنبل و آفتاب‌گردان، به طور کامل به گرده‌افشانی حشرات وابسته هستند. همچنین خودباروری در درختان سیب امکان‌پذیر نبوده و زنبورعسل نقش تعیین‌کننده‌ای در گرده‌افشانی آن‌ها ایفا می‌کند (Osterman et al., 2021). در بسیاری از کشورهای اروپایی و آمریکایی برای افزایش کیفیت و کمیت محصولات، باغداران از استقرار کندوها در باغ خود استقبال کرده (Hashemi, 2001, Fruit Growers News, 2020) و عمده درآمد زنبورداران از همین طریق تامین می‌شود.

زنبورعسل مانند بسیاری از موجودات زنده برای بقا، رشد و تکثیر خود به ترکیباتی از قبیل کربوهیدرات، پروتئین، چربی و انواع ویتامین و مواد معدنی نیاز دارد (Ebadi & Ahmadi, 1990; Loidl & Crailsheim, 2001). در حالی‌که کربوهیدرات‌ها به عنوان منبع اصلی انرژی، عمدتا از شهد گیاهان تامین می‌شود، دانه گرده علاوه بر تامین بخشی از کربوهیدرات مورد نیاز زنبورها (Serra Bonvehi & Escolà Jordà, 1997)، سایر ترکیبات مورد نیاز (پروتئین، چربی، انواع ویتامین و مواد معدنی) را بطور کامل فراهم می‌کند (Haydak, 1970). این مهم نشان‌دهنده اهمیت دانه گرده در زندگی زنبورعسل می‌باشد. کمبود یا نبود گرده مناسب، خساراتی مانند کاهش طول عمر کارگران، عدم رشد مناسب تخمدان‌ها و کاهش میزان تخم‌گذاری ملکه، کاهش تولید اسپرم در نرها، و به دنبال آن کاهش تولید فرآورده‌های زنبورعسل (از قبیل تولید موم، بره موم، ژل رویال، عسل) را بهمراه داشته و حتی با کاهش توانایی کندو در زمستان‌گذرانی، ممکن است منجر به مرگ کلنی شود (Abbasian & Ebadi, 2002).

دانه گرده تنها منبع تأمین‌کننده نیازهای پروتئینی کلنی زنبور بوده و نقش بسزایی در تخم‌ریزی ملکه و پرورش لاروهای زنبور دارد (Sigel, 2011). لیپیدهای موجود در مرکز دانه‌های گرده، نیاز لیپیدی زنبورعسل را تأمین می‌کنند (Dadd, 1973; Dobson, 1988). شواهدی وجود دارد که زنبورعسل لیپیدها را در بافت‌های بدن ذخیره نموده و در شرایط عادی و زمان گرسنگی آن‌ها را مورد استفاده قرار می‌دهد. زنبورهای کارگر پاییزه به ویژه در نواحی سردسیر در قیاس با زنبورهای کارگر فصل بهار و تابستان میزان بیشتری چربی در بدن خود ذخیره می‌کنند (Saeedi et al., 2013). گرده جمع‌آوری شده توسط زنبورعسل همچنین منبع تامین ویتامین‌های محلول در آب از جمله ویتامین‌های گروه B (تیامین، ریبوفلاوین، پیروکسین، پانتوتینیک اسید، نیاسین، اسیدفولیک، بیوتین) و ویتامین C (اسید اسکوربیک)، و همچنین محلول در چربی (ویتامین A) هستند (Nielsen, 1995; Herbert & Shimanuki, 1997; Campos et al., 2008). زنبورعسل عمده موادمعدنی مورد نیاز خود را از دانه‌گرده و اندکی از طریق شهد به دست می‌آورد (Somerville & Nicol, 2002). با توجه به مطالعات انجام گرفته، ۲۸ عنصر در دانه گرده و بدن نوزادان زنبورعسل وجود دارد. در گرده‌های جمع‌آوری شده توسط زنبورعسل، پتاسیم، سدیم و فسفر با بالاترین مقادیر (Herbert & Miller-Ihli, 1987; Serra Bonvehi & Escolà Jordà, 1997; Somerville & Nicol, 2002) و ۲۲ عنصر کمیاب مانند سیلیسم، آلومینیوم و منگنز با مقادیر اندک اندازه‌گیری شده‌اند (Grigoryan et al., 1969).

کلزا (*Brassica rapa*) گیاهی روغنی از خانواده Brassicaceae، که در اوایل بهار مقدار زیادی شهد و گرده تولید می‌کند. گرده کلزا با چربی و پروتئین نسبتا بالا (۲۲ تا ۲۷ درصد) (Refahi & Alipour, 2018)، برای زنبورعسل بسیار جذاب بوده و برای پرورش نوزادان زنبور مناسب

می‌باشد (Somerville & Nicol, 2002). خرما با نام علمی *Phoenix dactylifera* از خانواده Palmaceae، گیاهی تک لپه و دو پایه است. گرده خرما به دلیل محتوای مناسب پروتئین (۲۲ درصد) (Bashr & Yehia, 2012; Refahi & Alipour, 2018; Alkanani et al., 2023) برای زنبورعسل جذاب بوده و حدود ۹۳ درصد گرده‌افشانی درخت خرما توسط این حشره انجام می‌شود (Ali-Aghaie Naraghi, 2023). ذرت با نام علمی *Zea mays* از خانواده Poaceae یکی از غلات مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری می‌باشد. میزان پروتئین گرده ذرت کمتر (۱۵ درصد) می‌باشد (Höcherl et al., 2012; Abdulkadir & Danjuma, 2015).

با توجه به اهمیت گرده در زندگی زنبورعسل، در مطالعه حاضر تاثیر سه نوع گرده گیاهی شامل گرده خرما، ذرت و کلزا، و همچنین ترکیب آن‌ها با نسبت‌های مختلف، روی ویژگی‌های زیستی (میزان مصرف گرده، وزن، درصد تلفات، رشد غده هیپوفارنژیال[1] و اندازه رکتوم در زنبورهای کارگر) و فیزیولوژیکی (فعالیت آنزیم‌های گوارشی) در زنبورعسل ایرانی (*A. mellifera meda*) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین در مطالعه حاضر، ترجیح غذایی زنبوران عسل کارگر هنگام دسترسی انتخابی و غیرانتخابی به جیره‌های مختلف گرده، در شرایط طبیعی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

۱. کلنی‌های زنبورعسل

در این مطالعه برای انجام آزمایش‌ها، از حشرات کامل تازه ظاهر شده از کندوهای زنبورعسل ایرانی، *A. mellifera meda* استفاده شد. قاب‌های حاوی شفیره‌های آماده ظهور از کندو خارج شده و در دمای ۱±۳۱ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۷۰ درصد و دوره تاریکی کامل قرار داده شدند. قاب‌ها در داخل یک توری ململ جای گرفتند تا حشرات کارگر ظاهر شده را بتوان بسادگی جمع‌آوری نمود. از این حشرات تازه ظاهر شده (با عمر کمتر از ۱۲ ساعت)، در ژرمیناتور دیگری در شرایط تاریکی (دمای ۱±۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰±۷۰ درصد) برای انجام آزمایش‌ها استفاده شد.

۲. ساخت قفس‌های پرورش زنبوران کارگر

برای ساختن قفس پرورش از لیوان پلاستیکی (۵۰۰ میلی‌لیتر) شفاف استفاده شد تا زنبوران کارگر به راحتی دیده شوند. این لیوان‌ها یک بار مصرف بوده و از انتقال بیماری عفونی جلوگیری می‌شود. دهانه قفس با تور پارچه‌ای سفید پوشانده شد، تا مانع خروج زنبوران کارگر شود. قفس‌ها به صورت وارونه قرار داده شد به صورتی که دهانه آن رو به پایین باشد. سوراخ‌هایی به قطر یک میلی‌لیتر در اطراف دهانه قفس برای تهویه ایجاد شد. برای ایجاد آرامش در زنبورها، در هر قفس یک قطعه شان مومی قرار گرفت (Williams et al., 2013). زنبورها با شربت عسل (عسل طبیعی کنار و آب، به نسبت ۱:۱) تغذیه شدند و از لوله پلاستیکی (سرنگ اندازه ۱/۵ میلی‌متری) به عنوان شربت خوری استفاده شد. همچنین برای در اختیار قرار دادن آب و گرده بصورت جداگانه از دو ظرف میکروتیوب (اندازه ۱/۵ میلی‌متری)، که در یک سمت آن‌ها برش مستطیلی ایجاد شده بود، استفاده شد. لوله پلاستیکی و ظروف میکروتیوب با ایجاد سه سوراخ جداگانه در بدنه لیوان، وارد قفس پرورش شدند.

۳. نحوه تهیه گرده‌ها

۳-۱. گرده خرما

گل‌های نر از درختان خرما واقع در پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری استان خوزستان جمع‌آوری شد. این گل‌ها به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۲۴ درجه سلسیوس روی کاغذهای تمیز نگهداری شدند. پس از خشک شدن گل‌ها، گرده‌ها با ضربه زدن آرام از گل‌ها جدا شدند.

۳-۲. گرده ذرت

گرده ذرت از مزارع دزفول برداشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۴ درجه سلسیوس نگهداری شد تا رطوبت خود را از دست دهد. گرده‌ها که درون غلافی بودند، داخل هاونگ ریخته و به آرامی پودر شدند. برای خالص سازی از پارچه ململ تمیز استفاده شد.

[1] Hypopharyngeal glands

۳-۳. گرده کلزا

گرده‌های کلزا که توسط تله گرده گیر جمع‌آوری شده و به صورت گرانوله بودند، توسط دستگاه آسیاب پودر شدند. در تمام موارد، گرده‌های جمع‌آوری شده در فریزی (۱۸- درجه سلسیوس) نگهداری شد تا از فاسد شدن آن‌ها جلوگیری شود.

٤. بررسی تاثیر تغذیه با جیره‌های مختلف گرده، روی ویژگی‌های زیستی و فیزیولوژیکی زنبورهای کارگر

پیش از شروع آزمایش، به هر قفس ۵۰ زنبور کارگر تازه ظاهر شده اضافه شد. این زنبورها با جیره‌های متفاوتی از گرده‌ها (۶ تیمار) مورد تغذیه قرار گرفتند. این تیمارها شامل هر یک از گرده‌های گیاهی خرما، ذرت، کلزا و همچنین ترکیب‌های مختلف این سه نوع گرده (کلزا ۸۰ درصد+ خرما ۲۰ درصد؛ کلزا ۸۰ درصد+ ذرت ۲۰ درصد؛ کلزا ۸۰ درصد+ خرما ۱۰ درصد+ ذرت ۱۰ درصد) بودند. ۴۰۰ زنبور کارگر در هر تیمار غذایی (۸ قفس پرورش)، علاوه بر گرده، به شربت عسل و آب دسترسی داشتند. طی روزهای مختلف پرورش، ویژگی‌های زیستی و فیزیولوژیکی زنبورهای کارگر به شرح زیر تعیین شد:

٤-١. میزان مصرف گرده

در طول یک دوره ۱۵ روزه، میزان مصرف گرده تعیین شد. به این منظور، هر ۳ روز یکبار مقدار گرده عرضه شده و باقی‌مانده در هر قفس پرورش با استفاده از ترازوی[1] دقیق (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) بدست آمد. مابه تفاوت این مقدار در یکایک تکرارها تعیین و به ازای زنبورهای زنده در آن قفس پرورش، تعیین شد.

٤-٢. وزن زنبوران کارگر

در طول یک دوره ۳۵ روزه، بصورت هفتگی وزن زنبوران کارگر تعیین شد. زنبورهای کارگر بصورت انفرادی توزین و سپس به قفس‌های پرورش برگردانده شدند.

٤-٣. درصد تلفات زنبوران کارگر

با شمارش روزانه زنبورهای مرده تا انتهای دوره پرورش (۴۲ روز)، درصد تلفات زنبورهای کارگر تغذیه شده با جیره‌های مختلف گرده بدست آمد.

٤-٤. تعیین میزان رشد و توسعه غده هیپوفارنژیال

میزان رشد و توسعه غده هیپوفارنژیال در زنبوران کارگر در سنین ۶، ۹، ۱۲ و ۲۱ روزگی تعیین شد. در هر یک از این سنین، تعداد ۵ کارگر از هر تیمار بطور تصادفی از قفس پرورش خارج شده و سر آن‌ها زیر بینوکولار برای تعیین میزان رشد و توسعه غدد هیپوفارنژیال تشریح شد. از این غددها با استفاده از استریومیکروسکوپ[2] مجهز به دوربین دیجیتال[3] (با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ برابر) عکس‌برداری شد. این عکس‌ها به کامپیوتر منتقل شده و اندازه این شاخص توسط نرم‌افزار ImageJ (با دقت ۰/۰۰۳) تعیین شد. میزان تغییرات سطح غده بر اساس شاخص Maurizio تعیین شد (Maurizio & Hodges, 1951). از این زنبورها همچنین برای تعیین اندازه رکتوم استفاده شد.

٤-٥. اندازه رکتوم

اندازه رکتوم کارگرها در سنین ۶، ۹، ۱۲ و ۲۱ روزگی تعیین شد. کل دستگاه گوارش کارگرها با پنس ظریف از انتهای بدن خارج شده و از رکتوم‌ها با استفاده از استریومیکروسکوپ مجهز به دوربین دیجیتال (با بزرگ‌نمایی ۱۶ برابر) عکس‌برداری و به روش مشابه بالا تعیین اندازه شدند.

٤-٦. تهیه عصاره آنزیمی روده میانی

برای تهیه عصاره آنزیمی روه میانی، از زنبورهای پرورش داده شده روی هر تیمار استفاده گردید. ابتدا زنبورها جهت بی‌حس شدن به مدت پنج دقیقه روی یخ قرار داده شد و سپس زیر استریومیکروسکوپ تثبیت و تشریح گردید. روده میانی زنبور جداسازی شده و با آب مقطر خنک شده شستشو گردید و بافت‌های اضافی آن حذف شد و بلافاصله، به داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتر حاوی یک میلی‌لیتر آب مقطر منتقل گردید (Hosseininaveh et al., 2007). با استفاده

[1] 2000 model HL-®Analytiacal Balanc A & D

[2] Stemi SV6 ZEISS, Germany

[3] Coolpix S10

از یک هموژنایزر دستی روده میانی جدا شده همگن شد و سوسپانسیون حاصل با سرعت ۱۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ[۱] گردید. در نهایت، رونشین به دست آمده جمع‌آوری و به میکروتیوب‌های جدید منتقل شدند. میکروتیوب‌ها در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند تا در زمان نیاز، جهت سنجش آنزیم‌ها بدون تغییر باقی بمانند.

اندازه‌گیری فعالیت پروتئاز

جهت سنجش فعالیت آنزیم پروتئاز از روش به کارگیری سوبسترای پروتئینی آزوکازئین استفاده شد (Elpidina et al., 2001). مخلوط واکنش که از ۸۰ میکرولیتر بافر یونیورسال (با ملاریته ۵۰ میلی‌مولار و اسیدیته ۸) بود، به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول تری کلرو استیک اسید ($C_2HCl_3O_2$)[۲] (۳۰ درصد) به آن افزوده شد. در ادامه نمونه‌ها برای مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در پایان حجم برابری از هیدروکسید سدیم ($NaOH$)[۳] با ملاریته ۲ به نمونه‌ها افزوده شد و میزان جذب نور با استفاده از دستگاه الایزاریدر[۴] و در طول موج ۴۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

۵. تعیین ترجیح غذایی زنبوران عسل در شرایط طبیعی

۵-۱. شرایط دسترسی انتخابی

در این آزمایش، ترجیح غذایی زنبورهای کارگر به جیره‌های مختلف گرده در شرایط طبیعی ملایر (استان همدان) مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت انجام آزمایش‌ها، از چهار کندوی زنبورعسل نژاد ایرانی (با ۸ قاب جمعیت) مستقر در باغی به مساحت ۱۰۰۰ متر استفاده شد. این باغ مشجر به درختان انگور، بادام، آلو، و گردو بود و در زمان انجام آزمایش (تیر ماه ۱۴۰۲)، علف هرزی در باغ وجود نداشت. تیمارهای غذایی شامل ۶ جیره گرده مشابه مطالعه آزمایشگاهی بودند. هر جیره غذایی به میزان ۲/۱ گرم در قالب سه ظرف پتری (هر کدام حاوی ۰/۷ گرم گرده)، در اختیار زنبورها قرار گرفت. در مجموع ۱۸ ظرف پتری، مربوط به جیره‌های غذایی شش تیمار در یک سینی بزرگ قرار داده شده و روی یک میز (به ارتفاع یک متر) در فاصله ۱۵ متری کندوها مستقر شدند. هر دو ساعت یکبار (ساعت‌های ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴)، از هر یک از ظروف پتری عکس‌برداری بعمل آمد و تعداد زنبورهای جذب شده به هر ظرف (حاوی گرده از تیمارهای مختلف) شمارش شد.

۵-۲. شرایط دسترسی غیرانتخابی

برای انجام آزمایش غیرانتخابی، تیمارهای گرده به شرح آزمایش بالا تهیه و طی شش روز متوالی (هر تیمار در یک روز)، جیره‌های گرده (شامل سه ظرف پتری هر کدام ۰/۷ گرم گرده) در اختیار کندوها قرار گرفته و میزان جلب زنبوران کارگر به هر تیمار گرده تعیین شد.

۶. آنالیز آماری

قبل از آنالیز داده‌ها، نرمال بودن آنها از طریق آزمون گولموگروف-اسمیرنوف[۵] بررسی شد. جهت مقایسه میانگین داده‌های مربوط به ویژگی‌های زیستی (تغییران میزان مصرف مواد غذایی، وزن، سطح غده هیپوفارنژیال و سطح رکتوم) و ترجیح میزبانی (دسترسی انتخابی و غیرانتخابی)، نظر به وجود دو متغیر مستقل (نوع جیره گرده و سن زنبور)، از آزمون آماری تجزیه واریانس دو طرفه[۶] و تعیین اختلاف بین گروه‌ها، از آزمون تکمیلی توکی[۷] استفاده شد. برای مقایسه میزان فعالیت آنزیم پروتئاز بین جیره‌های گرده از آزمون آماری تجزیه واریانس یک طرفه[۸] استفاده شد. مقایسه میزان مرگ و میر زنبورهای کارگر تغذیه شده با جیره‌های مختلف گرده، با استفاده از آزمون مربع کای پیرسون[۹] انجام

---

[۱] K SIGMA 15-1
[۲] Trichloro acetic acid (TCA)
[۳] Sodium hydroxide
[۴] Elisa reader
[۵] Kolmogorov-Smirnov
[۶] Two-way ANOVA
[۷] Tukey's post-hoc
[۸] One-way ANOVA
[۹] Pearson's chi-square test (χ^2)

شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل و برای آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS ورژن ۲۴ استفاده شد.

نتایج

میزان مصرف گرده

با توجه به یافته‌های تجزیه واریانس دوطرفه، میزان مصرف گرده در جیره‌های مختلف بطور معنی‌دار متفاوت بود ($F_{۵}$= ۱۷/۰۷۲; P < ۰/۰۰۱)، ولی میزان مصرف گرده تحت تاثیر سن زنبور قرار نگرفت ($F_{۴}$= ۲/۱۸۷; P < ۰/۰۷۴). همچنین اثرات متقابل این دو متغیر اصلی روی میزان مصرف گرده معنی‌دار بود ($F_{۲۰}$= ۳/۳۳۶; P < ۰/۰۰۱).

هنگامی که میزان مصرف گرده بین تیمارهای مختلف مورد مقایسه قرار گرفت، بیشترین مصرف گرده در تمامی روزها، منحصرا (روز سوم و ششم) و مشترکا (روز نهم و دوازدهم)، مربوط به گرده کلزا بود. در روز پانزدهم تفاوت معنی‌داری بین میزان مصرف گرده‌های مختلف دیده نشد. کمترین تمایل کارگرها به مصرف نیز در جیره مخلوط دو نوع گرده کلزا و ذرت، دیده شد (جدول ۱).

میانگین میزان مصرف گرده در تیمار کلزا، با افزایش سن زنبورها اختلاف معنی‌داری را نشان داد، به صورتی که از ۳ تا ۱۲ روزگی، میزان مصرف گرده تغییر نکرد، اما در پانزده روزگی کاهش مصرف گرده مشاهده شد. در تیمار مخلوط گرده کلزا و خرما، در روز ششم و نهم میزان مصرف گرده بیشتر از سنین دیگر بود. میزان مصرف گرده در سایر تیمارها با گذر زمان تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و میزان مصرف گرده تابع سن حشرات کامل نبود (جدول ۱).

وزن زنبوران کارگر

اثرات متغیرهای اصلی شامل نوع گرده (P < ۰/۰۰۱ ; $F_{۵}$= ۱۱/۴۹۲)، سن زنبور ($F_{۳}$= ۵/۱۸۴; P < ۰/۰۰۱) و اثرات متقابل این دو متغیر اصلی ($F_{۱۵}$= ۲/۱۳۱; P = ۰/۰۲) روی وزن زنبوران کارگر تاثیر معنی‌داری داشت.

در تمام روزهای وزن‌گیری، وزن کارگرانی که از گرده کلزا تغذیه می‌کردند، منحصرا (سی و پنجم) و مشترکا (روزهای هفتم و چهاردهم)، بیشتر از وزن کارگران در سایر تیمارها بود. در روز هفتم، وزن کارگران تغذیه شده با سه تیمار گرده کلزا، گرده خرما و گرده ذرت بیشتر از وزن کارگرانی بود که از سایر جیره‌های گرده (سه نوع تیمار مخلوط) تغذیه نمودند. در روز چهاردهم این تفاوت وزن در تیمارهای مخلوط جبران شد و فقط اختلاف وزن در زنبورهای تیمار مخلوط گرده کلزا و خرما مشاهده شد (جدول ۲).

وزن زنبوران کارگر تغذیه شده با گرده کلزا، طی دوره پرورش تغییر معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲). در جیره مخلوط گرده کلزا و ذرت، از روز هفتم به بعد شاهد افزایش وزن کارگران بودیم، اما زنده‌مانی کارگران به صورتی بود که امکان وزن‌گیری بعد از روز بیست و هشتم وجود نداشت. در تیمار مخلوط گرده‌های کلزا و خرما و همچنین تیمار مخلوط گرده‌های کلزا، خرما و ذرت، افزایش سن منجر به تغییر وزن کارگران نشد. در زنبورهای تغذیه شده با گرده خرما و همچنین گرده ذرت، زنده‌مانی کارگران به صورتی بود که تنها تا روز چهاردهم امکان وزن‌گیری وجود داشت (جدول ۲). طی مقایسه ۳۵ روزه تغذیه شده با تیمارهای مختلف گرده، زنبورهای کارگر بیشترین وزن را در روز بیست و یکم و کمترین وزن را در روز هفتم داشتند (جدول ۲).

طول عمر زنبوران کارگر

میزان مرگ و میر حشرات کامل کارگر، به طور معنی‌داری تحت تاثیر نوع رژیم غذایی گرده قرار گرفت ($\chi^{۲}_{۵}$= ۶۲۷/۲۲; P = ۰/۰۰۱). کمترین میزان مرگ و میر در جیره غذایی گرده کلزا (۶ درصد) و بیشترین مرگ و میر به ترتیب مربوط به تغذیه از دو تیمار گرده ذرت (۶۹ درصد) و گرده خرما (۶۸ درصد) به ثبت رسید (جدول ۳).

جدول ۱- میانگین (± خطای معیار) مصرف روزانه رژیم های مختلف گرده (گرم) توسط زنبورهای کارگر بالغ، نگهداری شده در قفس پرورش، در دمای ۱ ± ۲۹ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰-۷۰ درصد

Table 1. Mean (± SE) daily consumption of different pollen regimes (grams) by adult worker bees, *Apis mellifera* in the rearing cages, at a temperature of 29 ± 1 degrees Celsius and a relative humidity of 60-70%

Parameters	Sampling age (days)					$F_{4,20}$	*P*
	3	6	9	12	15		
Canola	1.08 ± 0.17 Aa*	1.16 ± 0.17 Aa	0.6 ± 0.17 ABab	0.56 ± 0.09 ABab	0.46 ± 0.09 Ba	4.866	0.007
Date	0.46 ± 0.06 Ab	0.44 ± 0.06 Ab	0.76 ± 0.12 Aa	0.76 ± 0.16 Aa	0.62 ± 0.15 Aa	1.612	0.21
Corn	0.3 ± 0.03 Ab	0.28 ± 0.05 Ab	0.36 ± 0.05 Aab	0.44 ± 0.06 Aab	0.34 ± 0.06 Aa	1.271	0.312
Canola + Date	0.34 ± 0.02 Bb	0.64 ± 0.07 Ab	0.46 ± 0.07 ABab	0.4 ± 0.03 Bab	0.38 ± 0.02 Ba	5.689	0.003
Canola + Corn	0.32 ± 0.05 Ab	0.48 ± 0.1 Ab	0.26 ± 0.04 Ab	0.28 ± 0.06 Ab	0.38 ± 0.04 Aa	1.775	0.174
Canola + Date + Corn	0.46 ± 0.09 Ab	0.48 ± 0.3 Ab	0.4 ± 0.03 Aab	0.46 ± 0.04 Aab	0.4 ± 0.05 Aa	0.449	0.772
$F_{5,24}$	11.025	10.063	3.576	3.342	1.478		
P	< 0.001	< 0.001	0.015	0.02	0.243		

* In each row, the values with similar capital letters, and in column, the values with similar lowercase letters are not significantly different (Two-way ANOVA, Tukey's post-hoc test; P > 0.05).

جدول ۲- میانگین (± خطای معیار) وزن زنبورهای کارگر بالغ (گرم) که در رژیم‌های مختلف گرده، در دمای ۱ ± ۲۹ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰-۷۰ درصد، در قفس پرورش نگهداری شدند.

Table 2. Mean (± SE) weight of adult worker bees, *Apis mellifera* (grams) that were fed on different pollen diets in the rearing cages, at a temperature of 29 ± 1 degrees Celsius and a relative humidity of 60-70%.

Parameters	Sampling age (days)					F	*P*
	7	14	21	28	35		
Canola	0.67 ± 0.02 Aa*	0.64 ± 0.03 Aa	0.71 ± 0.04 Aa	0.53 ± 0.08 Aa	0.67 ± 0.03 Aa	1.88	0.16
Date	0.62 ± 0.02 Aa	0.55 ± 0.03 Aab	-	-	-	3.13	0.115
Corn	0.62 ± 0.01 Aa	0.52 ± 0.02 Bab	-	-	-	12.236	0.008
Canola + Date	0.49 ± 0.02 Bb	0.49 ± 0.02 ABb	0.6 ± 0.03 Aa	0.54 ± 0.01 ABa	0.51 ± 0.02 ABb	2.987	0.033
Canola + Corn	0.46 ± 0.01 Bb	0.52 ± 0.02 Ab	0.58 ± 0.02 Ab	0.53 ± 0.04 Ab	-	3.725	0.039
Canola + Date + Corn	0.46 ± 0.01 Bb	0.52 ± 0.01 ABab	0.58 ± 0.03 Aa	0.52 ± 0.01 ABa	0.53 ± 0.01 ABb	4.574	0.01
F	22.062	3.475	2.946	0.035	11.756		
P	< 0.001	0.017	0.067	0.991	0.004		

* In each row, the values with similar capital letters, and in column, the values with similar lowercase letters are not significantly different (Two-way ANOVA, Tukey's post-hoc test; P > 0.05).

جدول ۳- میزان مرگ و میر حشرات کامل زنبورهای کارگر طی دوره زمانی ٤٢ روزه، که در قفس پرورش با تغذیه از رژیم‌های مختلف گرده، در دمای ۱ ± ۲۹ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ٦٠-٧٠ درصد نگهداری شدند.

Table 3. Mortality rate of worker honey bees, *Apis mellifera*, fed with different pollen regimes in the rearing cage, for a 42-day period, at a temperature of 29 ± 1 degrees Celsius and a relative humidity of 60-70%

Pollen type	Frequency and mortality rate			
	Total no.	Alive	Dead	Mortality (%)
Canola	400	376	24	6
Date	400	127	273	68
Corn	400	124	276	69
Canola + Date	400	342	58	14.5
Canola + Corn	400	286	114	28.5
Canola + Date + Corn	400	286	114	28.5

رشد و توسعه غده هیپوفارنژیال در زنبوران کارگر

اثرات متغیر اصلی نوع جیره گرده ($F_{۵}$= ۸۷/۰۰۵; P < ۰/۰۰۱) روی میزان رشد غده هیپوفارنژیال تاثیر معنی‌داری داشت، اما اثر سن زنبور ($F_{۳}$= ۰/۰۳; P = ۰/۲۷۶) و اثرات متقابل دو متغیر اصلی ($F_{۱۵}$= ۰/۵۶۵; P = ۰/۹)، معنی‌دار نبود. در مقایسه بین جیره‌های مختلف گرده، زنبورهای تغذیه شده با گرده کلزا در تمام سنین، بیشترین مساحت غدد هیپوفارنژیال و زنبورهای تغذیه شده با جیره‌های مخلوط (سه نوع جیره گرده)، کمترین مساحت غده را نشان دادند (جدول ۴). مقایسه سطح غدد هیپوفارنژیال زنبورهای کارگر در سنین مختلف، بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین سنین ۶، ۹، ۱۲ و ۲۱ روزگی می‌باشد. به عبارتی نوع رژیم گرده در همان هفت روز اول تاثیر معنی‌دار خود را روی رشد غدد هیپوفارنژیال گذاشت و با افزایش سن، مساحت غدد تغییر معنی‌داری نکرد (جدول ۴).

اندازه رکتوم در زنبوران کارگر

اثرات متغیرهای اصلی شامل جیره غذایی ($F_{۵}$= ۱/۴۳۲ ; P = ۰/۲۲۲) و سن زنبور ($F_{۳}$= ۱/۹۵۸; P = ۰/۱۲۷) و همچنین اثرات متقابل آن‌ها ($F_{۱۵}$= ۱/۱۳۲; P = ۰/۳۴۲) روی مساحت رکتوم تاثیر معنی‌داری نداشت. بر اساس یافته‌ها، تغذیهٔ از جیره‌های مختلف گرده طی ۲۱ روز، تاثیر معنی‌داری روی مساحت رکتوم زنبورها نداشت (جدول ۵).

جدول ٤- میانگین (± خطای معیار) سطح غده هیپوفارنژیال (mm^2) زنبورهای کارگر تغذیه شده با رژیم‌های مختلف گرده، نگهداری شده در قفس پرورش طی دوره زمانی ۲۱ روزه، در دمای ۱ ± ۲۹ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ٦٠-٧٠ درصد

Table 4. Mean (± SE) hypopharyngeal gland surface (mm2) of adult worker bees, *Apis mellifera* fed on different pollen regimes, during a 21-day period in the rearing cages, at a temperature of 29 ± 1 degrees Celsius and a relative humidity of 60-70%

Pollen type	Sampling age (days)				$F_{3,16}$	*P*
	6	9	12	21		
Canola	8499.0 ± 841.3 Aa*	7745.7 ± 513.2 Aa	8420.7 ± 551.8 Aa	7771.8 ± 409.4 Aa	**0.45**	**0.716**
Date	5637.6 ± 290.5 Ab	5314.1 ± 346.3 Ab	8481.2 ± 339.0 Ab	5425.8 ± 331.2 Ab	**0.16**	**0.921**
Corn	5445.7 ± 258.5 Abc	4838.3 ± 180.3 Abc	5462.5 ± 325.2 Ab	4334.4 ± 382.5 Abc	**2.88**	**0.069**
Canola + Date	2811.5 ± 801.3 Ad	2830.8 ± 337.7 Ad	3033.3 ± 314.9 Ac	3278.9 ± 458.6 Ac	**0.178**	**0.91**
Canola + Corn	3235.4 ± 476.3 Abcd	3485.6 ± 305.5 Acd	2750.6 ± 280.6 Ac	2734.0 ± 415.9 Ac	**0.976**	**0.43**
Canola + Date + Corn	3028.6 ± 428.3 Acd	2850.4 ± 230.3 Ad	3472.3 ± 320.4 Ac	2614.2 ± 519.3 Ac	**0.45**	**0.716**
$F_{5,24}$	15.16	31.67	30.84	21.55		
P	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001		

* In each row, the values with similar capital letters, and in column, the values with similar lowercase letters are not significantly different (Two-way ANOVA, Tukey's post-hoc test; P > 0.05)

جدول ۵- میانگین (± خطای معیار) سطح رکتوم (mm^2) زنبورهای کارگر تغذیه شده با رژیم‌های مختلف گرده، نگهداری شده در قفس پرورش طی دوره زمانی ۲۱ روزه، در دمای ۱ ± ۲۹ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰-۷۰ درصد

Table 5. Mean (± SE) rectal area (mm2) of adult worker bees, Apis mellifera fed on different pollen regimes, during a 21-day period in the rearing cages, at a temperature of 29 ± 1 degrees Celsius and a relative humidity of 60-70%

Pollen type	Sampling age (days)				$F_{3,16}$	*P*
	6	9	12	21		
Canola	2.04 ± 0.15 Aa*	2.26 ± 0.33 Aa	2.14 ± 0.09 Aa	2.41 ± 0.31 Aa	0.691	0.571
Date	2.49 ± 0.17 Aa	2.1 ± 0.37 Aa	2.6 ± 0.34 Aa	1.64 ± 0.18 Aa	3.457	0.051
Corn	2.19 ± 0.12 Aa	1.92 ± 0.43 Aa	1.84 ± 0.31 Aa	2.06 ± 0.28 Aa	0.376	0.772
Canola + Date	2.28 ± 0.07 Aa	2.31 ± 0.17 Aa	2.43 ± 0.25 Aa	1.58 ± 0.25 Ba	3.678	0.035
Canola + Corn	2.5 ± 0.17 Aa	2.54 ± 0.37 Aa	2.69 ± 0.31 Aa	2.05 ± 0.2 Aa	0.669	0.587
Canola + Date + Corn	2.21 ± 0.26 Aa	2.46 ± 0.23 Aa	2.49 ± 0.21 Aa	2.38 ± 0.34 Aa	0.269	0.847
$F_{5,24}$	1.11	0.464	1.527	1.871		
P	0.381	0.798	0.228	0.15		

* In each row, the values with similar capital letters, and in column, the values with similar lowercase letters are not significantly different (Two-way ANOVA, Tukey's post-hoc test; P > 0.05)

فعالیت آنزیم پروتئاز

با توجه به شکل (۱) بیشترین فعالیت آنزیم پروتئاز متعلق به زنبورهایی بوده است که از مخلوط گرده‌ی کلزا و ذرت تغذیه کردند. بین این جیره گرده و جیره مخلوط سه گرده اختلاف معنی‌داری وجود داشت. همچنین، فعالیت آنزیم پروتئاز بین زنبورهای کارگری که از هر یک از گرده‌های کلزا، خرما، ذرت و همچنین جیره گرده مخلوط گرده‌های کلزا وخرما تغذیه می‌کردند، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (شکل ۱).

ترجیح غذایی زنبوران مورد مطالعه در شرایط دسترسی انتخابی

در شرایط دسترسی انتخابی، اثرات متغیرهای اصلی شامل نوع گرده ($F_{۵}$= ۳۲/۳۰۱; P < ۰/۰۰۱)، ساعات روز ($F_{۳}$= ۵۱/۰; P < ۰/۰۰۱) و اثرات متقابل آن‌ها ($F_{۱۵}$= ۱۸/۲۸۹; P < ۰/۰۰۱)، روی ترجیح غذایی زنبوران معنی‌دار بود.

هنگامی که ترجیح زنبورهای کارگر بین جیره‌های مختلف گرده مقایسه شد، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در بازه زمانی ۱۰-۸ صبح دیده نشد. در بازه زمانی ۱۰-۱۲، بطور معنی‌داری بیشترین تعداد زنبور (۱/۱۵ ± ۱۱/۰) به گرده خرما جلب شدند، به صورتی که گرده‌های خرما طی این بازه زمانی تمام شدند ($F_{۱۲۵}$= ۱۵/۲۹; P < ۰/۰۰۱). میزان جلب به گرده کلزا و سایر جیره‌های گرده در این بازه زمانی یکسان بود. در بازه زمانی ۱۴-۱۲ نیز بیشترین تعداد زنبور به جیره گرده خرما (۰/۸۸ ± ۱۱/۳) و همچنین جیره گرده ذرت (۱/۲ ± ۱۰/۶۷) جلب شدند ($F_{۱۲۵}$= ۵۲/۷۸; P < ۰/۰۰۱) (شکل ۲-A).

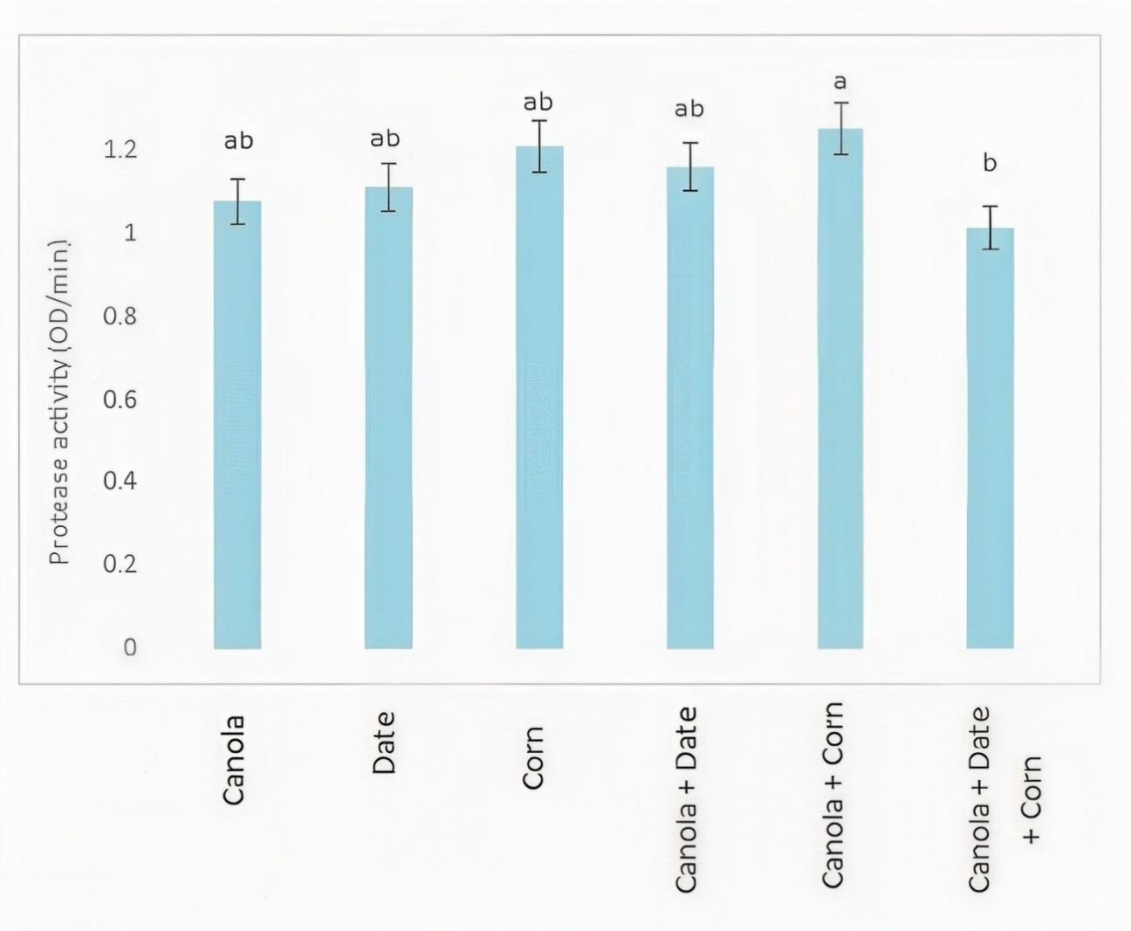
مقایسه گرده‌جویی زنبورها روی هر جیره در ساعات مختلف روز نشان داد که زنبورها از صبح تا ظهر (۱۲-۸) نسبت به جمع‌آوری گرده کلزا تمایل نشان دادند، ولی در ساعت ۱۴ هیچ زنبوری برای جمع‌آوری گرده کلزا مشاهده نشد (شکل ۲-A) ($F_{۸۳}$= ۳۰/۲۵; P < ۰/۰۰۱). در ارتباط با گرده خرما، عمده فعالیت زنبورها بین ساعت‌های ۱۰ تا ۱۴ مشاهده شد ($F_{۸۳}$= ۵۷/۵; P < ۰/۰۰۱). در خصوص گرده ذرت و همچنین گرده‌های مخلوط، فعالیت جمع‌آوری گرده بدون تفاوت محسوسی بین ساعت‌های ۸ تا ۱۴ ادامه داشت (شکل ۲-A).

ترجیح غذایی زنبوران مورد مطالعه در شرایط غیرانتخابی

اثرات متغیرهای اصلی شامل نوع گرده ($F_{۵}$= ۳۳/۶; P < ۰/۰۰۱)، ساعات روز ($F_{۳}$= ۹۰/۰; P < ۰/۰۰۱) و اثرات متقابل آن‌ها ($F_{۱۵}$= ۲۱/۰۱; P < ۰/۰۰۱)، روی ترجیح غذایی زنبوران معنی‌دار بود.

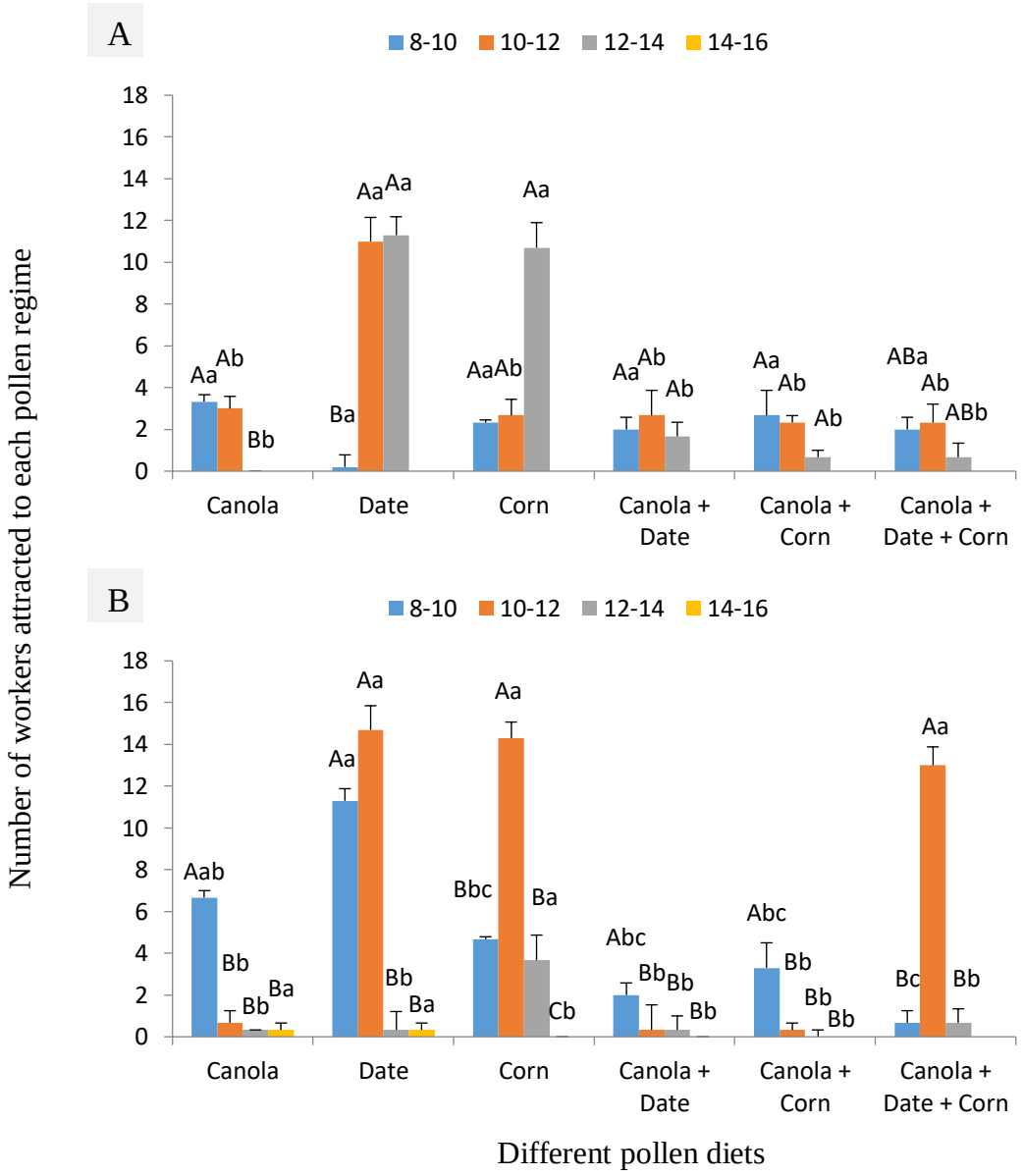
در بررسی ترجیح زنبورهای کارگر بین جیره‌های مختلف گرده، در تمام بازه‌های زمانی (۸ تا ۱۴) تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف دیده شد (شکل B-۲). در بازه زمانی ۱۰–۸ صبح، بیشترین تعداد زنبور روی گرده خرما و همچنین گرده کلزا شمارش شدند و بعد از آن سایر جیره‌های گرده قرار داشتند ($F_{۱۲،۵}$= ۹/۸۹; P = ۰/۰۰۱). در بازه زمانی ۱۲–۱۰ به طور معنی‌داری، بیشترین تعداد زنبور روی جیره گرده خرما (۱/۲ ± ۱۴/۷)، جیره گرده ذرت (۰/۶۷ ± ۱۴/۳) و همچنین جیره مخلوط سه نوع گرده (۲/۰ ± ۱۳/۰) دیده شد و سایر تیمارها از جمله تیمار کلزا در گروه بعدی جای گرفتند ($F_{۱۲،۵}$= ۵۳/۴۷; P < ۰/۰۰۱). در ساعت ۱۴–۱۲ بیشترین تعداد زنبور روی گرده ذرت مشاهده شد و سایر جیره‌ها در گروه بعدی قرار گرفتند ($F_{۱۲،۵}$= ۴/۴۵; P = ۰/۰۱۶) (شکل B-۲).

در شرایط دسترسی غیرانتخابی، زنبورهای کارگر در بازه زمانی ۸ تا ۱۶ نسبت به جمع‌آوری گرده کلزا اقدام کردند، ولی به طور قابل ملاحظه‌ای در بین ساعات ۸ تا ۱۰ تمایل بیشتری به جمع‌آوری گرده نشان دادند ($F_{۸،۳}$= ۱۸/۳۹; P = ۰/۰۰۱). در ارتباط با گرده خرما، عمده فعالیت زنبورها بین ساعات ۸ تا ۱۲ بود ($F_{۸،۳}$= ۳۱/۱۳; P < ۰/۰۰۱). در خصوص گرده ذرت، فعالیت جمع‌آوری گرده بین ساعات ۸ تا ۱۴ بود و اوج فعالیت بین ۱۰ تا ۱۲ دیده شد ($F_{۸،۳}$= ۴۹/۸۸; P < ۰/۰۰۱). در ارتباط با گرده‌های مخلوط، فعالیت جمع‌آوری گرده در بازه زمانی ۸ تا ۱۴ ادامه داشت (شکل B-۲).



شکل ۱- تاثیر جیره‌های مختلف گرده روی فعالیت آنزیم پروتئاز زنبورهای کارگر

Figure 1. Effect of different pollen diets on protease enzyme activity of worker bees



شکل ۲- میانگین (± خطای معیار) تعداد کارگر جلب شده در زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera meda*) به جیره‌های مختلف گرده، با شرایط دسترسی انتخابی (A) و غیرانتخابی (B)، در شرایط طبیعی ملایر (استان همدان)

Figure 2. Mean (± SE) number of worker bees, *Apis mellifera* meda attracted to different pollen diets with choice (A) and non-choice (B) access condition, under natural conditions in Malayer, Hamadan Province. Means within a pollen regime bearing the same upper case letter, and means within a two-hour period bearing the same lower case letter, were not significantly different (Two-way ANOVA, Tukey's post-hoc test; P > 0.05).

بحث

بهره‌وری کلنی و افزایش نقش آن در گرده‌افشانی به شدت تحت تاثیر طول عمر زنبورهای کارگر قرار دارد (Human et al., 2007). کمبود گرده و یا گرده با کیفیت پایین، باعث می‌شود که عمر کارگران کوتاه شده (Zheng et al., 2014; Seyfi et al., 2019)، نوزادان به کندی رشد نموده و دچار کاهش وزن شوند (Smart et al., 2016). در این ارتباط De Groot (1952) اشاره کرده است که طول عمر با مصرف مقدار مناسب پروتئین‌ها یا اسیدهای آمینه ضروری مرتبط بوده و دسترسی به گرده‌هایی با کیفیت، باعث افزایش طول عمر بزرگسالان می‌شود. مطابق با نتایج مطالعه حاضر، تغذیه کارگرها با گرده کلزا در مقایسه با سایر جیره‌های گرده بطور معنی‌داری منجر به افزایش طول عمر شد، به طوری‌که میزان مرگ و میر کارگرهای تغذیه شده با

این گرده در یک دوره ۴۲ روزه، فقط ۶ درصد بود (جدول ۳). همچنین وزن زنبورهای کارگر تغذیه شده با گرده کلزا بیشتر از سایر جیره‌های غذایی بود (جدول ۲)، که نشان دهنده کیفیت بالاتر این گرده در مقایسه با سایر جیره‌های گرده مورد مطالعه می‌باشد (جدول ۱).

پروتئین یک ماده مغذی و حیاتی برای تشکیل و توسعه غدد هیپوفارنژیال می‌باشد و اگر لاروهای زنبورعسل با رژیم غذایی که صرفا حاوی کربوهیدرات باشد تغذیه شوند، این غدد در آن‌ها رشد نخواهد کرد (Maurizio, 1954; Siavoshi et al., 2016). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، بیشترین سطح غدد هیپوفارنژیال در زنبورهایی دیده شد که از گرده‌ی کلزا تغذیه کردند. اضافه کردن سایر گرده‌ها (خرما و ذرت) با مقادیر کم (۱۰ تا ۲۰ درصد) به گرده کلزا، منجر به کاهش سطح غدد هیپوفارنژیال (تقریبا تا سه برابر)، در مقایسه با تیمار فقط گرده کلزا شد (جدول ۴). به نظر میرسد که مقادیر اندکی از سایر گرده‌ها با کیفیت پایین‌تر در جیره غذایی، می‌تواند تاثیر بازدارنده‌ای در رشد غدد هیپوفارنژیال داشته باشد. مطابق با نتایج سایر مطالعات، غدد هیپوفارنژیال به سرعت به تغییرات در محتوای پروتئین موجود در مواد غذایی واکنش نشان می‌دهند (Brouwers, 1982; Huang, 1990). به عبارتی رشد این غدد ارتباط نزدیکی با پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری در گرده‌های گیاهی مصرف شده، دارد (Pernal & Currie, 2000).

در بررسی انجام شده روی مصرف رژیم‌های مختلف پروتئین در شرایط آزمایشگاهی و تأثیر آن‌ها روی رشد هیپوفارنژیال در دوران شیردهی، بیشترین میزان رشد غدد در تغذیه با نان زنبور گزارش شد و پس از آن "مخمر-گلوتن-شکر" و "شربت گرده + پودر ساکارز" قرار داشتند (Alkazim Al-Ghamdi et al., 2011). علاوه بر این، مطالعه آزمایشگاهی دیگری روی اثر رژیم‌های غذایی پروتئین به عنوان مکمل‌های غذایی نشان داد که نان زنبور عسل و گرده خرما بهترین منابع برای رشد غدد هیپوفارنژیال می‌باشند (Al-Qarni, 2006). البته نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در رشد این غدد، گرده خرما از کیفیت پایین‌تری نسبت به گرده کلزا برخوردار است.

مطابق با مطالعات قبلی، رشد غدد هیپوفارنژیال زنبورهای کارگر، ۲۴ ساعت بعد از ظهور، به ویژه در زنبورهایی که در معرض نوزادان قرار نداشتند، صورت می‌گیرد(Crailsheim & Stolberg, 1989). به نظر می‌رسد رشد این غدد در کارگرها حداقل تا روز چهارم، وابستگی بیشتری نسبت به حضور یا عدم حضور لارو در کلنی دارد (Crailsheim & Stolberg, 1989). در تحقیقاتی کاهش اندازه غدد هیپوفارنژیال از ۱۲ روزگی به بعد گزارش شد و این روند کاهشی با افزایش سن، ادامه داشت (Brouwers, 1982; Lass & Crailsheim, 1996).

مطابق با مطالعات DeGrandi-Hoffman et al. (2010)، کیفیت غذا از ۱۲ روزگی به بعد هیچ تأثیری بر اندازه غدد هیپوفارنژیال نداشت. مطابق با یافته‌های مطالعه حاضر، در تمامی تیمارها، حداکثر میزان رشد غدد هیپوفارنژیال در همان هفت روز اول مشاهده شد و با افزایش سن، تغییری در اندازه غدد دیده نشد. عدم تغییر در اندازه غدد در مطالعات آزمایشگاهی (قفس پرورش) ممکن است ناشی از عدم دسترسی زنبورهای کارگر به لارو در طول دوره مطالعه باشد، موضوعی که توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (De Grandi-Hoffman et al., 2010).

تغییرات وزن رکتوم در زنبورهای کارگری که با جیره‌های مختلف تغذیه شده‌اند، در مطالعات متعددی مورد بررسی قرار گرفته (Omar, 1984; Mostafa, 2000; Abdalla, 2001; Al-Qarni, 2006) و گزارش شده که وزن محتویات حفره رکتوم میتواند متاثر از سن، وضعیت فیزیولوژیکی، نوع غذا و فصل سال باشد (Roulston and Cane, 2000). در تحقیقات انجام شده روی گرده‌های کلزا (*B. napus*) و شبدر برسیم (*Trifolium alexandrinum* L.)، مشخص شد چنانچه در جیره غذایی، گرده غیر قابل هضم وجود داشته باشد، وزن محتویات رکتوم با افزایش سن زیاد می‌شود (Ara Begum et al., 2022). در زنبورهای کارگر، با توجه به اینکه رکتوم تا حدود سه هفته پس از ظهور تخلیه نشده و تخلیه با آغاز چراگری در خارج از کندو و جذب مجدد آب آغاز می‌شود (Wigglesworth, 1932)،

تفاوت در میزان تجمع مواد زائد رکتوم (وزن رکتوم) در زنبورهای نگهداری شده در قفس پرورش که مدفوع نمی‌کنند، وابستگی بیشتری به اجزای تشکیل دهنده منبع پروتئینی داشته (Omar, 1984) و می‌تواند روی طول عمر زنبورهای کارگر نیز تأثیرگذار باشد (Maurizio, 1946; De Groot, 1953). با این وجود، مطابق با نتایج مطالعه حاضر، نوع جیره گرده تاثیر معنی‌داری روی سطح رکتوم نداشت و با گذشت زمان سطح رکتوم تغییر اندازه‌ای را نشان نداد (جدول ۵).

مطابق با نتایج مطالعات قبلی، انواع گرده به طور یکسان توسط زنبورهای عسل جمع‌آوری نشده (Boelter & Wilson, 1984; Di Pasquale et al., 2013)، و زنبورهای عسل هم در شرایط طبیعی و هم آزمایش‌های کنترل‌شده، برخی از گرده‌ها را نسبت به سایر گرده‌ها ترجیح می‌دهند (Yang et al., 2020). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان دهنده ترجیح معنی‌دار زنبورها بین جیره‌های مختلف گرده در دسترس می‌باشد.

نتایج حاصل از فعالیت گرده‌جویی زنبورها در شرایط دسترسی انتخابی و غیرانتخابی نشان داد که میزان فعالیت بر حسب ساعت روز، بین جیره‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بطور مثال در شرایط انتخابی، درحالی که فعالیت صبحگاهی بیشتر با گرده کلزا یا جیره‌های حاوی این نوع گرده شروع شد، بعد از ساعت ۱۰، مصرف گرده خرما به اوج رسید و این فعالیت بالا روی گرده خرما تا ساعت ۱۴ ادامه داشت، به صورتی که گرده‌های خرما طی این بازه‌های زمانی به اتمام رسید. در مقابل زنبورها در بعدازظهر به جمع‌آوری گرده کلزا تمایل نشان ندادند (جدول ۶). در مطالعه انجام شده توسط Khan and Ghramh (2021) روی میزان گرده‌جویی زنبور عسل *A. mellifera*، بیشترین فعالیت روی گرده کلزا در ساعت ۱۲:۰۰ ظهر و پس از آن در ساعت ۱۴:۰۰ بعد از ظهر بوده و برخلاف نتایج مطالعه حاضر، کمترین میزان فعالیت را در ساعت ۱۰:۰۰ صبح گزارش کردند (Khan & Ghramh, 2021). در مطالعه دیگری روی محصولات خانواده Brassica، اوج گرده‌جویی زنبور عسل در ظهر مشاهده شد (Ghosh et al., 2020).

بر اساس نتایج مطالعه حاضر گرده جویی زنبورها در صبح بیشتر از بعدازظهر بود. با این وجود، در برخی از مطالعات این فعالیت در بعدازظهر بیشتر از صبح گزارش شده است (Pernal & Currie, 2001; Shakeel et al., 2019; Ghosh et al., 2020). انتظار می‌رود انتخاب‌های گرده‌جویی در ساعات روز با پیش‌بینی‌های مدل‌های رژیم غذایی بهینه که در آن‌ها مصرف مواد مغذی به حداکثر می‌رسد، مطابقت داشته باشد (Krebs, 1978) و تصمیمات سازگار با انتخاب غذا ممکن است با تغییر شرایط کاملاً ناسازگار محسوب شود (Moran-Bariso & Gilley, 2025). بنابراین تفاوت در نتایج مطالعه حاضر با نتایج برخی از تحقیقات می‌تواند ناشی از تفاوت در شرایط محیطی، اکولوژیکی و فنولوژیکی گیاهان میزبان باشد.

در مطالعه حاضر، تفاوت معنی‌داری در رفتار گرده‌جویی زنبورها در شرایط دسترسی انتخابی و غیرانتخابی وجود داشت، به صورتی که بر خلاف شرایط انتخابی که بعد از ساعت ۱۲ هیچ زنبوری نسبت به جمع‌آوری گرده کلزا اقدام نکرد، در شرایط دسترسی غیرانتخابی، جمع‌آوری گرده کلزا حتی تا ساعت ۱۶ ادامه داشت. در ارتباط با گرده خرما نیز عمده فعالیت زنبورها در دسترسی غیرانتخابی بین ساعت‌های ۸-۱۲ صبح بود، این در حالی است که در شرایط دسترسی به انواع جیره گرده (آزمون انتخابی)، عمده فعالیت زنبورها بین ساعت‌های ۱۰ تا ۱۴ مشاهده شد. در خصوص گرده ذرت، همانند آزمون انتخابی، فعالیت جمع‌آوری گرده بین ساعت‌های ۸ تا ۱۴ بود ولی برخلاف آزمون انتخابی که اوج فعالیت در بازه زمانی ۱۴-۱۲ بود، در آزمون غیرانتخابی این اوج بین ساعت‌های ۱۰ تا ۱۲ دیده شد.

در شرایط دسترسی انتخابی، زنبورها بعد از ساعت ۱۴، نسبت به جمع‌آوری گرده روی هیچ جیره‌ای اقدام نکردند، در حالی که در دسترسی غیرانتخابی حداقل روی گرده کلزا و خرما، فعالیت تا ساعت ۱۶ ادامه داشت. در توجیه این تفاوت شاید بتوان گفت که در شرایط انتخابی با توجه به دسترسی کافی به حجم بالای گرده (۱۸ ظرف پتری، هر کدام ۰/۷ گرم گرده)، گرده جویی در ادامه روز متوقف شد، ولی در دسترسی غیرانتخابی که بالطبع گرده کمتری در اختیار

کلنی ها بود (۳ ظرف پتری)، گرده جویی تا ساعت ۱۶ ادامه داشت. همچنین باید اشاره کرد که بر خلاف آزمون انتخابی که به طور عمده زنبورها جلب گرده خرما و ذرت شدند، در آزمون غیرانتخابی، تمام جیره‌های گرده، حتی جیره‌های مخلوط گرده‌ها هم مورد توجه قرار گرفتند. این نکته نشان میدهد که در نبود گرده‌های مناسب‌تر، زنبورها ممکن است از گرده‌های با کیفیت پایین نیز تغذیه نمایند و این موضوع توجه زنبورداران برای تامین گرده مناسب برای کندوها را گوشزد می‌کند، چرا که در صورت کمبود گرده، زنبورها ممکن است به سراغ گرده‌های با حداقل کیفیت رفته و اثرات منفی این پدیده در تولید نوزادان ضعیف و سایر اثراتی که در این مطالعه به آن اشاره شده، نمایان شود.

تصمیمات انتخاب گرده در زنبورهای کاوشگر *A. mellifera* بنظر میرسد بر اساس میزان مواجهه، زمان جابجایی به کندو، وجود نوزادان، میزان گرده ذخیره شده، مورفولوژی گل و ارزش‌های غذایی آن گرده، تعیین شود (Lan et al., 2021; Moran-Bariso & Gilley, 2025; Camazine, 1993; Bilisik et al., 2008; Ghosh et al., 2020). مطابق با نتایج این مطالعه، در هر دو شرایط دسترسی انتخابی و غیرانتخابی، میزان مصرف گرده خرما و ذرت در مقایسه با سایر گرده‌ها خیلی بیشتر بود. با توجه به ارزش غذایی بالاتر گرده کلزا ، این موضوع نشان دهنده توجه کارگران به جذابیت‌های ظاهری گرده در مقابل ارزش واقعی آن‌ها می‌باشد. در این ارتباط در مطالعه انجام شده روی زنبورهای *Apis* و *Bombus*، مشخص شد که زنبورهای عسل تمایل به بهره‌برداری از منابع وسیع داشتند در حالی که زنبورهای بامبل عموماً گرده‌هایی با محتوای پروتئین بالاتر و اسیدهای آمینه ضروری را بیشتر برای جمع‌آوری ترجیح دادند. به عبارتی برخلاف زنبورهای بامبل که به جای کمیت، بر کیفیت تمرکز می‌کنند، زنبورهای عسل تمایل به بهره‌برداری از منابع وسیع داشتند (Leonhardt & Bluthgen, 2012).

نتیجه‌گیری نهایی

مطابق با نتایج آزمایشگاهی حاصل از پرورش زنبورهای عسل در قفس، کارگرها تمایل بیشتری به مصرف گرده کلزا نسبت به سایر جیره‌های گرده از خود نشان دادند، انتخابی که منجر به افزایش شایستگی در آن‌ها (افزایش وزن، طول عمر و رشد بیشتر غدد هیپوفارنژیال) در مقایسه با سایر زنبورهای کارگر شد. با این وجود، زنبورهای گرده‌جو در شرایط طبیعی (دسترسی انتخابی و غیرانتخابی) تمایل بیشتری به جمع‌آوری گرده خرما و ذرت نسبت به گرده کلزا داشتند. به طور کلی زنبورعسل برای افزایش کارایی خود و گرده افشانی گیاهان، معمولاً دارای ثبات گل‌گزینی‌اند و به یک گونه گیاهی وفادارند (چه برای شهد و چه برای گرده)، اما این وفاداری در جمع‌آوری گرده بسیار انعطاف‌پذیرتر از شهد است و گرده گیاهان مختلف در یک کلنی دیده می شود.

سپاس‌گزاری

بدینوسیله از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز (گرنت شماره SCU.AP1404.437) قدردانی می‌شود.

REFERENCES

Abbasian, A., & 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. URL: https://jstnar.iut.ac.ir/article-1-181-fa.html

Abdalla, M.A. (2001). Studies on certain factors influencing the honeybee queen rearing [Doctoral dissertation, Assiut University].

Abdulkadir, M., & Danjuma, J. B. (2015). Microbial profile and nutritional quality during the fermentation of cereal based weaning food fortified with soya bean and tiger nut using starter culture. *World Scientific News, 24*, 103-115.

Ali-Aghaie Naraghi, M. (2023). Honeybees and beekeeping, Ayzh Publication. (In Farsi)

Alkazim Al-Ghamdi, A., Al-Khaibari, A.M., & Omar, M.O. (2011). Consumption of some proteinic diets affecting hypopharyngeal glands development in honeybee workers. *Saudi Journal of Biological Science, 18*, 73–77. https:// doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.10.001

Alkanani, L., Rasekh, A., Mossadegh, M. S., & Hemmati, S. A. (2023). The feasibility of substituting date syrup for sucrose in honeybee stimulatory feeding in late winter and early spring, in the natural condition of Karbala, Iraq. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 45*(4): 107-119. https:// doi.org/10.22055/PPR.2023.18089

Al-Qarni, A.S. (2006). Influence of some protein diets on the longevity and some physiological conditions of honeybee *Apis mellifera* Worker. *Journal of Biological Science, 6*(4), 734–737. https://doi.org/10.3923/jbs.2006.734.737

Ara Begum, H., Idrees, A., Afzal, A., Iqbal, J., Abdul Qadir, z., Faisal Shahzad, M., Li, z., Shebl Ibrahim, S.S., Alkahtani, J., & Li, J. (2022). Impact of different pollen protein diets on the physiology of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) workers from essential plant sources. *Journal of King Saud University- Science, 35*(2): 1-8. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102511

Bashr, M., & Yehia, S. Y. (2012). Comparative study of the nutritional value of four types of Egyptian palm pollens. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences, 12,* 50-56. https://doi.org/10.6000/1927-5951.2012.02.01.7

Bilisik, A., Cakmak, I., Bicakci, A., Malyer, H., 2008. Seasonal variation of collected pollen loads of honeybees (Apis mellifera L. anatoliaca). Grana 47 (1), 70–77.

Blakemore, D., Williams, S., & Lehane, M. J. (1995). Protein stimulation of trypsin secretion from the opaque zone midgut cells of *Stomoxys calcitrans*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: *Biochemistry and Molecular Biology, 110* (2): 301–307. https://doi.org/10.1016/0305-0491(94)00156-O

Boelter, A., & Wilson, W. (1984). Attempts to condition the pollen preference of honey bees. *The American Bee Journal, 124*, 609–610.

Brouwers, E. V. M. (1982). Measurement of hypopharyngeal gland activity in the honeybee. *Journal of Apicultural Research, 21*(4), 193–198. https://doi.org/10.1080/00218839.1982.11100541

Camazine, S., 1993. The regulation of pollen foraging by honey bees: how foragers assess the colony's need for pollen. Behav. Ecol. Sociobiol. 32 (4), 265–272.

Campos, M. G. R., Bogdanov, S., Almeida-Muradian, L. B., Szczesna, T., Mancebo, Y., Frigerio, C. & Ferreira, F. (2008). Pollen composition and standardization of analytical methods. *Journal of Apicultural Research and Bee World, 47*(2), 156-163. https://doi.org/10.3896/IBRA.1.47.2.12

Chengcheng, Li., Baohua, X. U., Yuxi, W., Qianqian, F., & Weiren Y. (2012). Effects of dietary crude protein levels on development, antioxidant status, and total midgut protease activity of honey bee (*Apis mellifera ligustica*). *Apidologie, 43*, 576–586. https://doi.org/10.1007/s13592-012-0126-0

Crailsheim, K., & Stolberg, E. (1989). Influence of diet, age and colony condition upon intestinal proteolytic activity and size of the hypopharyngeal glands in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology, 35*(8): 595–602. https://doi.org/10.1016/0022-1910(89)90121-2

Dadd, R. H. (1956). Proteolytic activity of the midgut in relation to feeding in the beetles *Tenebrio molitor* L. and *Dytiicut marginalii* L. *Journal of Experimental Biology, 33*, 304-311. https://doi.org/10.1242/jeb.33.2.311

Dadd, R. H. (1973). Insect nutrition: current developments and metabolic implications. *Annual Review Entomology, 18*, 381-420.

DeGrandi-Hoffman, G., Chen, Y., Huang, E., & Huang, M.H., (2010). The effect of diet on protein concentration, hypopharyngeal gland development and virus load in worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology, 56*, 1184–1191. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.03.017

De Groot, A.P., (1952). Amino acid requirements for growth of the honeybee (*Apis mellifica* L.). *Experientia, 8*(5): 192–194. https://doi.org/10.1007/BF02173740.

De Groot, A.P. (1953). Protein and amino acid requirement of the honeybee (*Apis mellifera* L.). Physiology *Comparatae Oecologia*, *3*, 197–285.

Dobson, H. E. M. (1988). Survey of pollen and pollenkitt lipids – chemical cues to flower visitors. *American Journal of Botany, 75*(2): 170–182. https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1988.tb13429.x

Di Pasquale, G., Salignon, M., Le Conte, Y., Belzunces, L. P., Decourtye, A., Kretzschmar, A., Suchail, S., Brunet, J.-L., & Alaux, C. (2013). Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? *PLoS ONE, 8, e72016*. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072016

Ebadi, R., & Ahmadi, A. A. (1990). Honeybee reaning. raha nejat Isfahan Publication. (In Farsi)

Elpidina, E. N., Vinokurov, K. S., Gromenko, V. A., Rudenskaya, Y. A., Dunaevsky, Y. E., & Zhuzhikov, D. P. (2001). Compartmentalization of proteinases and amylases in *Nauphoeta cinerea* midgut. *Archives of Insect Biochemistry Physiology, 48*, 206- 216. https://doi.org/10.1002/arch.10000

Fruit Growers News. (2020). Things to consider when renting bees for crop pollination, https://fruitgrowersnews.com/article/things-to-consider-when-renting-bees-for-crop-pollination/

Ghosh, S., Jeon, H., Jung, C., 2020. Foraging behaviour and preference of pollen sources by honey bee (Apis mellifera) relative to protein contents. J. Ecol. Environ. 44 (1), 4.

Grigoryan, G. A., Stepanyan, V. A., Markosyan, A. A., & Danielean, S. G. (1969). Trace elements in pollen pellets and in the body of bees. P. 425. Proceedin s of the XXIIrd International Beekeeping Congress Munich, August 1-7, Apimondia Publishing House, Bucharest, Romania.

Hashemi, M. (2001). Complete guide to beekeeping. Tehran, Iran. Community Culture Publications. (In Farsi)

Herbert, E. W., & Shimanuki, H. (1977). Brood-rearing capacity of caged honey bees fed synthetic diets. Journal of Apicultural Research, 16, 150-153. https://doi.org/10.1080/00218839.1977.11099877

Haydak, M. H. (1970). Honey Bee Nutrition. *Annual Review of Entomology, 15*, 143-156.

Herbert, E. W. J., & Miller-Ihli, N. J. (1987). Seasonal variation of seven minerals in honey bee collected pollen. *The American Bee Journal, 127*, 367–369.

Höcherl, P. N., Siede, R., Illies, I., Gätschenberger, H., & Tautz, J. (2012). Evaluation of the nutritive value of maize for honey bees. *Journal of Insect Physiology, 58*(2), 278-285. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.12.001

Hosseininaveh, V., Bandani, A., Azmayeshfard, P., Hosseinkhani, S., & Kazzazi, M. (2007). Digestive proteolytic and amylolytic activities in *Trogoderma granarium* Everts (Dermestidae: Coleoptera). *Journal of Stored Products Research, 43*(4), 515-522. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2007.02.003

Huang, Z. Y. (1990). A simple in vivo bioassay for estimating the hypopharyngeal gland activity in honeybee (*Apis mellifera* L.) (Apidae, Hymenoptera). *Journal of Apicultural Research, 29,* 75–81.

Human, H., Nicolson, S. W., Strauss, K., Pirk, C. W. W., & Dietemann, V. (2007). Influence of pollen quality on ovarian development in honeybee workers *(Apis mellifera* scutellata). *Journal of Insect Physiology, 53*(7), 649–655. https://doi.org/ 10.1016/j.jinsphys.2007.04.002.

Kaushik, V. K. 2012. Beekeeping in India a profitable Enterprise. Jain Brothers Publication.

Khan, K. A., & Ghramh, H. A. (2021). Pollen source preferences and pollination efficacy of honey bee, *Apis mellifera* (Apidae: Hymenoptera) on *Brassica napus* crop, *Journal of King Saud University – Science, 33*, 101487. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101487

Krebs, J. R. (1978). Optimal foraging: decision rules for predators. In: Krebs JR, Davies NB, editors. Behavioral ecology: an evolutionary approach. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc. p. 23–63.

Lan, J., Ding, G., Ma, W., Jiang, Y., & Huang, J. (2021). Pollen source affects development and behavioral preferences in honey bees. Insects, 12, 130. https://doi.org/10.3390/insects12020130

Lass, A., & Crailsheim, K., (1996). Influence of age and caging upon protein metabolism, hypopharyngeal glands and trophallactic behavior in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Insects Sociaux. 43*(4), 347–358. https://doi.org/10.1007/BF01258408

Leonhardt, S. D., & Bluthgen, N. (2012). The same, but different: pollen foraging in honeybee and bumblebee colonies. Apidologie, 43, 449–464. https://doi.org/10.1007/s13592-011-0112-y

Loidl, E., & Crailsheim, K. (2001). Free fatty acid digested from pollen and triolein in the honey bee (*Apis mellifera* carnica Pol.) midgut. *Journal Comparative Physiology, 171*(4): 313-319. https://doi.org/10.1007/s003600100178.

Maurizio, A. (1946). Observation on the life span of bees kept in cages and their food consumption. *Beih. Schweitz Bienenztg, 2*(13), 1–48.

Maurizio, A. (1954). Pollen nutrition and life processes in the honey bee. *Agricultural Yearbook of Switzerland, 62*, 115–182.

Maurizio, A., & Hodges, F. E. D. (1951). Pollen analysis of honey. *Bee world, 32*(1), 1–5.

Mishra, R. C. (1955). Social behavior of bees and related management practices. Haoney bees and their management in India. Krishi Anusandhan Bhawan Publication.

Moran-Bariso, C. F. P., & Gilley, D. C. (2025). Pollen-foraging preferences of honey bee colonies (Apis mellifera L.) based on plant bloom timing in an urbanized Northeast U.S. habitat. PLoS One 20(10): e0335828. https:// doi.org/10.1371/journal.pone.0335828

Mostafa, A. M. (2000). Influence of some supplementary feeding on physiological characters and productivity of honeybees [Doctoral dissertation, Assiut University].

Mousavi, M. (2018). Determining the genetic diversity of the honey bee population in Gilan and Mazandaran provinces using microsatellite markers [Master's dissertation, Zanjan University]. (In Farsi with English summary)

Muller, H. M., Catteruccia, F., Vizioli, J., dellatorre, A., & Crisanti, A. (1995). Constitutive and blood meal-induced trypsin genes in *Anopheles gambiae*. *Experimental Parasitology, 81*(3): 371-385. https://doi.org/10.1006/expr.1995.1128.

Nielsen, N. (1955). Investigations on the chemical composition of pollen from some plants. *Acta Chemistry Scandinavia, 9*, 1100-1106.

Omar, M. O. M. (1984). Influence of supplementary honeybee feeding with pollen and yeast paraffin to development haemolymph composition and enzymatic activity of *Apis mellifera* [Doctoral dissertation, Bucuresti University]. (In Romanian with English summary)

Osterman, J., Theodorou, P., Radzeviciut, R., Schnitker, P., and Paxton, R. J. (2021). Apple pollination is ensured by wild bees when honey bees are drawn away from orchards by a mass co-flowering crop, oilseed rape. *Agriculture, Ecosystems & Environment, 315,* 107383. https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107383

Pernal, S. F., & Currie, R. W. (2000). Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honeybees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie, 31,* 387–409. https://doi.org/10.1051/apido:20001.

Pernal, S.F., & Currie, R.W. (2001). The influence of pollen quality on foraging behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology, 51*(1), 53–68. https://doi.org/10.1007/s002650100412

Refahi, M., & Alipour, M. J. (2018). valuable plants in beekeeping of Iran. Zarih Aftab publication. (In Farsi)

Roulston, T. H., & Cane, J. H. (2000). Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution, 222*(1), 187–209. https://doi.org/10.1007/BF00984102

Saeedi, D., Sarabandi, Kh., & Najafi Darmian, Y. (2013). Studying the rheological properties of honey. Marja Danesh Publication.

Seyfi, A., Tahmasebi, Gh., Mehmannavaz, Y., & Parichehreh, Sh. (2019). The effect of vitamin C on maturation, mating and egg-laying ages of Iranian honey bee queens (*Apis mellifera meda*). *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 42*(2), 85-95. (In Farsi with English summary)

Serra Bonvehi, J., & Escolà Jordà, R. (1997). Nutrient composition and microbiological quality of honeybee-collected pollen in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45*, 725-732.

Shakeel, M., Ali, H., Ahmad, S., Said, F., Khan, K.A., Bashir, M.A., et al., (2019). Insect pollinators diversity and abundance in Eruca sativa Mill. (Arugula) and *Brassica rapa* L. (Field mustard) crops. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *26*(7), 1704–1709. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.012

Siavoshi, Y., Bahraini Behzad, M., & Behjatian-Esfahani, M. (2016). Isolation, identification and investigation of the changes in honey bee mammary gland proteins at different growth ages by sodium didecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis method. *Animal Research Journal (Iranian Biology Journal), 30*(3), 435-428.

Sigel, A. J. (2011). Ovarian regulation of honey bee (*Apis mellifera*) foraging division of labor. [Doctoral dissertation, Arizona state university].

Smart, M., Pettis, J., Rice, N., Browning, Z., & Spivak, M. (2016). Linking measures of colony and individual honey bee health to survival among apiaries exposed to varying agricultural land use. *PLoS One* 11, e0152685. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152685

Somerville, D. 2005. Fat bees skinny bees: a manual on honey bee nutrition for beekeepers. Wageningen University and Research Library catalog, 1440-6845 (05/054): 142.

Somerville, D., & Nicol, H. I. (2002). Mineral content of honeybee-collected pollen from southern New South Wales. *Australian Journal of Experimental Agriculture, 42*(8), 1131-1136. https://doi.org/10.1071/EA01086

Toosi, M., Rasekh, A., Ziaee, M., Shishehbor, P., & Tahmasbi, Gh. (2024). Effect of *Varroa destructor* (Acari.: Varroidae) on morphological and nutritional characteristics of the worker honeybee, *Apis mellifera meda* (Hym.: Apidae). *Iranian Veterinary Journal, 20*(2), 50-63. https://doi.org/10.22055/ivj.2023.406057.2594

Wigglesworth, V. B. (1932). Function of rectal glands. *Quarterly journal of microscopical science, 75*, 131–150.

Williams, G. R., Alaux, C., Costa, C., Csáki, T., Doublet, V., Eisenhardt, D., Fries, I., Kuhn, R., McMahon, D. P., Medrzycki, P., Murray, T. E., Natsopoulou, M. E., Neumann, P., Oliver, R., Paxton, R.bJ., Pernal, S. F., Shutler, D., Tanner, G., Van der Steen, J. J. M., Brodschneider, R., (2013). Standard methods for maintaining adult *Apis mellifera* in cages under in vitro

laboratory conditions. Journal of Apicultural Research, 52 (1), 1–36. https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.04.

Yang, H., Sun, J., Tang, P., Ma, C., Luo, S., & Wu, J. (2020). The ratio of sunflower pollens foraged by *Apis mellifera* Is more than that of *Apis cerana* does during sunflower blooming. Sociobiology, 67, 256–260. https://doi.org/10.13102/sociobiology.v67i2.4408

Zheng, B., Wu, Z., & Xu, B. (2014). The effects of dietary protein levels on the population growth, performance, and physiology of honey bee workers during early spring. *Journal of Insect Science, 14*: 191. https://doi.org/10.1093/jisesa/ieu053

© 2026 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.