15(1) 237-244, Spring 2023

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

Original Research Paper

The effect of different levels of *Rosa canina* hydroalcoholic extract on the development of hypopharyngeal glands, growth parameters and honey production of honey bee colonies (*Apis mellifera*)

Roghayeh Shahbazzadeh [1], Yousef Jafari Ahangari [1], Hossein Mohebodini [*2], Behrouz Dastar [1], Reza Ashrafi Parchin [3]

[1]Department of Animal Sciences, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2]Department of Animal Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[3]Excir Faravaran Sabalan Company, Science and Technology Park, Ardabil, Iran

Key Words
Colony Performance
Honey Bee
Hypopharyngeal Glands
Production
Rosa canina extract

Abstract

Introduction: Today, for the preservation and survival of honey bee colonies, special attention has been paid to the nutrition of colonies with extracts of medicinal plants. In this experiment, the effect of different levels of *Rosa canina* hydroalcoholic extract on population, queen egg laying, brood rearing, honey production and development of the hypopharyngeal glands of honey bee colonies (*Apis mellifera*) were studied during summer in an apiary in Ardabil province.

Materials & Methods: At the beginning of the experiment, the colonies were homogenized according to the population, food storage and queens with same age. The colonies were fed with control treatment and different concentrations of *Rosa canina* extract (2, 4 and 8% of the extract) during 1 month. Brood rearing and queen egg laying were measured using a grid with 5 cm × 5 cm squares that covered the entire side of a comb. 30 days after feeding the colonies, the population of adult honey bee was measured by frame. To investigate the development of the hypopharyngeal glands, length and width of 10 acini from different parts of the gland were measured with 3, 6, 9, 12 and 15 days using a stereomicroscope and in T Capture software. This experiment was performed in a completely randomized design with four replications and four treatments.

Results: The results showed that treatment with 2% *Rosa canina* extract had a significant effect on brood rearing. The effect of this treatment on queen egg laying, population and honey production was not statistically significant. In addition, the study of growth of hypopharyngeal glands showed that the highest growth of acini size was achieved at the age of 3 days for honey bees fed with 4% *Rosa canina* extract and at 9 and 12 days of age for the colonies fed with 2% *Rosa canina* extract ($P<0.05$).

Conclusion: In general, it can be concluded that the use of 2% of *Rosa canina* hydroalcoholic extract was effective in improving the performance of honey bee colonies. Therefore, it is recommended to beekeepers to use *Rosa canina* hydroalcoholic extract as a nutritional supplement.

* Corresponding Author's email: mohebodini@yahoo.com
Received: 26 January 2022; Reviewed: 25 February 2022; Revised: 27 April 2022; Accepted: 9 June 2022
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.336670.2786

مقاله پژوهشی

تاثیر سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی (*Rosa canina* L.) بر توسعه غدد هیپوفارنژیال، فراسنجه‌های رشد و تولید عسل کلنی‌های زنبورعسل (*Apis mellifera*)

رقیه شهباززاده[۱]، یوسف جعفری‌آهنگری[۱]، حسین محب‌الدینی[۲*]، بهروز دستار[۱]، رضا اشرفی‌پارچین[۳]

[۱] گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[۲] گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
[۳] شرکت دانش بنیان اکسیر فراوران سبلان، پارک علم وفناوری، اردبیل، ایران

کلمات کلیدی

تولید
زنبورعسل
عصاره نسترن کوهی
عملکرد کلنی
غدد هیپوفارنژیال

چکیده

مقدمه: امروزه برای حفظ و بقاء کلنی‌های زنبورعسل، توجه ویژه‌ای به تغذیه کلنی‌ها با عصاره گیاهان دارویی شده‌است. در این آزمایش سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی بر جمعیت، سطح پرورش نوزادان، تخم‌گذاری ملکه، میزان تولید عسل و رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال کلنی‌های زنبورعسل (*Apis mellifera*) در فصل تابستان در زنبورستانی واقع در استان اردبیل مورد پژوهش قرارگرفت.

مواد وروش‌ها: در شروع آزمایش، باتوجه به جمعیت، ذخیره غذایی و ملکه‌های همسن خواهری یکسان‌سازی کلنی‌ها انجام گردید. تغذیه کلنی‌ها با تیمار شاهد و غلظت‌های مختلف عصاره نسترن (دو، چهار و هشت درصد عصاره) در مدت یک‌ماه انجام‌شد. اندازه‌گیری سطح پرورش نوزادان و میزان تخم‌گذاری ملکه با استفاده از شبکه‌ای با مربع‌های ۵ در ۵ سانتی‌متری که تمام قاب را پوشانده بود، اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری میزان جمعیت زنبورهای بالغ، ۳۰ روز بعد از تغذیه کلنی‌ها به‌صورت قابی انجام‌شد. برای بررسی رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال، طول و عرض ۱۰ آسینی از قسمت‌های مختلف غده برای سنین ۳، ٦، ۹، ۱۲ و ۱۵ روزگی در زیر استریومیکروسکوپ و توسط نرم‌افزار (T Capture) اندازه‌گیری شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و چهار تیمار انجام‌گردید.

نتایج: نتایج نشان داد که تیمار ۲ درصد عصاره نسترن کوهی بر سطح پرورش نوزادان تاثیر معنی‌داری داشت. هم‌چنین، تاثیر این تیمار بر تخم‌گذاری ملکه، جمعیت و تولید عسل از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. علاوه بر این، بررسی رشد غدد هیپوفارنژیال نشان داد که بیش‌ترین رشد سطح آسینی در ۳ روزگی برای زنبورهای تغذیه شده با ٤ درصد عصاره نسترن و در ۹ و ۱۲ روزگی مربوط به کلنی‌های تغذیه شده با ۲ درصد عصاره نسترن به‌دست آمد ($P<۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری: به‌طورکلی می‌توان گفت که استفاده از دوز ۲ درصد عصاره نسترن برای بهبود عملکرد کلنی‌های زنبورعسل موثر بوده است. بنابراین، استفاده از عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی به‌عنوان مکمل تغذیه‌ای به زنبوردارها توصیه می‌شود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mohebodini@yahoo.com

تاریخ دریافت: ٦ بهمن ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ٦ اسفند ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۷ اردیبهشت ۱٤۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۹ خرداد ۱٤۰۱
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.336670.2786

مقدمه

نسترن کوهی یا گل سرخ وحشی با نام علمی *Rosa canina* از تیره گل سرخ و از خانواده Rosaceae، جنس *Rosa* و گونه *Canina* است. پراکندگی جغرافیایی این گونه به‌طور متغیر در اروپا، شمال‌غربی آفریقا و غرب آسیاست. این گیاه در ایران نیز که خاک آن غنی از منیزیم و کلسیم است، در مناطق غربی و شمالی دیده می‌شود. میوه نسترن کوهی غنی از ریزمغذی‌های گیاهی ازجمله ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و کاروتنوئیدها، بتاکاروتن، گلوتاتیون، آنتوسیانین و لیکوپن، قندها، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب ضروری، پکتین و انواع ویتامین‌های C، B1، B2، K، E و حاوی مقادیر بالایی از عناصر و مواد معدنی ازجمله فسفر، پتاسیم، کلسیم، روی، آهن، منیزیم، منگنز و سدیم می‌باشد (۱). میوه‌های جنس *Rosa* به‌خاطر فواید گوناگون ازجمله تقویت سیستم ایمنی و درمان اختلالات گوارشی معروف هستند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و بازسازی سلولی ازجمله اثرات گیاه نسترن می‌باشد. امروزه علاوه بر کنه‌ها و بیماری‌های انگلی، تغذیه ناکافی نیز یکی از دلایل تلفات کلنی زنبور عسل می‌باشد. تغذیه کافی و مناسب به افزایش جمعیت در کلنی‌های زنبورعسل منجر می‌گردد (۲). عصاره گیاهان دارویی به‌دلیل خواص ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدقارچی، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌توانند به‌عنوان یک مکمل تغذیه‌ای در کلنی‌های زنبورعسل استفاده شوند. زنبورعسل به‌منظور رشدونمو طبیعی به پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و آب نیاز دارد (۳). ازآنجایی‌که زنبورهای عسل تقریباً تمام نیازهای غذایی خود را از گرده می‌گیرند، کاهش دسترسی به گرده در برخی از فصول سال می‌تواند سلامت و رشد کلنی‌ها را محدود کرده (۴) و منجر به کاهش وزن، کاهش محتوای پروتئین، کاهش طول عمر، رشد ناقص غدد هیپوفارنژیال و درنهایت می‌تواند به رشد لارو و ملکه آسیب برساند (۵). از این‌رو تغذیه زنبورعسل با مکمل‌های گیاهی در مواقع کمبود شهد و گرده ضروری می‌باشد. تغذیه کلنی‌های زنبورعسل با عصاره سیر، سرخارگل، گانودرما و مریم‌گلی منجر به تحریک تخم‌گذاری ملکه و کاهش در تعداد باکتری‌های روده زنبورعسل شده است (۶). نتایج به‌دست‌آمده در بررسی‌های Pohorecka، نشان می‌دهد که افزودن عصاره گزنه به شربت شکر به‌طور قابل‌توجهی وضعیت عمومی زنبورها را بهبود می‌بخشد (۷). Mărghitaş و همکاران، به‌این نتیجه رسیدند که بیش‌ترین سطح رشد نوزادان در گروه‌های تیماری حاوی عصاره‌های گزنه، سیر، پیاز، اکیناسه و آویشن بوده است (۸). Patruica و همکاران، استفاده از عصاره مرزه برای تحریک تخم‌گذاری ملکه و افزایش سطح پرورش نوزادان را تائید کرده‌اند(۹). Al-Ghamdi و همکاران، گزارش کرده‌اند که عصاره بابونه و نعناع موجب افزایش رشد کلنی‌های زنبورعسل شده است (۱۰). با توجه به ارزش‌غذایی و دارویی میوه‌نسترن کوهی و اهمیت تغذیه در رشد و عملکرد کلنی‌های زنبورعسل آزمایش حاضر به‌منظور ارزیابی اثرات سطوح مختلف عصاره نسترن کوهی بر عملکرد کلنی‌های زنبورعسل انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی: برای تهیه عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی، گیاه نسترن از منطقه حیران اردبیل تهیه شده و بعد از تائید جنس و گونه، میوه‌های گیاه در دمای اتاق در سایه‌خشک و با استفاده از مخلوط‌کن به‌صورت مکانیکی پودر شدند. پودر گیاه نسترن در محلول حاوی ۳۰ درصد آب و ۷۰ درصد اتانول خالص، در دمای اتاق به‌مدت۷۲ ساعت خیسانده و با استفاده از دستگاه هم‌زن مخلوط و سپس فیلتر گردید. پس از فیلتراسیون عصاره، حلال با استفاده از تبخیرکننده چرخشی در خلأ تبخیر شده تا عصاره هیدروالکلی خشک شود. سپس عصاره خشک به‌دست‌آمده تازمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس در فریزر نگه‌داری شد (۱۱).

تغذیه کلنی‌ها با عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی: به‌منظور بررسی اثر تغذیه‌ای عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی بر سطح پرورش نوزادان، تخم‌گذاری ملکه، جمعیت، میزان عسل تولیدی و رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال در کلنی‌های زنبورعسل، این آزمایش در زنبورستانی‌واقع در استان‌اردبیل انجام‌شد. عملیات صحرایی در فصل تابستان (تیر و مردادماه) به‌مدت ۶۰ روز (۳۰ روز تغذیه و ۳۰ روز بعد از تغذیه جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌ها) به طول انجامید. در این آزمایش ۱۶ کلنی زنبورعسل که از نظر جمعیت، میزان نوزادان و ذخیره غذایی در شرایط یکسانی قرار داشتند، تیمارهای آزمایشی به‌صورت تصادفی به آن‌ها تخصیص یافت. در این آزمایش برای اجتناب از اثر تفاوت‌های ژنتیکی بین کلنی‌ها از ملکه‌های هم‌سن خواهری استفاده شد. تغذیه کلنی‌ها با عصاره نسترن کوهی به‌صورت یک روز در میان انجام شد. سطح مصرف کلنی‌های زنبورعسل با عصاره نسترن کوهی در جدول ۱ آورده شده است.

ارزیابی فراسنجه‌های رشد و تولید عسل: ارزیابی سطح تخم‌گذاری ملکه و سطح پرورش نوزادان به‌وسیله یک قاب مشبک ۵×۵ سانتی‌متر که مساحت هر مربع ۲۵ سانتی‌مترمربع بوده و در داخل هر مربع ۱۰۰ سلول قرار می‌گرفت با قراردادن قاب خالی روی قاب‌های حاوی تخم و نوزاد تعداد مربع‌ها مشخص‌شده و مساحت آن‌ها محاسبه گردید. ارزیابی سطح تخم‌گذاری در کلنی‌ها ۵ تا ۱۰روز

بعد از تغذیه کلنی‌ها (۱۲) و ارزیابی سطح پرورش‌نوزادان در کلنی‌ها ۲۰ روز بعد از تغذیه کلنی‌ها انجام شد (۱۳). اندازه‌گیری میزان جمعیت زنبورهای بالغ به‌صورت قابی بود بدین‌صورت که پر بودن دو طرف قاب برابر با عدد یک و کم‌تر از آن متناسب با جمعیت روی قاب کسری از عدد یک محسوب شد. ارزیابی جمعیت زنبورهای بالغ در کلنی‌ها ۳۰ روز بعد از تغذیه کلنی‌ها انجام شد (۱۳، ۱۴). تولید عسل در کلنی‌ها از طریق جمع میزان عسل برداشت‌شده و عسل باقی‌مانده در هر کلنی به‌دست آمد. برای اندازه‌گیری میزان عسل تولیدی برداشت شده، ابتدا قاب‌های عسل شماره‌گذاری شده از کندوهای آزمایشی جمع‌آوری و توزین شدند. سپس با استفاده از دستگاه‌عسل‌گیر عسل‌گیری انجام و مجدداً همه قاب‌ها توزین شدند. اختلاف وزن قاب‌ها قبل و بعد از عسل گیری میزان عسل تولیدشده را نشان می‌دهد (۱۵).

جدول ۱: سطوح مصرف عصاره نسترن کوهی در کلنی‌های آزمایش

تیمار	سطح مصرف عصاره نسترن کوهی
شاهد	۱۰۰ میلی‌لیتر آب + ۴۰۰ میلی‌لیتر شربت
دو درصد عصاره نسترن کوهی	دو گرم عصاره در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب + ۴۰۰ میلی‌لیتر شربت
چهار درصد عصاره نسترن کوهی	چهار گرم عصاره در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب + ۴۰۰ میلی‌لیتر شربت
هشت درصد عصاره نسترن کوهی	هشت گرم عصاره در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب + ۴۰۰ میلی‌لیتر شربت

ارزیابی رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال: برای اندازه‌گیری رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال، تعداد ۱۰۰ زنبورعسل کارگر از هر کلنی به هنگام خروج از سلول (زنبورعسل یک‌روزه) با استفاده از ماژیک مخصوص، نشانه‌گذاری شدند (شکل۱). به تعداد ۱۲ عدد زنبورعسل کارگر نشان‌دار شده از هر کلنی (تکرار) برای هر سن (۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ روزگی) انتخاب شدند. سر زنبورهای عسل انتخاب شده جدا شده و غدد هیپوفارنژیال از داخل سرها خارج و در محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد (ایزوتونیک نسبت به همولنف) قرار داده‌شد. طول وعرض ۱۰ آسینی از قسمت‌های مختلف غدد در زیر استریومیکروسکوپ (BM 100PL, BOECO Laboratory, Germany) و توسط نرم‌افزار (T Capture version, 4.1, 2015) برحسب واحد پیکسل اندازه‌گیری شد. تبدیل پیکسل به میلی‌متر با لام مدرج میکرومتری با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر انجام شد و مساحت آسینی‌ها به‌عنوان شاخصی از رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال به‌وسیله رابطه (۱) محاسبه شد (۱۶، ۱۷).

$$\text{Acinal surface} = \frac{a \times b}{2} \times \pi \qquad \text{رابطه(۱)}$$

a: طول، b: عرض، π ۳/۱۴

شکل ۱: نشاندارکردن زنبورهای کارگر تازه متولدشده (راست)، اندازه‌گیری آسینی‌ها با استریومیکروسکوپ (وسط)، غدد هیپوفارنژیال متشکل از آسینی‌ها (چپ)

آنالیز آماری: داده‌های حاصل از مراحل مختلف آزمایش به صورت‌طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و چهار تکرار تجزیه واریانس شدند. مقایسه میانگین بین تیمارها با آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) و رویه GLM استفاده شد (۱۸).

مدل آماری این طرح عبارت است از :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \qquad \text{رابطه (۲)}$$

که در این فرمول Y ij مقدار هر مشاهده، μ میانگین مشاهدات، Ti اثر تیمار آزمایشی، e ij خطای آزمایش می‌باشند.

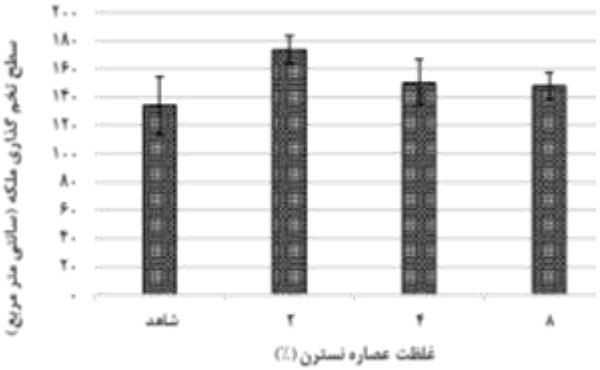
نتایج

اثر تغذیه‌ای عصاره نسترن کوهی بر میزان تخم‌گذاری ملکه: نتایج مقایسه سطح تخم‌گذاری ملکه در شکل ۲ نشان می‌دهد که کلنی‌های تغذیه شده با سطوح ۲، ۴ و ۸ درصد عصاره نسترن در مقایسه با گروه شاهد تأثیر معنی‌داری نداشته است. با این وجود کلنی‌های تغذیه شده با سطح ۲ درصد عصاره نسترن بیش‌ترین تغییرات میانگین در تخم‌گذاری را داشته است.

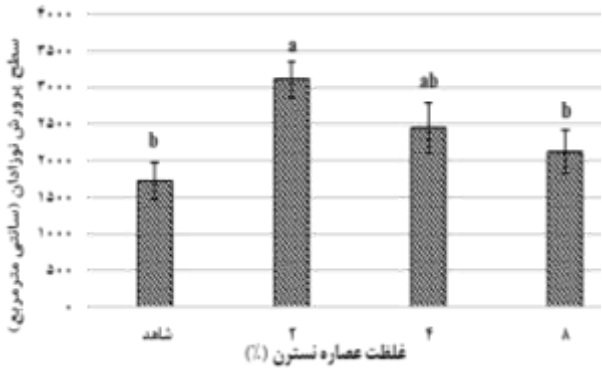
اثر تغذیه‌ای عصاره نسترن کوهی بر سطح پرورش نوزادان: تغییرات سطح پرورش نوزادان (شکل ۳) در کلنی‌های تغذیه شده با تیمار ۲ درصد عصاره نسترن به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ درصد عصاره نسترن افزایش یافت ($P<0/05$). تیمار ۴ درصد عصاره نسترن نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای ۲ و ۸ درصد عصاره اختلاف آماری معنی‌داری نداشت.

اثر تغذیه‌ای عصاره نسترن کوهی بر جمعیت زنبورعسل: میزان جمعیت بالغ در بین کلنی‌های تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره نسترن اختلاف معنی‌داری نداشتند. بیش‌ترین سطح میانگین مربوط به کلنی‌های تغذیه‌شده با ۲ درصد عصاره نسترن بود (شکل ۴).

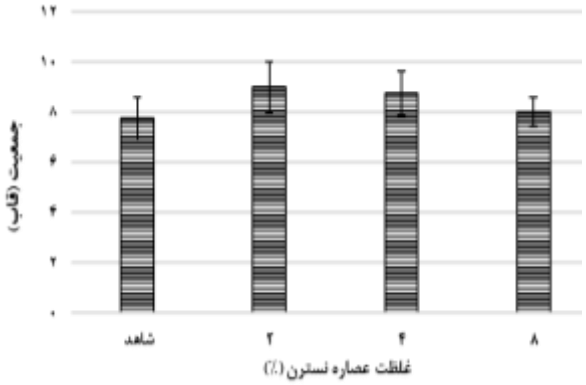
اثر تغذیه‌ای عصاره نسترن کوهی بر میزان تولید عسل: مقایسه میانگین داده‌های مربوط به تولید عسل در کلنی‌های تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره نسترن در شکل ۵ نشان می‌دهد که بین تیمار شاهد و تیمارهای ۲، ۴ و ۸ درصدی عصاره نسترن ازنظر تولید عسل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.



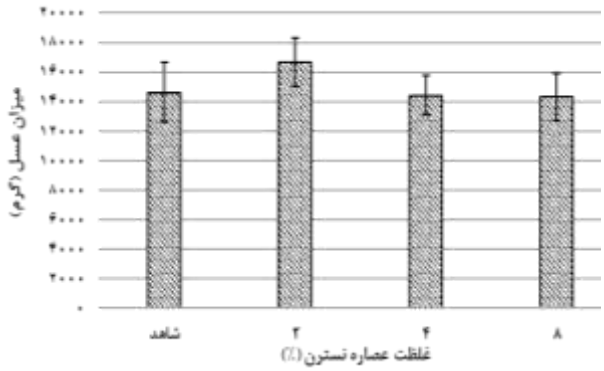
شکل ۲: نمودار مقایسه سطح تخم‌گذاری ملکه در کلنی‌های تغذیه‌شده با غلظت‌های مختلف عصاره نسترن



شکل ۳: نمودار مقایسه سطح پرورش نوزادان در کلنی‌های تغذیه‌شده با غلظت‌های مختلف عصاره نسترن



شکل ۴: نمودار مقایسه میزان جمعیت در کلنی‌های تغذیه‌شده با غلظت‌های مختلف عصاره نسترن



شکل ۵: نمودار مقایسه میزان عسل تولیدی در کلنی‌های تغذیه‌شده با غلظت‌های مختلف عصاره نسترن

اثر تغذیه‌ای عصاره نسترن کوهی بر رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال زنبوران کارگر: میانگین رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال در ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ روزگی زنبورهای کارگر تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره نسترن در جدول ۲ آورده شده است. در سن ۳ روزگی، میزان رشد آسینی در کلنی‌های تغذیه‌شده با ۴ درصد عصاره نسترن اختلاف معنی‌دار با کلنی‌های شاهد و تغذیه شده با ۸ درصد عصاره نسترن داشت. در ۶ روزگی از سن زنبور کارگر رشد آسینی در تیمارهای مختلف عصاره نسترن با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار

نداشتند ولی در تیمارهای ۲ و ۴ درصد عصاره نسبت به تیمار ۸ درصد عصاره نسترن اختلاف معنی‌دار بود. در ۹ روزگی رشد آسینی در کلنی‌های تغذیه‌شده با ۲ درصد عصاره نسترن نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۸ درصد افزایش معنی‌دار داشتند. در ۱۲ روزگی بیش‌ترین رشد آسینی مربوط به تیمار ۲ درصد می‌باشد. رشد آسینی در ۱۵ روزگی از سن زنبورهای کارگر در کلنی‌های تغذیه شده با ۸ درصد عصاره نسترن نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای ۲ و ۴ درصد عصاره نسترن کاهش معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). اختلافات آماری بین زمان‌های مختلف برای هرکدام از تیمارها به‌صورت جداگانه در جدول ۲ آورده شده است. رشد آسینی‌ها در زمان‌های مختلف برای تیمار شاهد در ۱۵ روزگی افزایش معنی‌دار داشته است. برای تیمارهای ۲ و ۴ درصد عصاره نسترن بیش‌ترین رشد آسینی در سن ۹ روزگی بوده که در مقایسه با روزهای ۳ و ۶ از سن زنبوران کارگر اختلاف معنی‌دار است. در کلنی‌های تغذیه‌شده با ۸ درصد عصاره نسترن اوج رشد آسینی‌ها در ۱۲ روزگی بود که اختلاف معنی‌دار با زمان‌های ۳، ۶ و ۱۵روزگی داشت.

جدول۲: مقایسه میانگین سطح آسینی غدد هیپوفارنژیال (میلی‌متر مربع) در زنبورهای کارگر تغذیه‌شده با عصاره نسترن در سنین مختلف (Mean ± SE)

تیمارهای آزمایشی	۳ روزگی	۶ روزگی	۹روزگی	۱۲ روزگی	۱۵ روزگی
شاهد	۰/۰۲۷۳ ±۰/۰۰۴۳ ^{c,D}	۰/۰۳۹۸ ±۰/۰۰۵۶^{ab,CD}	۰/۰۵۲۲ ± ۰/۰۰۵۴ ^{bc,BC}	۰/۰۵۹۶ ±۰/۰۰۴۳^{b,AB}	۰/۰۶۹۲± ۰/۰۰۳۳^{a,A}
دو درصد عصاره نسترن	۰/۰۴۱۸±۰/۰۰۳۱^{ab,B}	۰/۰۴۲۷ ±۰/۰۰۱۶^{a,B}	۰/۰۷۶۳ ±۰/۰۱۲۲^{a,A}	۰/۰۷۲۲ ±۰/۰۰۲۹^{a,A}	۰/۰۶۸۲ ± ۰/۰۰۲۴^{a,A}
چهار درصد عصاره نسترن	۰/۰۴۳۲±۰/۰۰۳۳^{a,B}	۰/۰۴۳۳ ±۰/۰۰۱۸^{a,B}	۰/۰۶۷۸ ± ۰/۰۰۳۱^{ab,A}	۰/۰۶۴۳ ±۰/۰۰۵۲ ^{ab,A}	۰/۰۶۳۲ ± ۰/۰۰۳۹^{a,A}
هشت درصد عصاره نسترن	۰/۰۳۱۶ ±۰/۰۰۳۳^{bc,B}	۰/۰۳۱۸ ±۰/۰۰۲۳^{b,B}	۰/۰۴۴۹ ± ۰/۰۰۲۳ ^{c,AB}	۰/۰۵۶۸ ±۰/۰۰۱۸ ^{b,A}	۰/۰۳۹۶ ± ۰/۰۰۸۷^{b,B}

میانگین‌هایی با حروف مشابه در هر ستون از لحاظ آماری اختلافی با یکدیگر ندارند (c,b,a برای ستون)، میانگین‌هایی با حروف مشابه در هر ردیف از لحاظ آماری اختلافی با یکدیگر ندارند (D,C,B,A برای ردیف)

بحث

شهد و گرده مورد استفاده زنبورعسل حاوی پروتئین، کربوهیدرات، لیپید، مواد معدنی و ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی (ویتامین‌های C، E و بتاکاروتن، به‌عنوان پرو ویتامین A)، ویتامین‌های B کمپلکس و ویتامین D است (۱۹). در تغذیه زنبورعسل تأمین این مواد مغذی ضروری بوده، به‌خصوص در مواقعی که از شربت شکر که تقریباً فاقد ویتامین می‌باشد استفاده می‌شود. نسترن کوهی غنی از ریزمغذی‌های گیاهی و انواع ویتامین‌های C، B_1، B_2، K، E و مواد معدنی است. تحقیقات گسترده‌ای در مورد اثربخشی استفاده از ریزمغذی‌ها انجام شده است به‌ویژه افزودن ویتامین‌ها به جیره غذایی زنبورعسل که تأثیر مثبتی در رشد و عملکرد کلنی داشته است. گزارش‌های Jovanovic و همکاران، حاکی از آن است که مکمل گیاهی حاوی ویتامین B کمپلکس افزایش معنی‌داری در میزان جمعیت زنبورهای بالغ، سطح پرورش نوزادان و ذخیره عسل داشته است (۲۰). نتایج بررسی‌های Ahmadi و همکاران، نشان می‌دهد که افزودن ویتامین C به تغذیهٔ بهاره سبب افزایش تخم‌گذاری ملکه می‌گردد (۲۱). تغذیه کلنی‌ها با ویتامین E (در سطح ۳۰ پی‌پی‌ام در هر لیتر شربت) سبب افزایش میزان تخم‌گذاری، رشد جمعیت و افزایش میزان عسل و زمستان گذرانی می‌شود. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف عصاره نسترن در میزان تخم‌گذاری ملکه (شکل ۲) و میزان جمعیت (شکل ۴) تأثیر معنی‌داری نداشته است. این نتایج با نتایج Jovanovic و همکاران (۲۰) و Ahmadi و همکاران (۲۱) مغایرت دارد. گزارش‌ها نشان می‌دهد که مصرف ویتامین C (۲۲، ۲۳) تأثیر مثبتی بر پرورش نوزادان در زنبورهای عسل دارد. بررسی‌های Majewska و Jasinski، تأثیر مثبت ویتامین E در افزایش عملکرد کلنی و افزایش سطح پرورش نوزادان را نشان می‌دهد (۲۴). بررسی‌های Mohebodini و همکاران، نشان داد که اضافه کردن سطوح مختلف تیامین (B_1) به شربت شکر می‌تواند سطح پرورش نوزادان و رشد کلنی‌ها را تحریک کرده و تولید عسل را در مقایسه با کلنی‌های شاهد بیش‌تر کند (۱۴). در این تحقیق مشاهده شد که کلنی‌های تغذیه‌شده با ۲ درصد عصاره نسترن در بهبود سطح نوزادان تأثیر معنی‌دار داشته است (شکل ۳). این نتیجه در سطح پرورش نوزادان با تحقیقات Zahra و Talal (۲۲)، Andi و Ahmadi (۲۳)، Jovanovic و همکاران (۲۰)، Majewska& Jasinski (۲۴) و Mohebodini و همکاران (۱۴) هم‌خوانی دارد. نتایج تولید عسل (شکل ۵) نشان می‌دهد که بین تیمار شاهد و غلظت‌های مختلف عصاره نسترن از نظر تولید عسل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. این نتایج با تحقیقات Mohebodini و همکاران (۱۴) و Jovanovic و همکاران (۲۰) مغایر می‌باشد. در یک زنبورستان علاوه بر نژاد و سن ملکه، تولید عسل در هر کندو به مقدار زیادی تابع جمعیت کندو می‌باشد. بر این مبنا غیرمعنی‌دار بودن تولید عسل با غیرمعنی‌دار بودن میزان جمعیت می‌تواند مرتبط باشد. هم‌چنین در این تحقیق تأثیر عصاره هیدروالکلی نسترن کوهی بر رشد و نمو غدد هیپوفارنژیال بررسی شد. هیپوفارنژیال کارگران پرستار برای تغذیه لاروهای جوان و ملکه پروتئین‌هایی ترشح می‌کنند که منجر به رشد سریع لاروها می‌شود (۲). در حالت ایده‌آل، تغذیه مکمل‌های پروتئینی باعث تحریک

غدد هیپوفارنژیال زنبورهای کارگر برای تولید ژله رویال می‌شود (۳). اندازه آسینی با فعالیت غدد هیپوفارنژیال و ترشح آن همبستگی مثبت دارد. آسینی بزرگ‌تر در زنبورهای پرستار به‌دلیل تولید ژل رویال برای لاروها به فعالیت بیش‌تر غدد هیپوفارنژیال مربوط می‌شود. بااین‌حال، کاهش اندازه آسینی در زنبورهای کارگر صحرارو منجر به کاهش فعالیت غدد هیپوفارنژیال می‌شود (۲۵). بررسی‌های Salama، نشان می‌دهد که بالاترین میانگین رشد غده هیپوفارنژیال در کلنی‌های تغذیه‌شده با گیاهان اسطوخودس و ریحان بوده است (۲۶). Cheng و همکاران، گزارش کرده‌اند که تغذیه ویتامین E به‌میزان ۴۷ درصد وزن غدد هیپوفارنژیال زنبوران کارگر را افزایش می‌دهد (۲۷). Zahra و Talal نشان دادند که ویتامین C (۲۵۰ میلی‌گرم در ۱/۵ لیتر شربت شکر) باعث رشد غدد هیپوفارنژیال زنبورهای کارگر می‌شود (۲۲). تحقیقات Mohebodini و همکاران، بیانگر این است که سطح آسینی غدد هیپوفارنژیال در فصل تابستان در زنبورهای تغذیه‌شده با سطوح پایین تیامین (۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) بیش‌تر بوده و اوج رشد غدد در سنین ۶ یا ۹ روزگی اتفاق افتاده است (۱۷). Zheng و همکاران، تائید کردند که سطح آسینی هیپوفارنژیال با افزایش سن زنبورها افزایش‌یافته و روند تغییرات سطح آسینی هیپوفارنژیال در آسینی زنبورهای کارگر در ۶ و ۱۲ روزگی یکسان بوده است (۲۸). نتایج مربوط به رشد آسینی غدد هیپوفارنژیال زنبورهای کارگر در جدول ۲ آورده شده است. در ۳ روزگی، میزان رشد آسینی در تیمار ۴ درصد عصاره نسترن در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشت. در ۶ روزگی ، تیمارهای ۲ و ۴ درصد عصاره نسبت به تیمار ۸ درصد عصاره نسترن افزایش معنی‌دار در سطح آسینی داشته است. در ۹ و ۱۲ روزگی بیش‌ترین رشد آسینی مربوط به تیمار ۲ درصد عصاره نسترن می‌باشد. این نتایج با نتایج تحقیقات Cheng و همکاران (۲۷) و Zahra و Talal (۲۲) مطابقت دارد. زیرا گزارش‌های آن‌ها حاکی از آن است که افزودن ویتامین‌ها تأثیر مثبتی بر رشد آسینی غدد هیپوفارنژیال داشته است و از آن‌جایی‌که ویتامین‌ها به عنوان کوفاکتور آنزیمی در متابولیسم برخی از اسیدهای آمینه نقش دارد، می‌تواند در بهبود ذخایر پروتئینی بدن و تکامل غدد هیپوفارنژیال نیز دخالت داشته (۲۱). رشد آسینی‌ها در زمان‌های مختلف برای تیمار شاهد در ۱۵ روزگی افزایش معنی‌دار داشته است که با نتایج تحقیقات Salama (۲۶)؛ Al-Ghamdi و همکاران (۱۶) و Atallah و همکاران (۲۹) مطابقت دارد. آن‌ها گزارش کردند که سطح آسینی با افزایش سن افزایش یافته و در سن ۱۲و ۱۵ روزگی به اوج رشد می‌رسد. البته این نتیجه با گزارش Zheng و همکاران (۲۸) هم‌خوانی ندارد. زیرا آن‌ها بیان کرده‌اند که روند تغییرات سطح آسینی هیپوفارنژیال در ۶ و ۱۲ روزگی یکسان بوده است.

برای تیمارهای ۲و ۴ درصد عصاره نسترن اوج رشد آسینی در ۹ روزگی بوده که این نتیجه با نتایج تحقیقات Mohebodini و همکاران (۱۷)؛ Hrassnigg و Crailsheim (۲۵) و Feng و همکاران (۳۰) هم‌خوانی داشته، زیرا گزارش این محققان نشان می‌دهد که سطح آسینی در ۶ و ۹ روزگی افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. نتایج مطالعه پیش رو نشان می‌دهد که افزایش اندازه آسینی ممکن است به‌دلیل ریزمغذی‌های موجود در عصاره هیدرو الکلی نسترن کوهی باشد. به‌طورکلی در این تحقیق عصاره هیدرو الکلی نسترن کوهی بر سطح پرورش نوزادان و توسعه غدد هیپوفارنژیال تأثیر معنی‌داری داشت ولی در تخم‌گذاری، جمعیت و تولید عسل از لحاظ آماری این تأثیر معنی‌دار نبود. با گزارش‌هایی که در ارتباط با تأثیر مثبت ریزمغذی‌ها بر روی عملکرد کلنی‌های زنبورعسل صورت گرفته است انتظار بر این بود که ریزمغذی‌های موجود در عصاره نسترن کوهی نیز تأثیر معنی‌داری بر تخم‌گذاری، جمعیت و تولید عسل بگذارد. این تفاوت در نتایج احتمالاً ناشی از نوع ریزمغذی استفاده شده (شیمیایی یا گیاهی بودن)، روش عصاره‌گیری، دوز استفاده‌شده از ریزمغذی‌ها و عصاره، نوع محلول استفاده‌شده برای عصاره‌گیری باشد. Almeida-Muradian و همکاران، در ارزیابی محتویات گرده تازه و پس از فرآیند دهیدراسیون، به این نتیجه رسیدند که ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی (ویتامین C، E و بتاکاروتن و هم‌چنین پرو ویتامین A) پس از فرآیند دهیدراسیون گرده‌ها از بین می‌رود (۳۱). لازم به‌ذکر است باتوجه به رطوبت بالای ترکیب گرده، فرآیند دهیدراسیون برای جلوگیری از تخمیر سریع و خراب شدن ترکیبات ضروری است (۱۹). پس دلیل دیگر برای تفاوت در نتایج این است که طبق گزارش‌های Almeida-Muradian و همکاران (۳۱) احتمال داده می‌شود که در روند عصاره‌گیری، برخی از ریزمغذی‌ها و ویتامین‌های موجود در نسترن کوهی از بین رفته باشد. با جمع‌بندی مطالب فوق به این نتیجه می‌توان رسید که ترکیبات و ریزمغذی‌های گرده و نسترن کوهی تا حدودی مشابه بوده و در صورت عدم دسترسی به شهد و گرده می‌توان از عصاره نسترن کوهی به‌عنوان مکمل تغذیه برای حفظ عملکرد و رشد کلنی استفاده کرد.

منابع

1. **Demir, F. and Özcan, M., 2001.** Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina L.*) fruits grown wild in Turkey. Journal of food engineering. 47(4): 333-336.

2. **Mattila, H. and Otis, G., 2007.** Manipulating pollen supply in honey bee colonies during the fall does not affect the

15. **Zarin, F., 2000.** Investigating the level of homozygosity of sexual alleles and its correlation with honey production in honey bee colonies of Tehran, Isfahan, Central, and Qazvin provinces. Master's thesis of honey bee, Imam Khomeini Higher Education Center. (In Persian)

16. **Al-Ghamdi, A.A., Al-Khaibari, A.M. and Omar, M.O., 2011.** Consumption rate of some proteinic diets affecting hypopharyngeal glands development in honeybee workers. Saudi Journal of Biological Sciences. 18: 73-77.

17. M**ohebodini, 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)

18. **SAS Institute INC. 2013.** SAS STATS users Guide. Version 9.1.3, SAS Institute Inc. Cary, N.C

19. **Melo, I.L.P. and Almeida-Muradian, L.B., 2010.** Stability of antioxidants vitamins in bee pollen samples. Quim. Nova. 33(3): 514-518.

20. **Jovanovic, N.M., Glavinic, U., Delic, B., Vejnovic, B., Aleksic, N., Mladjan, V. and Stanimirovic, Z., 2021.** Plant-based supplement containing B-complex vitamins can improve bee health and increase colony performance. Preventive Veterinary Medicine. 190: 105322.

21. **Ahmadi, A., Nehzati-paghale, Gh., Amiri Zandi, M. and Abbasi, S., 2014.** Effect of different levels of vitamin C on queen laying rate and body protein percentage of worker in honey bee colonies (*Apis mellifera* L.). Iranian Journal of Animal Science. 45(1): 37-42. (In Persian)

22. **Zahra, A. and Talal, M., 2008.** Impact of pollen supplements and vitamins on the development of hypopharyngeal glands and brood area in honey bees. Journal of Apicultural Science. 52: 5-12.

23. **Andi, M.A. and Ahmadi, A.Y., 2014.** Influence of vitamin C in sugar syrup on brood area, colony population, body weight and protein in honey bees. International Journal of Biosciences. 4(6): 32-36.

24. **Majewska, B.M. and Jasinski, Z., 2005.** Effect of early supplemental feeding honeybee colonies with a substitute of bee bread made of drone brood candy, glucose and honey on colony strencth. Journal of Apicultural Science. 41: 1-49.

25. **Hrassnigg, N. and Crailsheim, K., 1998.** The influence of brood on the pollen consumption of worker bees (*Apis mellifera* L.). Journal of Insect Physiology. 44: 393-404.

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

27. **Cheng, C., Zhang, X., Shen, G. and Liu, A., 1993.** The effect of feeding syrup with vitamin E on the development of the pharyngeal gland of the worker bee. 33rd performance of winter bees. The Canadian Entomologist. 139(4): 554-563.

3. **De Grandi-Hoffman, G., Chen, Y., Huang, E. and 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(9): 1184-1191.

4. **Corby-Harris, V. and Snyder, L.A., 2018.** Measuring Hypopharyngeal Gland Acinus Size in Honey Bee (*Apis mellifera*) Workers. J. Vis. Exp. 139: e58261.

5. **Corby-Harris, V., Meador, C.A., Snyder, L.A., Schwan, M.R., Maes, P., Jones, B.M., Walton, A. and Anderson, K.E., 2015.** Transcriptional, translational, and physiological signatures of undernourished honey bees (*Apis mellifera*) suggest a role for hormonal factors in hypopharyngeal gland degradation. J. Insect Physiol. 85: 65-75.

6. **Patruica, S., Mot, D. and Popovici, D., 2017.** The effect of using medicinal plant extracts upon the health of bee colonies. Romanian Biotechnological Letters. 6(22): 13182-13185.

7. **Pohorecka, K., 2004.** Effect of standardized plant herb extracts on general condition of the honey bee. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy. 48(4): 415-419.

8. **Marghitaş, L.A., Bobiş, O. and Tofalvi, M., 2010.** The effect of Plant supplements on the development of artificially weaken bee families. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies. 43(1): 402-406.

9. **Patruica, S., Dunea, I.B., Jivan, A., Jivan, A. and Stroe, A., 2011.** Research on the Influence of Apiary Biostimulators on Bee Families Development in spring. Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies. 44(2): 267-270.

10. **Al-Ghamdi, A.A., Abou -Shaara, H.F. and Ansari, M.J., 2021.** Effects of sugar feeding supplemented with three plant extracts on some parameters of honey bee colonies. Saudi Journal of Biological Sciences. 28(4): 2076-2082.

11. **Zhang, Q.W., Lin, LG. and Ye, W.C., 2018.** Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. Chinese Medicine. 13: 20 p.

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

13. **DeGrandi-Hoffmanh, G., Wardell, G., Ahumada Segura, F., Rinderer, T., Danka, R. and Pettis, J., 2008.** Comparisons of pollen substitute diets for honey bees: consumption rates by colonies and effects on brood and adult populations. Journal of Apicultural Research and Bee World. 47: 265-270.

14. **Mohebodini, H., Tahmasbi, Gh.H., Dastar, B., Jafari Ahangari, Y. and Zerehdaran, S., 2013.** Effect of dietary thiamin on growth of the Iranian honey bee colonies COLONIES *(Apis mellifera meda)* in different seasons. Agriculture and Forestry. 59: 119-126.

International Apicultural Congress of Apimondia, 20-26 September 1993.Beijing, China.

28. **Zheng, B., Wu, Z. and & 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 (Online). 14: 191.

29. **Atallah, M.A., Mofttah, E.A., Eahbah, H.M., Mohamed, A.A. and Eyssa, N.A., 1995.** Effect of protein feeding on the development of hypopharyngeal gland of two races of honeybee and the chemical composition of royal jelly. 6th Nat. Conf. of Pest. & Dis. of Veg. &Fruits in Egypt. 88-100.

30. **Feng, M., Fang, Y. and Li, J., 2009.** Proteomic analysis of honeybee worker (*Apis mellifera*) hypopharyngeal gland development. BMC Genomics. 10: 645-657.

31. **Almeida-Muradian, L.B., Pamplona, L.C., Coimbra, S. and Barth, O.M., 2005.** Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. Journal of Food Composition and Analysis. Journal of Food Composition and Analysis. 18: 105-111.