14(1) 401-406, Spring 2022

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

Original Research Paper

Effect of season on the development of hypopharyngeal glands and its morphological characteristics under brood rearing conditions in honey bee colonies (*Apis mellifera*)

Hossein Mohebodini *

Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Key Words

Season Hypopharyngeal gland
Morphology
Honey bee

Abstract

Introduction: The hypopharyngeal glands (HPGs) are a major member of protein synthesis in worker bees, which is involved in larval growth. In this experiment, the effect of season (summer, winter and spring) on the development of HPGs and its morphological characteristics under brood rearing conditions in honey bee colonies (*Apis mellifera*) was investigated.

Materials & Methods: To carry out this experiment, 10 honey bee colonies with the same conditions in all seasons were used.

Results: The results showed that there was a significant difference between the different seasons in the acini area of the HPGs of worker bees (at the ages of 3, 6, 9 and 15 days). The highest acini area in winter, summer and spring was 0.130, 0.189 and 0.079 mm^2, respectively. During the winter, spring and summer, the HPGs fully developed under brood conditions but had morphological differences. Also, the highest level of unsealed/uncapped brood rearing was related to spring (2300 cm^2).

Conclusion: According to the results obtained from the development of HPGs in summer and winter, an upward and downward trend in glands growth was observed, which is known, but in the spring we saw a steady trend in the growth of glands, which could be a new theory of the development of HPGs in the spring according to the level of brood rearing.

* Corresponding Author's email: mohebodini@yahoo.com
Received: 26 January 2021; Reviewed: 2 March 2021; Revised: 4 May 2021; Accepted: 3 June 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.288306.2543

مقاله پژوهشی

اثر فصل بر توسعه غدد هیپوفارنژیال و خصوصیات مورفولوژیکی آن تحت شرایط پرورش نوزادی در کلنی‌های زنبور عسل (*Apis mellifera*)

*حسین محب‌الدینی**

گروه علوم دامی ، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

کلمات کلیدی

فصل
غدد هیپوفارنژیال
مورفولوژی
زنبور عسل

چکیده

مقدمه: غدد هیپوفارنژیال عضو اصلی سنتز پروتئین در زنبورهای عسل کارگر است که در پرورش لارو نقش دارد. در این آزمایش اثر فصل (تابستان، زمستان و بهار) بر توسعه غدد هیپوفارنژیال و خصوصیات مورفولوژیکی آن در شرایط پرورش نوزادی در کلنی‌های زنبور عسل (*Apis mellifera*) موردبررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: برای انجام این آزمایش ۱۰ کلنی زنبور عسل با شرایط یکسان در تمام فصول مورداستفاده قرار گرفت.

نتایج: نتایج آزمایش نشان داد که بین فصول مختلف، مساحت آسینی غدد هیپوفارنژیال زنبورهای کارگر (در سنین ۳، ٦، ۹ و ۱۵ روزگی) دارای اختلاف معنی‌داری بود. بیش‌ترین مساحت آسینی در فصل زمستان، تابستان و بهار به‌ترتیب معادل ۰/۱۳۰، ۰/۱۸۹ و ۰/۰۷۹ میلی‌متر مربع بود. در طی فصول زمستان، بهار و تابستان تحت شرایط پرورش نوزادی غدد هیپوفارنژیال به‌طور کامل رشد کردند ولی دارای اختلافات مورفولوژیکی بودند. هم‌چنین بیش‌ترین سطح پرورش نوزادی درپوش‌گذاری نشده مربوط به فصل بهار (۲۳۰۰ سانتی‌مترمربع) بود ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری و بحث: با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از توسعه غدد هیپوفارنژیال در فصول تابستان و زمستان یک‌روند صعودی و نزولی در رشد غدد مشاهده گردید که شناخته‌شده است ولی در فصل بهار یک‌روند ثابت در رشد غدد ملاحظه گردید که می‌تواند یک نظریه جدید در خصوص روند توسعه غدد هیپوفارنژیال در فصل بهار با توجه به سطح پرورش نوزادی باشد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mohebodini@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۷ بهمن ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۱۲ اسفند ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۱٤ اردیبهشت ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳ خرداد ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.288306.2543

مقدمه

غدد هیپوفارنژیال (Hypopharyngeal glands :HPGs) در سر و پشت چشم مرکب زنبورهای عسل کارگر قرار دارند که از ساختارهای وزیکول مانندی به‌نام آسینی تشکیل شده است. وظیفه اصلی آن‌ها ترشح ماده پروتئینی به‌نام ژله رویال است (۱). این غدد در مرحله شفیرگی شروع به تمایز می‌کنند و تا حد زیادی در زمان متولد شدن توسعه‌نیافته هستند (۲). در حالت عادی غدد در زنبورهای پرستار به خوبی رشد می‌کنند و هنگامی‌که به زنبورهای چراگر تبدیل می‌شوند، از بین می‌روند. از قطر غدد هیپوفارنژیال اغلب برای توصیف وضعیت فیزیولوژیکی زنبورهای عسل کارگر استفاده می‌شود. روند طبیعی رشد این غدد (اندازه آسینی) کاملاً شناخته‌شده است و به سن کارگران، شرایط کلنی و زمان سال بستگی دارد. تنظیم وظیفه در زنبورهای عسل کارگر اصولاً براساس سن انجام می‌شود، زنبورهای جوان در داخل کندو فعالیت‌هایی مانند مراقبت از نوزاد و تولید موم دارند، در حالی که زنبورهای مسن با فعالیت‌های خارج از کندو تبدیل به زنبورهای صحرارو یا چراگر می‌شوند (۳). به‌دلیل تغییر وظایف، می‌توان تغییرات وابسته به سن را در غدد برون‌ریز انتظار داشت. لارو زنبور عسل از نظر غذایی وابستگی کامل به زنبورهای پرستار دارد (۴). هنگامی‌که زنبورهای کارگر پرستار هستند، آن‌ها پرورش نوزادی را انجام می‌دهند که با توسعه غدد هیپوفارنژیال مرتبط است. اندازه غدد هیپوفارنژیال با تولید یا ترشحات غده ارتباط دارد و به‌طورکلی از سن ۶ تا ۱۸ روزگی در زنبورهای پرستار افزایش می‌یابد (۵، ۱). در طول تابستان، لاروها توسط زنبورهای پرستار ۵ تا ۲۰ روزه تغذیه می‌شوند که غدد هیپوفارنژیال در آن‌ها کاملاً توسعه یافته و سرعت بالایی از سنتز پروتئین را نشان می‌دهند (۶). در زمستان، زمانی‌که در کلنی پرورش نوزادی وجود ندارد، غدد کاملاً رشد یافته هستند (هیپرتروفی)، با این‌وجود میزان کمی سنتز پروتئین را نشان می‌دهد. با این حال، در بهار هنگامی‌که ملکه شروع به تخم‌گذاری می‌کند، یا هنگامی‌که نوزاد به‌طور مصنوعی معرفی می‌شود، سنتز پروتئین در غدد هیپوفارنژیال فعال می‌شود و حداکثر ظرف سه روز افزایش می‌یابد (۶، ۷). فعال شدن غدد هیپوفارنژیال یک فرآیند پیچیده به‌نظر می‌رسد. نشان داده شده است که هورمون جوانی (Juvenile hormone) رشد این غده را کنترل می‌کند (۸، ۹). بااین‌حال، هورمون جوانی به‌تنهایی سنتز پروتئین را در زنبورهای زمستانی (با غدد هیپوفارنژیال رشد یافته) در غیاب نوزاد تحریک نمی‌کند (۷). بر این اساس، هورمون جوانی اگرچه ممکن است رشد غدد هیپوفارنژیال را کنترل کند، اما غدد تکامل‌یافته لزوماً به‌طور فعال پروتئین را سنتز نمی‌کنند. علاوه بر این، به‌نظر می‌رسد سیگنال‌هایی از نوزاد وجود دارد که فرآیند سنتز پروتئین را در غدد هیپوفارنژیال که قبلاً توسعه‌یافته‌اند آغاز و حفظ می‌کند. بیش‌ترین میزان سنتز پروتئین در سنین پرستاری از ۸ تا ۱۶ روزگی اتفاق می‌افتد (۱۰، ۱۱). در زنبورهای بزرگ‌تر از ۱۸ روز (نگهبان و چراگر) ، غدد هیپوفارنژیال به‌طور قابل توجهی در اندازه کاهش می‌یابد و آنزیم‌هایی مانند α- گلوکوزیدازها، لوسین آریلامیداز و اینورتاز ترشح می‌کند. اندازه غدد در زنبوران چراگر کاهش‌یافته و با فعالیت غده همبستگی دارد (۱، ۱۰). هدف از انجام این آزمایش بررسی تغییرات فصلی بر روی رشد و خصوصیات مورفولوژیکی غدد هیپوفارنژیال، وزن سر و سطح پرورش نوزادی در کلنی‌های زنبور عسل است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با استفاده از ۱۰ کلنی زنبور عسل (*Apis mellifera*) در فصول مختلف سال (زمستان، بهار و تابستان) به‌منظور بررسی رشد غدد هیپوفارنژیال، وزن سر و سطح پرورش نوزادی (سلول‌های درپوش‌گذاری نشده) انجام شد. در ابتدای هر فصل کلنی‌های زنبور عسل از نظر جمعیت، میزان نوزاد و ذخیره غذایی در شرایط یکسانی قرار داشتند. در این آزمایش برای اجتناب از اثر تفاوت‌های ژنتیکی بین کلنی‌ها از ملکه‌های هم‌سن خواهری استفاده شد.

اندازه‌گیری مساحت آسینی غدد هیپوفارنژیال و وزن سر: برای اندازه‌گیری رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال در فصول مختلف به تعداد ۱۰۰ زنبور عسل کارگر از هر کلنی به هنگام خروج از سلول (زنبور عسل یک‌روزه) با استفاده از ماژیک مخصوص، نشانه‌گذاری شدند (شکل ۱). به تعداد ۱۲ عدد زنبور عسل کارگر نشان‌دار شده از هر کلنی (تکرار) برای هر سن (۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ روزگی) انتخاب شدند. منظور از سن ۳ روزگی عبارت از سه روز بعد از نشانه‌گذاری زنبور عسل است، سر زنبورهای عسل انتخاب‌شده جدا و با ترازوی بادقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شدند (شکل ۲). در زیر استریومیکروسکوپ غدد هیپوفارنژیال از داخل سرها خارج و آسینی غده‌های غوطه‌ور در محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد (ایزو تونیک نسبت به همولنف) با یک میکرومتر اندازه‌گیری شد (شکل ۳). طول و عرض ۱۰ آسینی از قسمت‌های مختلف غده اندازه‌گیری و مساحت آن‌ها که به‌وسیله معادله زیر به‌دست می‌آید به‌عنوان شاخصی از رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال درنظر گرفته شد (۱۲، ۱۳):

$$\text{مساحت آسینی} = \frac{a \times b}{2} \times \pi$$

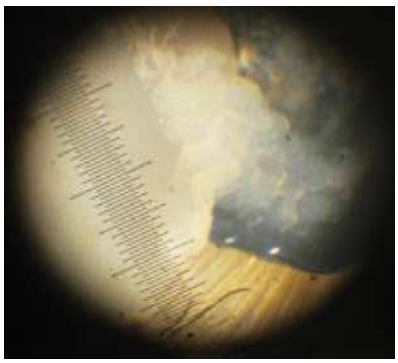
که ۳/۱۴: π، حداکثر عرض: b، حداکثر طول: a است.

اندازه‌گیری سطح پرورش نوزادی (سلول‌های درپوش‌گذاری نشده شامل تخم و لارو): اندازه‌گیری سطح پرورش نوزادی شامل تخم و لارو (سلول‌های درپوش‌گذاری نشده) از طریق اندازه‌گیری

سطحشان حاوی تخم و لارو به‌وسیله قاب مشبک شده ۵×۵سانتی‌متر که داخل هر مربع درحدود صد حجره جامی‌گیرد، انجام شد (شکل ۴). با قرار دادن این قاب مشبک روی سطحشان میزان پرورش نوزادان درپوش‌گذاری نشده شامل تخم و لارو مشخص و برحسب سانتی‌مترمربع بیان شد(۱۴). ارزیابی سطح پرورش نوزادان در کلنی‌ها در هر فصل انجام شد. داده‌های حاصل از آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی آنالیز شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS استفاده شد.

شکل ۱: نشانه‌گذاری زنبورهای کارگر تازه متولدشده با ماژیک مخصوص

شکل۲: اندازه‌گیری وزن سر زنبورهای کارگر با ترازوی دیجیتال (دقت ۰/۰۰۱ گرم)



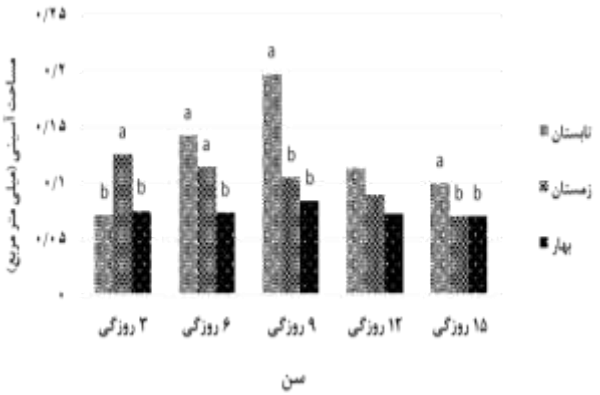
شکل ۳: بررسی غدد هیپوفارنژیال با استریو میکروسکوپ و میکرومتر

شکل۴: اندازه‌گیری سطح پرورش نوزادی (سلول‌های درپوش گذاری نشده) با قاب مشبک ۵×۵ سانتی‌متر

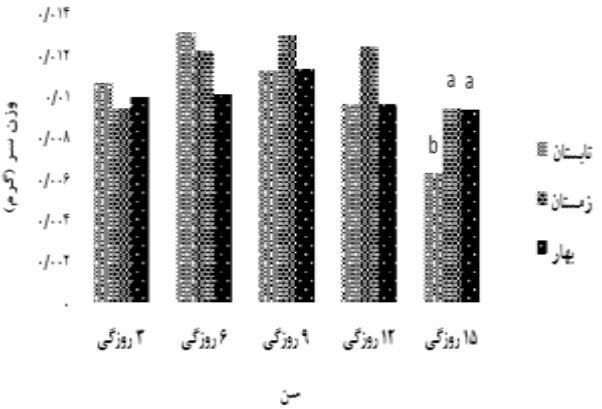
نتایج

نتایج مربوط به رشد غدد هیپوفارنژیال زنبورهای عسل کارگر با اندازه‌گیری مساحت آسینی برحسب میلی‌مترمربع در شکل ۵ آورده شده است. نتایج آزمایش نشان داد که رشد غدد هیپوفارنژیال بین‌فصول مختلف در سنین ۳، ۶، ۹ و ۱۵ دارای اختلاف معنی‌داری بود. ولی در ۱۲ روزگی اختلاف معنی‌داری بین‌فصول مشاهده نگردید. رشد غدد در فصل زمستان در ۳ روزگی بیش‌تر از فصول تابستان و بهاربود (P<۰/۰۵). در ۶ روزگی رشد غدد در فصل تابستان و زمستان بیش‌تر از بهاربود (P<۰/۰۵).در ۹ و ۱۵ روزگی نیز رشدغددد‌ر فصل تابستان تاحد زیادی بیش‌تر از فصول زمستان و بهار بود (P<۰/۰۵). در ۱۲ روزگی رشد غدد در هر سه فصل تقریباً مشابه هم بود ولی ازلحاظ عددی در فصل تابستان بیش‌تر از دو فصل‌دیگر بود.در فصل زمستان، بیش‌ترین مساحت آسینی در سن ۳ روزگی زنبورها بوده است که معادل ۰/۱۳۰ میلی‌متر مربع است. در فصل تابستان و بهار نیز بیش‌ترین مساحت آسینی مربوط به سن ۹ روزگی زنبورها است که به‌ترتیب معادل ۰/۱۸۹ و ۰/۰۷۹ میلی‌متر مربع است. نتایج مربوط به وزن سر زنبورهای‌عسل‌کارگر در شکل ۶ آورده شده است. همان‌طورکه در شکل مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری در وزن سر زنبورها بین فصول مختلف در سنین ۳، ۶، ۹ و ۱۲ وجود ندارد و فقط در ۱۵ روزگی از سن آن‌ها اختلاف معنی‌دار است. در سن ۱۵ روزگی زنبورهای کارگر وزن سر آن‌ها در فصل بهار و زمستان به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از فصل تابستان بود (P<۰/۰۵). در فصل زمستان و بهار بیش‌ترین وزن سر مربوط به سن ۹ روزگی زنبورهای کارگر است‌که به‌ترتیب معادل ۰/۰۱۳ و ۰/۰۱۱ گرم‌است. درفصل تابستان نیز بیش‌تر وزن سر مربوط به سن ۶ روزگی می‌باشد که برابر ۰/۰۱۳

گرم بود. وزن سر در زنبورهای عسل با گذشت زمان افزایش و سپس کاهش‌یافته است که مطابق با افزایش وزن بدنی زنبورها است که ابتدا افزایش و سپس کاهش می‌یابد.

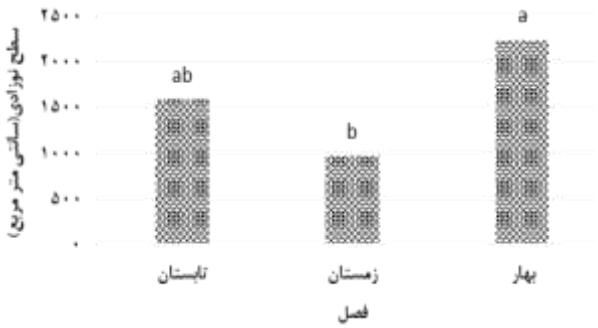


شکل ۵: نمودار مقایسات میانگین مساحت آسینی غدد هیپوفارنژیال (برحسب میلی‌مترمربع) در زنبورهای کارگر با سنین مختلف در فصول مختلف سال



شکل ۶: نمودار مقایسات میانگین وزن سر (برحسب گرم) در زنبورهای کارگر با سنین مختلف در فصول مختلف سال

نتایج مربوط به سطح پرورش نوزادی (سلول‌های درپوش‌گذاری نشده) در شکل ۷ آورده شده است. با توجه به نتایج سطح پرورش نوزادی درپوش‌گذاری نشده که شامل تخم و لارو است اختلاف معنی‌داری در بین فصول وجود داشت ($P<0/05$). سطح پرورش نوزادی در فصل بهار به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از فصل زمستان بود ($P<0/05$) ولی با فصل تابستان اختلاف معنی‌داری نداشت. اگرچه از لحاظ عددی سطح پرورش نوزادی در فصل بهار بیش‌تر از فصل تابستان بود. بیش‌ترین سطح پرورش نوزادی سلول‌های درپوش‌گذاری نشده (شامل تخم و لارو) مربوط به فصل بهار حدود ۲۳۰۰ سانتی‌متر مربع بود. هم‌چنین در فصول زمستان و تابستان سطح پرورش نوزادی به‌ترتیب ۹۶۲/۵ و ۱۵۱۱ سانتی‌متر مربع بود.



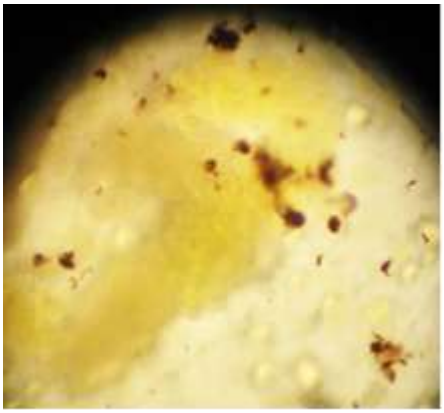
شکل ۷: نمودار مقایسات میانگین سطح پرورش نوزادی بدون درپوش(برحسب سانتی‌متر مربع) در فصول مختلف سال

بحث

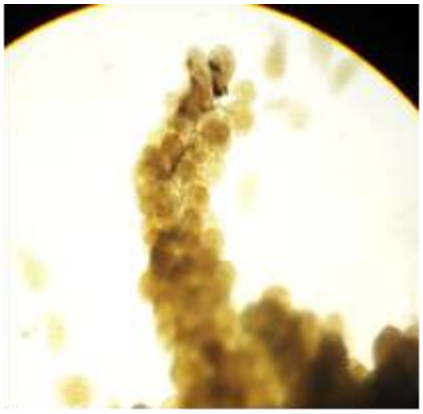
همان‌طورکه درنتایج مشاهده‌شد رشدغدد دردو فصل تابستان و زمستان روند رشد صعودی و سپس نزولی داشتند. ولی در فصل بهار رشد غدد تقریباً در یک سطح قرار دارد و روند رشد صعودی و نزولی مشاهده نشد. رشد و نمو و فعالیت غدد هیپوفارنژیال می‌تواند به‌وسیله شرایط کلنی و هم‌چنین تغییرات فصلی تحت تأثیر قرار گیرد (۱۵). نتایج تحقیقات نشان داده است که سن زنبورها می‌تواند رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال را درطی ۱۲ روز اول پس از تولد تحت تأثیر قرار دهد (۱۶). محققان گزارش کردند که حضور نوزاد لاروی، فعالیت غذادهی به‌نوزادان (۱۷) و حضور زنبورهای بالغ (۱۸) در کندو همراه با مصرف پروتئین باعث تحریک رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال زنبورهای کارگر می‌شود. اندازه غدد هیپوفارنژیال که ارگان‌های اصلی برای ترشح ژله رویال هستند تحت تأثیر سن (۱، ۱۷) و پروتئین خوراک (۵) است و با مقدار ترشح ژله رویال (۵) و وزن سر (۱) همبستگی مثبت دارد. وقتی زنبورهای کارگر پرستار تبدیل به زنبورهای کارگر صحرا رو (زنبورهای مزرعه) می‌شوند حجم غدد هیپوفارنژیال به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش‌یافته و شروع به ترشح آنزیم‌هایی مانند اینورتاز می‌کند، این کاهش معمولاً در سن ۹ و ۱۲ روزگی اتفاق می‌افتد. اوج رشد آسینی در سن ۶ روزگی زنبورها در طی فصل تابستان اتفاق می‌افتد زمانی‌که زنبورهای کارگر مشغول تغذیه لاروها با ژله رویال هستند (۱۷) اما بعد از ۱۵ روزگی رشد آسینی شروع به کاهش می‌کند (۱۲، ۱۳). وقتی‌که حجم آسینی و تعداد وزیکول‌های ترشحی کاهش یافت، هیچ وزیکولی بعد از ۳ هفتگی دیده نمی‌شود. اعتقاد بر این است که غدد هیپوفارنژیال در دو مرحله مجزا فعالیت می‌کند، اولین مرحله تولید ژله رویال برای تغذیه نوزادان و دومین مرحله تولید آنزیم (یعنی پلی‌مورفیسم مربوط به سن) است (۱۰). در فصل زمستان به‌دلیل کاهش دما و کمبود مواد غذایی پرورش نوزاد به

حداقل می‌رسد. در فصل بهار با مساعد شدن شرایط تغذیه‌ای و آب و هوایی و هم‌چنین به‌منظور افزایش جمعیت کلنی تخم‌گذاری ملکه و درنتیجه پرورش نوزادی افزایش می‌یابد. در فصل تابستان نیز با شروع کاهش منابع تغذیه‌ای پرورش نوزاد نسبت به فصل بهار کاهش می‌یابد (۱۴). در فصل زمستان (اسفندماه) غدد هیپوفارنژیال تا ۳ روزگی رشد می‌کند و سپس روند نزولی را طی می‌کند. در این فصل باوجوداین‌که غدد رشد می‌کند ولی تولید ژله‌رویال در اکثر آسینی‌های غدد اتفاق نمی‌افتد. دلیل این امر می‌تواند سطح پرورش نوزادی حداقل و نیاز کم‌تر به تولید ژله رویال جهت تغذیه لاروها در این فصل باشد. در فصل بهار (فروردین‌ماه) تخم‌گذاری ملکه (جهت بالا بردن جمعیت کلنی) و درنتیجه سطح پرورش نوزادی (تخم و لارو) به‌سرعت افزایش می‌یابد. درنتیجه نیاز بیش از اندازه به ژله رویال جهت تغذیه ملکه و لاروها در کلنی‌های زنبور عسل توسط زنبورهای کارگر درک می‌شود. زنبورهای کارگر جهت جبران کمبود ژله رویال در کلنی برخلاف تصور بیش‌تر محققان (۱۹) به‌جای افزایش سطح آسینی تعداد آسینی‌ها را افزایش می‌دهد که یک عکس‌العمل فوق‌العاده برای افزایش تولید ژله رویال می‌باشد. از طرف دیگر چون اندازه سرها با توجه به وزن آن‌ها ثابت مانده است (شکل ۶) افزایش اندازه یک آسینی فضای بیش‌تری را در سر اشغال خواهد کرد به همین دلیل است که اندازه‌های آسینی در فصل بهار در یک سطح (بدون روند رشد صعودی و نزولی) و کوچک باقی‌مانده است (با توجه به شکل ۵). هرچقدر تعداد آسینی بیش‌تر باشد تولید ژله رویال نیز بیش‌تر خواهد بود، و درنهایت کمبود ژله‌رویال در فصل بهار به‌سرعت جبران خواهد شد. در فصل تابستان با کاهش تدریجی در سطح پرورش نوزادی (شکل ۷) و افزایش وظیفه چراگری زنبورهای کارگر، غدد هیپوفارنژیال روند رشد صعودی و نزولی را طی می‌کنند. چون در این فصل نیاز حداکثری به تولید ژله رویال مشابه فصل بهار وجود ندارد بعضی از آسینی‌های غدد به‌جای تولید ژله رویال، وظیفه تولید آنزیم را برعهده می‌گیرند. تفاوت‌های مورفولوژیکی غدد هیپوفارنژیال و آسینی‌های آن در فصول مختلف در شکل‌های ۸، ۹ و ۱۰ نشان داده شده است.

شکل ۸: فصل زمستان (اسفندماه): غدد هیپوفارنژیال با آسینی‌های مشخص و سفیدرنگ که نشان‌دهنده تولید ژله رویال حداقلی است.



شکل ۹: فصل بهار (فروردین‌ماه): غدد هیپوفارنژیال توده‌ای شکل و ژلاتینه شده با آسینی‌های مشخص و زردرنگ که نشان‌دهنده تولید ژله رویال حداکثری می‌باشند.



شکل ۱۰: فصل تابستان (تیرماه): غدد هیپوفارنژیال با آسینی‌های مشخص ولی بعضی از آسینی‌ها فعال (زردرنگ) که تولیدکننده ژله‌رویال هستند و بعضی‌ها درحال تحلیل رفتن (تیره‌رنگ) و احتمالاً وظیفه تولید آنزیم را بر عهده خواهند گرفت.

منابع

1. **Deseyn, J. and Billen, J., 2005.** Age-dependent morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of *Apis mellifera* workers (Hymenoptera, Apidae). Apidologie. 36: 49-57.
2. **Suwannapong, G., Seanbualuang, P. and Wongsiri, S., 2007.** A histochemical study of the hypopharyngeal glands of the dwarf honey bees *Apis andreniformis* and *Apis florea*. Journal of Apicultural Research. 46(4): 260-264.
3. **Michener, C.D., 1974.** The Social Behavior of the Bees. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 242 p.
4. **Maghsoudlou, A., Sadeghi Mahoonak, A., Mohebodini, H. and Toldra, F., 2019.** Royal jelly: chemistry, storage and bioactivities. A reveiew. J. Apic. Sci. 63(1): 1-24.
5. **Hrassnig, N. and K. Crailsheim. 1998.** Adaptation of hypopharyngeal gland development of the brood status of honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. Journal of Insect Physiology. 44: 929-939.
6. **Brouwers, E.V.M., 1982.** Measurement of hypopharyngeal gland activity in the honey bees. J. Apic. Res. 21: 193-198.

7. **Brouwers E.V.M., 1983.** Activation of the hypopharyngeal glands of honey bees in winter. J. Apic. Res. 22: 137-141.
8. **Rutz, W., Gerig, L., Wille, H. and Luscher, M., 1976.** The function of juvenile hormone in adult worker honey bees, *Apis mellifera*. J. Insect Physiol. 22: 1485-1491.
9. **Fluri, P., Luscher, M., Wille, H. and Gerig L., 1982.** Changes in weight of the pharyngeal gland and haemolymph titres of juvenile hormone, protein and vitellogenin in worker honey bees. J. Insect Physiol. 28: 61-68.
10. **Ohashi, K., Sasaki, M., Sasagawa, H., Nakamura, J., Natori, S. and Kubo, T., 2000.** Functional flexibility of the honey bee hypopharyngeal gland in a dequeened colony. Zoological Science. 17(8): 1089-1094.
11. **Knecht, D. and Kaatz, H.H., 1990.** Patterns of larval food production by hypopharyngeal glands in adult worker honey bee. Apidologie. 21: 457-468.
12. **Mohebodini, H., Tahmasbi, Gh., Dastar, B., Jafari ahangari, Y. and Zerehdaran, S., 2016.** The hypopharyngeal glands development in Iranian honey bee workers (*Apis mellifera meda*) fed with different levels of thiamine. Animal Science Journal. 29(110): 203-212. (In Persian)
13. **Mohebodini, H., Maqsoudlou, A., Dastar, B. and Tahmasebi, Gh.H., 2019.** Royal jelly production, amount of royal jelly thiamine and hypopharyngeal glands development in Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) colonies fed with different levels of thiamine. Journal of Animal Research. 31(4): 417-425. (In Persian)
14. **Mohebodini, H., Tahmasebi, G.H., Dastar, B., Jafari. Y. and Zerehdaran, S., 2013.** Effect of dietary thiamine on growth of the iranian honey bee colonies *(apis mellifera meda*) in different seasons. Agriculture and Forestry. 59(3): 119-126.
15. **Maurizio, A., 1954.** Pollen nutrition and life process of honey bee. Landwirtsch Jahrb Schweiz. 68: 115-186.
16. **Alqarni, A.S., 2006.** Influence of some protein diets on the longevity and some physiological conditions of honeybee *Apis mellifera* L. workers. Journal of Biological Sciences. 6: 734-737.
17. **Huang, Z.Y. and Otis, G.W., 1989.** Factors determining hypopharyngeal gland activity of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). Insectes Sociaux. 36: 264-276.
18. **Suzuki, K., 1988.** The development of hypopharyngeal glands in honey bee workers, Bull. Fac. Education, Chiba University. 36: 93-101.
19. **Al-Ghamdi, A.A., Al-Khaibari, A.M. and Omar, M.O., 2011.** Consumption rate of some proteinic diets affecting hypopharyngeal glands development in honey bee workers. Saudi Journal of Biological Sciences. 18: 73-77.