اثر دو سطح مکمل خوراکی بر کمیت و کیفیت عسل و ژله سلطنتی تولیدی با تکنیک گرافتینگ

سارا شادمهر[1]، محمد چمنی[1*]، ناصر تاج آبادی[2]، علی اصغر صادقی[1] و علیرضا صیداوی[3]

۱- گروه علوم دامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- گروه زنبور عسل، پژوهشکده علوم دامی ایران، سازمان آموزش و ترویج تحقیقات کشاورزی، کرج، ایران.

۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثر دو سطح مکمل خوراکی رویالین بر کمیت و کیفیت ژله سلطنتی تولیدی با تکنیک گرافتینگ بر روی زنبورهای عسل (*Apis mellifera meda*)، انجام شد. برای این منظور، ۱۵ کلنی زنبور عسل یکسان از لحاظ ملکه خواهری، جمعیت و ذخایر غذایی، در سه تیمار و چهار تکرار تقسیم شد. تیمار اول به عنوان شاهد، دریافت کننده ۵۰۰ میلی‌لیتر شربت به نسبت یک به یک، تیمار دوم، دریافت کننده ۱۰ گرم مکمل خوراکی در ۵۰۰ میلی‌لیتر شربت و تیمار سوم، دریافت کننده ۲۰ گرم مکمل خوراکی در ۵۰۰ میلی‌لیتر شربت بود. هر ۱۵ روز یکبار میزان جمعیت، تخم، لارو و شفیره اندازه‌گیری شد. همچنین میزان عسل، ژله سلطنتی تولیدی، ذخیره گرده، برخی فراسنجه‌های کیفی ژله سلطنتی نظیر ۱۰ هیدروکسی-۲-دسنوئیک اسید و اسیدآمینه ها، برخی فراسنجه‌های کیفی عسل نظیر هیدروکسی متیل فورفورال، قندها، فعالیت دیاستازی، پرولین، رطوبت نسبی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مکمل خوراکی، میزان تولید ژله سلطنتی، مقدار پروتئین موجود در ژله سلطنتی، میزان جمعیت، تخم، لارو و شفیره را در تیمار دوم به طور معنی‌داری افزایش داد. مقدار عسل تولیدی در تیمار دوم نسبت به تیمار اول تفاوت معنی‌داری داشت. در هیچ یک از تیمارها اثر معنی‌داری در غلظت هیدروکسی-۲-دسنوئیک اسید، میزان ذخیره گرده، و برخی از فراسنجه‌ها مشاهده نشد. فعالیت دیاستازی و پرولین در تیمار دوم نسبت به تیمار اول (شاهد) افزایش یافت. به طور کلی استفاده از ۱۰ گرم مکمل خوراکی (تیمار دوم)، سبب بهبود عملکرد در کلنی‌ها شد.

واژه‌های کلیدی: ژله سلطنتی، زنبور عسل، تکنیک گرافتینگ، مکمل خوراکی رویالین، *Apis mellifera meda*

*مسئول مکاتبات: m.chamani@srbiau.ac.ir

۱-مقدمه

ژله سلطنتی، ماده‌ای خامه‌ای است که توسط غدد هیپوفارنژیال در سر زنبورهای پرستار ۳ تا ۱۲ روزه ترشح و برای تغذیه لاروهای یک تا سه روزه (کارگر، نر و ملکه) و ملکه زنبور عسل (تمام مدت زندگی)، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۲). این ماده، بو و طعم تندی داشته و به دلیل وجود دانه‌های حل نشده با اندازه‌های مختلف همگن نیست و دارای قوام ژلاتینی است (۴۰). همچنین تا حدی در آب محلول، بسیار اسیدی (pH: ۳/۴-۴) با چگالی ۱/۱ گرم در میلی‌لیتر است. مقدار pH ژله سلطنتی از ۳/۶ تا ۴/۲ متغیر است (۳۴). طعم ترش، چسبناکی و بوی فنل از دیگر ویژگی ژله سلطنتی است (۲۲). زنبور عسل برای تولید ژله سلطنتی نیازمند منابع حاوی پروتئین، کربوهیدرات، ویتامین، اسیدهای چرب، مواد معدنی و اسیدهای آمینه است، از اینرو، میزان تولید ژله سلطنتی با فراوانی شهد و گرده با ارزش غذایی بالا رابطه مستقیم دارد، بنابراین برای اطمینان از پایداری تولید و افزایش بهره‌وری در شرایط اقلیمی مختلف، استفاده از مکمل‌های تغذیه‌ای، تاثیرگذار خواهد بود. مکمل‌های غذایی مورد استفاده توسط زنبورداران بسته به هدف زنبوردار، شرایط مدیریت، محیط و سودآوری هر کلنی متفاوت است. با این‌حال، با وجود طیف گسترده‌ی مکمل‌های خوراکی تجاری، دانش اولیه کمی در مورد نیازهای تغذیه‌ای زنبورها به ویژه برای لیپیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی وجود دارد (۱۳). تحقیقات نشان داده است استفاده از مکمل‌های تغذیه‌ای در کلنی‌های زنبورعسل آفریقایی، عاملی مهمی در افزایش تولید ژله سلطنتی بوده است (۵۳) که درنتیجه سبب سود بیشتر برای زنبوردار می‌شود (۲۱). در جامعه زنبورداری، حرکت به سوی استفاده و ساخت مکمل‌های خوراکی به دلیل شرایط آب و هوایی و عدم حصول نتایج مطلوب در زمان استفاده از شربت شکر بر روی تولیدات زنبور عسل امری ضروری و اجتناب ناپذیر است (۱). این درحالی است که مکمل‌های خوراکی بسته به نوع ترکیبات آن تاثیرات متفاوتی می‌تواند بر روی کلنی و تولید زنبورعسل داشته باشد؛ به طور مثال استفاده از نشاسته در سطوح مختلف (۳۰٪، ۲۰٪، ۱۰٪) اختلاف معنی‌داری در فراسنجه‌های مربوط به پرورش نوزاد و جمعیت کلنی از خود نشان داده است که بیشترین عملکرد مربوط به سطح ۳۰٪ بوده است (۴). تحقیق دیگر نشان داده است تاثیر تیامین بر توسعه غدد هیپوفارنژیال و بهبود عملکرد کلنی‌های زنبورعسل شده است (۳). اهمیت بالای دارویی و غذایی ژله سلطنتی در تغذیه لاروها و ملکه زنبور عسل و نقش آن در تولید مثل و افزایش طول عمر، سبب گردیده تا زنبورداران به منظور سودآوری بهتر، بدنبال راهکاری برای افزایش آن باشند. به همین منظور استفاده از مکمل اختصاصی دارای رژیم غذایی مورد نیاز زنبور عسل در زمان تولید ژله سلطنتی، طراحی و برخی از فراسنجه‌های تولیدی و عملکردی کلنی و تولیدات زنبور عسل، مورد ارزیابی قرار گرفت. در این پژوهش، این مکمل دارای مواد

مغذی ازجمله پروتئین‌ها، لیپیدها، مواد معدنی و ویتامین‌ها بوده و با هدف افزایش و بهبود کمیت و کیفیت فراسنجه‌های تولیدی و عملکردی به ویژه ژله سلطنتی با توجه به شرایط اقلیمی نامطلوب، مورد آزمایش قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی کندوها

این پژوهش به‌منظور بررسی اثر مکمل خوراکی بر کمیت و کیفیت عسل و ژله سلطنتی تولیدی با تکنیک گرافتینگ، در دو فاز میدانی (زنبورستان) و فاز آزمایشگاهی (آزمایشگاه هورتاش اصفهان)، انجام شد. ۱۵ کندو در یک طرح کاملا تصادفی با ۳ تیمار و ۵ تکرار (در هر تکرار یک کندوی لانگستروت) به مدت ۹۰ روز مورد آزمایش قرار گرفت. برای به حداقل رساندن تفاوت‌های ژنتیکی بین تیمارهای آزمایشی، خواهران ملکه از ۵۰ سلول ملکه از کندوی آرام و مولد به روش تکثیر مصنوعی (پیوند از لاروهای کمتر از ۲۴ ساعت) در اوایل فصل بهار تهیه و به کندوچه‌های پرورش‌دهنده ملکه، منتقل و پس از جفت‌گیری طبیعی و اطمینان از تخم‌ریزی و سلامت ملکه به صورت فنوتیپی به ۱۵ کلنی دارای جمعیت مناسب، معرفی شد. قبل از شروع آزمایش، کندوها از نظر جمعیت زنبورهای بالغ، تعداد نوزادان و ذخایر گرده و عسل همسان شدند. مکمل خوراکی رویالین ساخته شده توسط "شرکت دامدار برتر" به صورت آزمایشی در این پژوهش استفاده شد. مشخصات تیمارهای آزمایشی در جدول ۱ مشخص شده است.

جدول ۱- مشخصات تیمارهای آزمایشی

	مشخصات تیمارها
تیمار ۱	(کنترل)۵۰۰ میلی‌لیتر شربت به نسبت ۱:۱ آب و شکر بدون مکمل خوراکی
تیمار۲	۵۰۰ میلی‌لیتر شربت حاوی ۱۰ گرم مکمل خوراکی
تیمار۳	۵۰۰ میلی‌لیتر شربت حاوی ۲۰ گرم مکمل‌خوراکی

۲-۲- ارزیابی رشد جمعیت کلنی

رشد جمعیت و میزان تخم، لارو و شفیره هر ۱۵ روز یکبار (چهار مرتبه) بوسیله قاب تقسیم شده به مربع‌های ۵ در ۵ سانتی‌متر به وسیله سیم، برآورد شد.

۲-۳- ارزیابی کمیت محصول

کمیت عسل تولید شده توسط هر کلنی اواسط مرداد ماه اندازه‌گیری شد. عسل برداشت شده با وزن کردن هر شانه عسل قبل و بعد از استخراج عسل اندازه‌گیری شد. عسل باقیمانده در هر کندو با قرار دادن شبکه‌ای روی هر شانه و تخمین مساحت، اندازه‌گیری شد. هر دسی‌متر مربع از قاب عسل حاوی ۳۰۴ گرم عسل در نظر گرفته شد. مجموع عسل برداشت شده و عسل باقیمانده در هر کلنی ثبت گردید. همچنین ژل سلطنتی هر سه روز یکبار اندازه‌گیری شد.

۲-٤- ارزیابی کیفیت محصول

کیفیت عسل و ژل سلطنتی تولید شده توسط هر کلنی هم نیز اواسط مرداد ماه اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی کیفیت عسل و ژل سلطنتی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها به شرح زیر اندازه‌گیری شد (۵۶):

۲-٤-۱- رطوبت نسبی

میزان رطوبت نمونه‌های عسل توسط رفراکتومتر (OPTICA-2WAJ) در دمای ۲۰ درجه سلسیوس و با محاسبه ضریب تصحیح رطوبت از AOAC ۱۹۹۰ خوانده شد و رطوبت ژل رویال با آون اندازه گیری شد (۵۴).

۲-٤-۲- اندازه گیری pH

pH عسل وژل سلطنتی توسط دستگاه pH متر (AZ-86505) اندازه‌گیری شد (۴۷).

۲-٤-۳- درصد خاکستر

پس از سوزاندن ۵ گرم از هر نمونه عسل در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس در کوره الکتریکی تا زمانی که جرم ثابت شود، اندازه-گیری شد (۴۰).

۲-٤-٤- فعالیت دیاستاز

از محلول بافر و محلول نشاسته ۱٪ ، استفاده شد. آنزیم هیدرولیز شده از یک گرم عسل نمونه پس از یک ساعت اندازه‌گیری شد(۵۰).

۲-٤-۵- اسیدیته آزاد

اسیدیته آزاد در محلول آبی ۲۰ درصد بوسیله خنثی کردن اسیدیته عسل با محلول استاندارد هیدروکسید سدیم اندازه‌گیری شد (۵۵).

۲-٤-٦- پروتئین

مقدار پروتئین با استفاده از روش برادفورد اندازه‌گیری شد (۱۴).

۲-٤-۷- هیدروکسی متیل فورفورال

پس از فیلتر کردن نمونه‌ها با استفاده از محلول کاریز ۱ و ۲ و افزودن بی‌سولفیت سدیم اندازه‌گیری شد. این نمونه در یک کووت مربع یک سانتی‌متری قرار داده شده و یک اسپکتروفتومتر برای اندازه‌گیری جذب در ۲۸۴ نانومتر و ۳۳۶ نانومتر استفاده شد (۵۱).

۲-٤-۸- هدایت الکتریکی

هدایت الکتریکی با استفاده از هدایت سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد (Jenway-4510) (۴۷).

۲-٤-۹- جامدات نامحلول

۲۰ گرم عسل از هر نمونه در آب ۸۰ درجه سلسیوس رقیق شده و محلول در محیط خلاء فیلتر گردید. برای اطمینان از عدم وجود قند چند قطره محلول فلوروگلوسین ۱٪ و اسید سولفوریک غلیظ به قسمتی از باقیمانده فیلتر اضافه شد. وجود مه سفید نشان دهنده وجود قند بوده و در این صورت برای اطمینان از اینکه نمونه بدون قند است، با آب در دمای ۸۰ درجه سلسیوس شسته شد (۵۱).

قندها: کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با استفاده از سیستم Agilent 1100 HPLC (Agilent)، برای اندازه‌گیری قندها استفاده شد (۷).

۲-٤-۱۰- آمینو اسید

برای اندازه گیری محتوای آمینو اسید ژل سلطنتی از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با استفاده از سیستم Agilent 1100 HPLC (Agilent) استفاده شد (۷).

۲-٤-۱۱- اندازه‌گیری ۱۰ هیدروکسی-۲-دیسنوئیک اسید

به منظور اندازه‌گیری ۱۰ هیدروکسی-۲-دیسنوئیک اسید از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با استفاده از سیستم (Agilent 1100 HPLC (Agilent فاز معکوس، استفاده شد. جدا سازی با ایجاد یک گرادیان بین راه حل‌های A و B انجام شد. آب دیونیزه حاوی ۰/۵ درصد تری فلورواستیک اسید و استونیتریل خالص حاوی ۰/۵ درصد تری فلورواستیک اسید به ترتیب به عنوان محلول A و محلول B و شیب صفر تا ۶۰ درصد محلول B برای ۶۰ دقیقه برای جداسازی ۱۰- هیدروکسی-۲- دیسنوئیک اسید انتخاب شد. خروجی ستون در طول موج ۲۱۵ نانومتر مشاهده شد. زمان ماندگاری با استفاده از استاندارد ۱۰-هیدروکسی-۲-دیسنوئیک اسید خریداری شده از شرکت سیگما تعیین شد و کسری آن به صورت دستی جمع‌آوری شد و غلظت پس از لیوفیلیزاسیون و تایید خالص سازی بوسیله SDS-PAGE تعیین شد.

۲-۵-آنالیز آماری

داده‌های به دست آمده با استفاده از رویه مدل خطی و نرم افزار SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای

دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. مدل ریاضی طرح $Yij = \mu + Ti + eij$ بود. Yij: مقدار مشاهده شده برای یک متغیر مشخص، μ: میانگین کل، Ti: اثر سطح jام تیمار T و eij خطای تصادفی ij امین گزارش بود.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-رشد جمعیت کلنی

نتایج اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان تخم، لارو و شفیره زنبوران در جدول ۲ نشان داده شده است. همان طور که از جدول مشخص است، سطوح مختلف مکمل خوراکی در تیمار دوم در نمونه برداری اول، اثر معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد ($P<۰/۰۵$). افزایش پروتئین لاشه می‌تواند از سوء تغذیه در کلنی جلوگیری کند، مرگ و میر را کاهش دهد و به حفظ جمعیت کلنی کمک کند. افزایش پروتئین لاشه همچنین باعث افزایش سرعت تولید مثل و رشد نوزاد می‌شود (۱۵). طی تحقیقات بعمل آمده توسط وکیلی و همکاران (۴)، بیان شد که اضافه نمودن ۳۰ درصد نشاسته در نیم لیتر شربت یک به یک می‌تواند سبب افزایش تخم‌ریزی ملکه و لارو در کندو گردد. به طور مشابه، بسیاری از مطالعات نشان دادند که شفیره کارگری کلنی‌های تغذیه شده با رژیم خوراکی غنی شده با جایگزین گرده رشد بهتری نسبت به سایر تیمارها داشتند (۳۰). پژوهش‌ها نشان داد که استفاده از عصاره جلبک‌ها به لحاظ وجود منابع پروتئینی سبب افزایش درصد تخم‌ریزی ملکه می‌شود؛ طی تحقیقی محققان دریافتند که افزودن جلبک کلرلا به شربت شکر سبب افزایش ۶/۴ درصدی تخم‌ریزی ملکه در مدت زمان ۲۴ ساعت نسبت به گروه شاهد می‌شود (۲۰). همچنین افزودن جلبک اسپیرولینا به شربت شکر سبب افزایش ۴۴/۷ درصدی تخم‌ریزی ملکه در مدت زمان ۲۴ ساعت نسبت به گروه شاهد از خود نشان داد (۵۳). تحقیقات نشان داده است که همبستگی مثبتی میان تخم‌ریزی ملکه و تولید لارو و شفیره وجود دارد؛ استفاده از خمیر شیرین حاوی اسپیرولینا در کلنی سبب رشد بیشتر لارو و شفیره و جمعیت داخل کندو شد به طوری که ۱/۵ درصد افزایش در تولید لارو، ۸ درصد افزایش در تولید شفیره و ۶/۵ درصد افزایش در تولید جمعیت گزارش شد (۱۱). در مطالعه دیگر نشان داده شد که کلنی‌های تغذیه شده با خمیر شیرین حاوی کلرلا، سبب افزایش ۴۴/۴ درصدی در سطح نوزادان نسبت به کلنی‌های تغذیه شده با شربت حاوی کلرلا بودند (۳۱). در پژوهشی به وضوح پتانسیل سودمندی مکمل پروتئین بهاره در کلنی‌های زنبور عسل در مناطق معتدل، به ویژه در محیط‌های فاقد گرده، نشان داده شد و تنها پس از ۲ هفته، نسبت به کلنی‌های بدون مکمل، مقدار بیشتری شفیره مشاهده شد. این اثر در جمعیت زنبورهای صحرارو تداوم یافت و هم سود اقتصادی مستقیم (افزایش هزینه‌های گرده افشانی) برای زنبور داران فراهم کرد و هم به طور بالقوه باعث افزایش بقای زمستانی از طریق افزایش منابع غذایی ذخیره شده و افزایش جمعیت شد (۲۸).

جدول ۲- اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان تخم، لارو و شفیره(سلول)

	نمونه برداری اول	نمونه برداری دوم	نمونه برداری سوم	کل دوره
تیمار ۱	۵/۴۰۰±۰/۴۰۰[b]	۴/۲۰۰±۰/۵۸۳	۳/۸۰۰±۰/۲۵۵	۹/۴۶۷±۰/۴۰۱
تیمار۲	۶/۶۰۰±۰/۲۴۵[a]	۵/۷۰۰±۰/۵۳۹	۴/۶۰۰±۰/۴۳۰	۹/۸۶۷±۰/۴۱۳
تیمار۳	۵/۵۰۰±۰/۱۵۸[b]	۵/۴۰۰±۰/۱۸۷	۳/۵۰۰±۰/۴۴۷	۹/۵۳۳±۰/۴۵۶

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح پنج درصد هستند.

تیمار ۱ (شاهد): دریافت کننده شربت شکر (۱:۱)، تیمار ۲: شاهد + ۱۰ گرم مکمل خوراکی، تیمار ۳: شاهد + ۲۰ گرم مکمل خوراکی.

نتایج اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر جمعیت زنبوران (قاب) در جدول ۳ نشان داده شده است. بر اساس جدول، سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان جمعیت زنبوران (قاب) در تیمار یک در کل دوره اول، اثر معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۳- اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر جمعیت زنبوران (قاب)

	نمونه برداری اول	نمونه برداری دوم	نمونه برداری سوم	کل دوره
تیمار ۱	۱۰/۸۰۰±۰/۴۹۰	۹/۲۰۰±۰/۳۷۴	۸/۴۰۰±۰/۷۴۸	۴/۴۶۷±۰/۲۹۵[b]
تیمار۲	۱۰/۸۰۰±۰/۵۸۳	۹/۰۰۰±۰/۷۰۷	۹/۸۰۰±۷۳۵	۵/۶۳۳±۰/۳۱۴[a]
تیمار۳	۱۰/۴۰۰±۰/۴۰۰	۹/۴۰۰±۰/۸۲۷	۸/۸۰۰±۰/۹۷۰	۴/۸۰۰±۰/۲۹۲[ab]

میانگین در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح پنج درصد هستند.

تیمار ۱ (شاهد): دریافت کننده شربت شکر(۱:۱)، تیمار ۲: شاهد + ۱۰ گرم مکمل خوراکی، تیمار ۳: شاهد + ۲۰ گرم مکمل خوراکی.

برای تعیین تأثیر تغذیه بر روی جمعیت‌های *Apis mellifera* و ارزش اقتصادی تغذیه کلنی‌ها برای تولید بهاره زنبورهای بسته-بندی، یک آزمایش تغذیه‌ای برای ارزیابی تأثیر زمان تغذیه و رفتارهای تغذیه‌ای بر روی جمعیت *A. mellifera* انجام شد. در این مطالعه توصیه شد که زنبورداران *A. mellifera* زنبورهای عسل خود را با شربت قند و مکمل گرده یا جایگزین تغذیه کنند تا فعالیت پرورش کلنی‌ها را در مناطقی که منابع غذایی طبیعی زنبورها ناکافی است، حفظ نمایند (۲۵). همچنین یک تغذیه مناسب برای ایجاد یک جمعیت بهینه زنبور عسل به منظور افزایش تولید عسل، گرده افشانی محصولات، تولید ملکه و زنبورها توصیه می-شود (۲۶). تمام اثرات مفید عصاره *A. brasiliensis* بر روی پستانداران و یا سلول‌های پستانداران در شرایط آزمایشگاهی با

هدف ارتقای سلامت انسان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون کروسکال- والیس، تفاوت معنی‌داری را در بقای زنبورهای عسل در گروه‌های تیمار شده با عصاره *A. brasiliensis* و شاهد در هر دو حالت تغذیه (شربت و آب نبات) نشان نداد. این نتایج نشان داد که تمام دوزهای آزمایش شده برای زنبورها در آزمایش در مزرعه، ایمن بوده و ممکن است برای زنبورها اعمال شود. بیشترین تعداد فنجان‌های پرورش، بدون تلفات زنبورعسل در گروه تغذیه شده با عصاره *A. brasiliensis* با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز در هر دو حالت تغذیه با شربت (۵۰ درصد) و آب نبات (۶۲/۵۰ درصد) بودند؛ بنابراین، این دوز در آزمایش مزرعه استفاده شد. نتایج آزمون Mann-Whitney U تفاوت معنی‌داری را در بقای زنبورهای عسل بین گروه‌های تغذیه شده با شربت یا آب نبات نشان نداد. به این معنی که بقا به حالت تغذیه بستگی ندارد. با این‌حال در شرایط آزمایشگاهی تغذیه با شربت بهتر از آب نبات بود زیرا همیشه به طور کامل مصرف می‌شد. در مقابل آب نبات به سرعت خشک شد و سفت شد بنابراین زنبورها قادر به دریافت دوز کامل ماده آزمایشی در هنگام مخلوط شدن با آب نبات نبودند؛ بنابراین، تنها حالت تغذیه شربت در آزمایش مزرعه، اعمال شد. همچنین نتایج نشان داد که تغذیه زنبورها با جیره خوراکی حاوی ۴۵٪ فیدبی + ۱۵٪ مخمر +۳۰ ٪ شکر و ۱۰٪ عسل به لحاظ خوشخوراکی سبب افزایش جمعیت نوزادان و بالغین در کلنی می‌شود (۲). نتایج نشان داد که استفاده از مکمل‌های حاوی گرده تاثیر بسزایی در تولید جمعیت بهاره دارد (۳۶). کارتر و همکاران (۹) گزارش دادند که زنبوران عسل تغذیه شده با جیره‌های پر پروتئین رشد جمعیت بیشتری داشتند و سلامت کلنی‌ها را بهبود می‌بخشیدند. همچنین دریافتند که استفاده از آرد سویا و پودر شیر بدون چربی به عنوان منابع پروتئین در رژیم غذایی برای جایگزینی گرده، منجر به بهبود رشد نوزادان و جمعیت کلنی‌ها می‌شود. در مطالعه دیگری، جایگزینی گرده و مکمل گرده با پودر کنجاله سویا، پودر گلوتن ذرت و پودر کنجاله کنجد باعث افزایش جمعیت کلنی، نرخ تولید مثل و تعداد نوزادان شد (۱۵). همچنین در پژوهشی که به‌طور آزمایشگاهی توسط ایران‌دوست و عبادی (۲۹) انجام شد نشان داد که نرخ مرگ و میر زنبوران در زمان استفاده از جایگزین گرده و مکمل‌ها تفاوت معنی‌داری در مقایسه با جایگزین سویا و عدس داشته است به طوری‌که زنبورهای استفاده کننده از جایگزین سویا و عدس دارای نرخ مرگ و میر ۵۰ درصد پس از ۹ تا ۱۱ روز بود و تیمارهای استفاده کننده از گرده خام طول عمر بیشتری از خود نشان داد اما تفاوت معنی‌داری در مقایسه با دیگر تیمارهای استفاده کننده از مکمل‌های پروتئینی حاوی گرده، مکمل گلوتن گندم و کنجاله سویا از خود نشان نداد. همچنین پژوهشگران بیان کردند که منابع پروتئینی حاوی گرده برای تغذیه زنبورعسل می‌تواند تأثیر بیشتری بر طول عمر زنبورهای عسل در شرایط انکوباتور داشته باشد. طی گزارش وکیلی و همکاران (۴) بیان شد که اضافه نمودن ۳۰ درصد نشاسته در نیم لیتر شربت یک به یک می‌تواند سبب افزایش جمعیت در کندو گردد.

در پژوهشی نشان داده شده که افزودن یک ریز جلبک به نام کلرلا محتوای پروتئین خوراک زنبور عسل را در مقایسه با دانه گرده تجاری کلزا به طور قابل توجهی افزایش داد که نه تنها ارزش غذایی بالاتر از نظر محتوی پروتئینی داشت بلکه سلامت زنبور عسل را بهبود بخشید که توسط پارامترهای متعددی از جمله میزان مصرف، طول عمر، رشد غدد، تشکیل ماهیچه‌ها و بیان ژن نشان داده شد (۲۴). یافته‌های مشابهی وجود دارد که نشان می‌دهد زنبورهای *A. mellifera*، خوراک‌های مصنوعی حاوی پروتئین نظیر آردهای غنی‌شده با سویا، گندم، ذرت به عنوان جایگزین گرده را نسبت به گرده‌های موجود طبیعی بیشتر مصرف می‌کنند (۳۶)؛ به عنوان مثال، مخلوط آرد سویا + عسل + آب، جایگزین گرده به نحو مطلوبی نسبت به تیمار شاهد، سبب ایجاد جمعیت سالم در کلنی شد. پژوهش‌ها نشان داده است که افزودن عصاره جلبک اسپیرولینا به عنوان منبع پروتئینی در خمیر شیرین، سبب افزایش ۸/۷ درصدی جمعیت نسبت به گروه شاهد می‌شود (۱۰). همچنین طی تحقیقی، افزودن جلبک *کلرلا ولگاریس* در شربت شکر، افزایش ۱۰/۷ درصدی جمعیت نسبت به گروه شاهد از خود نشان داد (۲۰).

۳-۲- کمیت محصول

نتایج اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان تولید عسل، در جدول ۴ نشان داده شده است، همان طور که در جدول مشخص است سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان تولید عسل در تیمار دوم تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد از خود نشان داد ($P<۰/۰۵$).

جدول ٤- اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان عسل تولیدی(کیلوگرم)

	عسل تولیدی
تیمار۱	٦/١٢٠±١/٣٠٤^{b}
تیمار۲	٧/٢١٠±١/٣٤٢^{a}
تیمار۳	٦/٢٨٠±١/٣٣٧^{b}

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح پنج درصد هستند.
تیمار ۱ (شاهد): دریافت کننده شربت شکر(۱:۱)، تیمار ۲: شاهد + ۱۰ گرم مکمل خوراکی، تیمار ۳: شاهد + ۲۰ گرم مکمل خوراکی.

نتایج نشان داد که استفاده از مکمل‌های حاوی گرده در شرایط نامساعد آب و هوایی بر تولید عسل تاثیر مثبتی دارد (۳۶) که این نتایج با نتایج تحقیقات دیگر مطابقت دارد و نشان می‌دهد عرضه مکمل‌های پروتئینی تأثیر قابل توجهی بر رشد جمعیت و در نهایت افزایش تولید عسل دارد (۵۵). این پژوهشگران اظهار داشتند که تغذیه مناسب کلنی‌ها باعث تحریک رشد نوزادان و رشد جمعیت می‌شود که می‌تواند منجر به استفاده مؤثرتر از شهد و گرده و در نتیجه تولید عسل بیشتر شود. محقق دیگری اظهار داشته است که کمبود گرده و مواد پروتئینی منجر به رشد غیرطبیعی، کاهش عمر متوسط در زنبوران صحرارو و در نهایت کاهش تولید عسل می‌شود (۷). تغذیه برای سلامت و طول عمر زنبورها بسیار مهم است. کلنی‌هایی که با گرده یا مکمل‌های خوراکی تغذیه می‌شوند زودتر شروع به پرورش نوزادان می‌نمایند و کارگران بیشتری را پرورش می‌دهند و این باعث افزایش تولید عسل می‌شود (۴۹). همچنین ایران‌دوست و عبادی (۲۹) گزارش دادند که زنبوران عسل استفاده از مکمل‌های پروتئینی حاوی گرده را به دلیل مواد جاذب درون گرده به سایر مواد خوراکی ترجیح می‌دهند که این افزایش میل به مصرف سبب ماندگاری زنبورعسل و فعالیت بیشتر آن می‌شود. پژوهشگران بیان نمودند، بافت نرم مکمل‌های حاوی گرده سبب حفظ رطوبت شده و سبب می‌شود تا زنبوران عسل از آن مصرف نمایند و نوزادان بیشتری پرورش داده و در نهایت عسل بیشتری تولید نمایند. هربرت و همکاران (۲۷) طی پژوهشی اعلام نمودند که یکی از عوامل مهم در تولید عسل تخم‌گذاری ملکه بوده و رابطه مستقیمی با آن دارد چرا که پرورش لارو به میزان ذخیره خوراکی کلنی بستگی خواهد داشت. اشمیتز و همکاران (۴۳) با مقایسه کیک‌های حاوی آرد سویا و مخمر نان تفاوت چندانی در میزان تخم‌گذاری و تولید عسل مشاهده ننمودند. همچنین صفاری و همکاران (۴۴) اظهار داشتند که مکمل‌های حاوی کنجاله سویا نسبت به سایر مکمل‌ها، به دلیل خشک و سفت شدن زود هنگام، کمتر توسط زنبوران مورد مصرف قرار می‌گیرد. همچنین استفاده از مکمل‌های حاوی پودر ماهی علیرغم بافت مناسب و قوای نسبی به دلیل بوی زننده و خاکستر بالا مورد استقبال توسط زنبوران قرار نگرفت (۲۷). استنهایر و همکاران (۵۰) بیان نمودند که مکمل‌های پروتئینی حاوی گرده تأثیر بسزایی بر تخم‌ریزی ملکه داشته و می‌تواند سبب افزایش جمعیت و در نهایت تولید عسل شود. همچنین داول (۱۹) بیان نمود که هرچه ترکیب خوراک پروتئینی زنبور عسل به ترکیب گرده نزدیک‌تر باشد، زنبور عسل تمایل بیشتری برای مصرف از خود نشان داده و در نتیجه تولید عسل متفاوتی خواهد داشت. بنابراین می‌توان عنوان نمود که تولید عسل بستگی زیادی به میزان جمعیت زنبوران صحرارو در کلنی دارد. در پژوهش دلاپلان و همکاران (۱۶) نشان داده شد که افزایش فعالیت زنبوران صحرارو در کلنی‌های تغذیه شده با رژیم خوراکی غنی شده با سویا بیشتر از شاهد بود. بسیاری از محققان دریافتند که رژیم‌های خوراکی غنی شده، انرژی بیشتری نسبت به گرده‌ها به همراه دارند (۵۵) درنتیجه ارائه جیره‌های جایگزین گرده طبیعی می‌تواند سبب

افزایش فعالیت ملکه به منظور تخم‌ریزی و در نهایت افزایش جمعیت و تولید عسل بیشتر شود (۳۲). اسلام و همکاران (۳۰) با تغذیه کلنی‌های زنبورعسل با خوراک‌های غنی شده جایگزین گرده به عملکرد عسل قابل توجهی اشاره کردند. گزارش‌های زیادی وجود دارد که نتایج ما را تائید می‌کند که پس از ارائه مکمل‌های خوراکی به کلنی، تعداد قاب بیشتری در کلنی نسبت به تیمار شاهد، مصرف شد و در نهایت منجر به حداکثر تولید عسل گردید (۴۶). محققین دریافتند که استفاده از جلبک‌ها سبب افزایش تولید عسل در کندو می‌شود؛ به نحوی‌که در پژوهشی، کلنی تغذیه‌شده با خمیر شیرین، ۳۸/۷ درصد افزایش تولید عسل نسبت به گروه شاهد از خود نشان داد (۱۱، ۱۷).

نتایج اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر تولید ژله سلطنتی (گرم) در جدول ۵ نشان داده شده است. سطوح مختلف مکمل خوراکی، بر تولید ژله سلطنتی در تیمار دوم در کل دوره اثر معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد ($P<۰/۰۵$) که با نتایج دیگر پژوهش‌ها مطابقت دارد. طی پژوهش دیگر نشان داده شده است که تأمین به موقع پروتئین و چربی رشد زنبور را تسریع می‌کند، غدد حلقی زنبورهای کارگر را فعال می‌کند و غذای بیشتری برای رشد و نمو لارو فراهم می‌کند که به تدریج جمعیت کلنی را افزایش می‌دهد (۵). در یک مطالعه به منظور ارزیابی مکمل‌ها برای کلنی‌های زنبور عسل آفریقایی جهت تولید ژله سلطنتی و اثرات آن بر پذیرش لارو پیوند زده شده، مقدار ژله سلطنتی رسوب شده در هر سلول و بررسی ارتباط احتمالی این متغیرها با مکمل‌های ارائه شده، انجام شد (۲۱). مکمل‌ها با استفاده از دو منبع پروتئینی (پروتئین سویا و مخمر جدا شده)، دو منبع انرژی (قند و عسل) و دو منبع چربی (بذر کتان و روغن نخل) تولید شدند. همه مکمل‌ها نسبت مساوی از عسل، شکر، گرده، لسیتین و هسته ویتامین در ترکیب خود داشتند. در این مطالعه، زنبورهای عسل بدون ارائه هیچ گزارشی مبنی بر رد مکمل‌ها، شش مکمل را بدون هیچگونه مشکلی پذیرفته بودند. تحقیقات نشان می‌دهد که مکمل‌های مختلفی برای تأمین نیازهای خوراکی تولید کنندگان ژله سلطنتی تولید شده است (۳۵). محققین با پژوهش بر روی پنج نوع مکمل، گزارش دادند که زنبورهای عسل به اندازه کافی شربت، گرده و جایگزین شکر مصرف می‌نمایند، اما سویا و کینوا مصرف نمی‌نمایند. این نویسندگان این تغییرات را به هضم و اندازه ذرات بین مکمل‌های مورد مطالعه نسبت دادند. نتایج آزماش در تحقیق انجام شده توسط آن‌ها، نشان داد که برداشت، ذخیره و مصرف مکمل‌ها توسط زنبورهای عسل در همه تیمارها مشابه بود، آن‌ها این احتمال را دادند که این مکمل‌ها، به دلیل افزودن گرده و عسل باعث تحریک بیشتر برای تغذیه شدند و مخلوط‌های مکمل‌ها دارای طعمی مناسب برای زنبورها گردید. طبق بیانات محققین در ترکیب همه مکمل‌ها، اسیدهای آمینه ضروری مورد نیاز زنبورهای عسل و در نهایت، سطح پروتئین نزدیک به گرده گل وجود دارد (۱۲). در مطالعه‌ای که توسط آن‌ها انجام شد برای درصد پذیرش کامل لاروهای پیوندی با مکملی که حاوی

مخلوطی از روغن کتان به علاوه روغن پالم و پروتئین سویا جدا شده به علاوه مخمر آبجو بود، اختلافاتی وجود داشت. به نظر می-رسد که نوع پروتئین، میزان آن و همچنین اندازه ذرات خوراک مصرفی تاثیر بسزایی در پذیرش آن توسط زنبورهای عسل داشته باشد و این پژوهش نشان داد که میزان ۱۰ گرم مکمل خوراکی حاوی پروتئین با توجه به قطر ذرات و نوع ترکیبات آن تاثیر بسزایی در تولید ژله سلطنتی داشته است.

جدول ۵- اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر تولید ژله سلطنتی (گرم)

	استحصال اول	استحصال دوم	استحصال سوم	استحصال چهارم	استحصال پنجم	استحصال ششم
تیمار ۱	۰/۲۵۰±۰/۲۵۰	۱/۵۰۰±۱/۵۰۰	۰/۲۵۰±۰/۲۵۰[b]	۲/۵۶۲±۱/۸۶۶	۳/۵۶۳±۱/۲۶۸	۳/۵۰۰±۱/۸۳۷
تیمار ۲	۰/۰۰۰±۱/۵۸۱	۳/۰۰۰±۱/۷۸۰	٤/۲۵۰±۱/٦۵۲[a]	٦/۷۵۰±۱/۲۵۰	٤/۰۰۰±۱/٤۷۲	۷/۰۰۰±۱/۰۸۰
تیمار ۳	۳/۲۵۰±۱/۸۸۷	۳/۲۵۰±۲/٦۲٦	۰/٦۲۵±۰/٤۷۳[b]	٤/۰۰۰±۱/۸۷۱	۲/٦۸۸±۱/٤۰۵	۲/۷۵۰±۱/۷۰۲
	استحصال هفتم	**استحصال هشتم**	**استحصال نهم**	**استحصال دهم**	**کل دوره**	
تیمار ۱	۲/۵۰۰±۱/۸۹۳	۰/٤۳۸±۰/٤۳۸[b]	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	۱/٤۵٦±۰/٤۰۲ [b]	
تیمار ۲	٦/۲۵۰±۱/۳۱۵	۲/۸۱۳±۱/۰۹٦[a]	۱/۵٦۳±۰/۹۳۸	۰/۵٦۳±۰/۳۵۹	٤/۲۱۹±۰/٤۹۹[a]	
تیمار ۳	۳/۰۰۰±۱/۹۱۵	۰/۰٦۳±۰/۰٦۳[b]	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	۰/۰۰۰±۰/۰۰۰	۱/۹٦۳±۰/٤۳۸[b]	

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح پنج درصد هستند.

تیمار ۱ (شاهد): دریافت کننده شربت شکر(۱:۱)، تیمار ۲: شاهد + ۱۰ گرم مکمل خوراکی، تیمار ۳: شاهد + ۲۰ گرم مکمل خوراکی.

۳-۳- کیفیت محصول

نتایج اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر رطوبت نسبی، pH، اسیدیته آزاد فعالیت‌های دیاستازی، هدایت الکتریکی عسل، هیدروکسی متیل فورفورال، پرولین، خاکستر و مواد جامد غیرمحلول در جدول ۶ نشان داده شده است. فعالیت دیاستازی و پرولین در عسل در تیمار دوم تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد ($P<۰/۰۵$).

جدول ٦ : اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر برخی از فراسنجه های کیفیت عسل

	رطوبت نسبی	PH	اسیدیته آزاد	فعالیت دیاستازی	هدایت الکتریکی
تیمار ۱	۱۵/۷۳۳±۰/۱۷۶	۳/۸٦۷±۰/۰۰۹	۲۵/۰۰۰±۰/۵۷۷	۱٤/۵۸۷±۰/٦۵۷^{b}	۰/۵۱۷±۰/۰٤۱
تیمار۲	۱۵/۳٦۷±۰/۲۷۳	٤/۱۰۳±۰/۱۰۵	۲۷/٦٦۷±۲/٤۰٤	۱٦/۷۵۳±۰/۳۵۲^{a}	۰/٤٦٤±۰/۰۲۵
تیمار۳	۱۵/۵٦٤±۰/۲۸٦	٤/۰۰۹±۰/۰۱۵	۲٦/٤٤۳±۱/۲٦۷	۱۵/۲٤۱±۰/٦۰۲^{b}	۰/٤۸۷±۰/۰۲٦
	HMF	پرولین	خاکستر	**مواد جامد غیر محلول**	
تیمار۱	۹/۹۲۷±۲/۷۳۱	٤۷۹/۷۲۷±۵٦/۳۷۸^{b}	۰/۱۹۲±۰/۰۲٤۷	۰/۰۳۳±۰/۰۰۲	
تیمار۲	۵/۰۱۷±۰/۷۵۳	٦۵۳/۸۳۰±۲۳/۸۵٦^{a}	۰/۲۲٦±۰/۰۳۵۱	۰/۰۲۷±۰/۰۰۲	
تیمار۳	۸/۸٤٦ ± ۲/۷۲۱	۵٤۰/٦۹۳ ± ۲۵/۰۸۰^{b}	۰/۲۱۳±۰/۰۱۹	۰/۰۳۵ ± ۰/۰۰۰	

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح پنج درصد هستند.

تیمار ۱ (شاهد): دریافت کننده شربت شکر(۱:۱)، تیمار ۲: شاهد + ۱۰ گرم مکمل خوراکی، تیمار ۳: شاهد + ۲۰ گرم مکمل خوراکی.

تحقیقات ما نشان داد که فعالیت آنزیم دیاستاز در عسل زنبورهای تغذیه‌شده با مکمل خوراکی نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت. دیاستاز یک آنزیم طبیعی در عسل بوده و فعالیت آن به عنوان یک عامل کیفی محسوب می‌شود که نشان دهنده طبیعی بودن و تازگی عسل است. این آنزیم همانند آنزیم‌های دیگر ترشحات غددی هستند که شهد جمع‌آوری شده را به عسل تبدیل می‌کنند (۲۳). زنبوران عسل شهد جمع‌آوری شده را با ترشحات غدد بزاقی و هیپوفارنکس خود مخلوط می‌کنند. شهد بین زنبوران عسل در کندو منتقل و قبل ذخیره در سلول، ترشحات بیشتری به آن اضافه می‌شود که تغذیه و وضعیت فیزیولوژیکی زنبوران عسل می‌تواند این ترشحات را افزایش دهد (۳۶). ازآنجایی‌که زنبورها از پروتئین‌ها، چربی‌ها، مواد معدنی و ویتامین‌ها در ساختار ماهیچه‌ای و رشد غدد خود استفاده می‌کنند، در دسترس بودن این مواد می‌تواند رشد فیزیولوژیکی زنبوران عسل را تسریع کند. زنبورها با تسریع در رشد خود زودتر به سن تغذیه می‌رسند و غدد آن‌ها ترشحات گوارشی بیشتری تولید می‌کنند و درنتیجه تولید آنزیم‌ها افزایش می‌یابد (۱۸). به دلیل افزایش فعالیت دیاستاز در عسل تولیدی، این احتمال وجود دارد که مکمل خوراکی مورد استفاده در آزمایش حاضر باعث رشد سریع و افزایش توانایی زنبوران عسل در تولید آنزیم‌های گوارشی شده باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان پرولین موجود در عسل تولید شده توسط زنبورهای عسل با استفاده از مکمل در تیمار دوم به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. ترکیب عسل تا حد زیادی به نوع گیاه، آب و هوا و شرایط محیطی و البته مهارت زنبوردار بستگی دارد. تحقیقات و شرایط اقلیمی متأثر بر جهان نشان می‌دهد اگرچه گرده مطلوب‌ترین و جذاب‌ترین منبع اسید آمینه برای زنبورهای عسل است، اما به دلیل گرانی، عدم دسترسی مدام و همچنین خطر وجود پاتوژن‌ها و آفت کش‌ها، استفاده از جایگزین و مکمل گرده، مزایای زیادی به همراه دارد (۴۶). بسیاری از منابع پروتئینی به عنوان پایه رژیم‌های خوراکی در جایگزین

گرده از جمله مواد مختلف مخمر، محصولات تخم مرغ و لبنی، آرد چاودار، آرد جو دوسر، آرد بادام زمینی، آرد ذرت، آرد نخود، کازئین، کنجاله دانه پنبه، کنجاله بادام زمینی، محصولات سویا، گوشت و محصولات ماهی، پودر سیب زمینی و سیب زمینی شیرین، کنجاله گوار و اخیراً جلبک اسپیرولینا در مکمل‌ها و جایگزین‌های گرده استفاده شده و سبب افزایش بهره‌وری کلنی و سلامت زنبور عسل نسبت به گروه شاهد شده است (۱۵). به طور کلی می‌توان عنوان نمود که برای ساخت عسل ۲۶ نوع اسید آمینه مورد نیاز است که می‌بایست توسط زنبور عسل ساخته شود که ۵۰ تا ۸۵ درصد از کل اسید آمینه‌های عسل، پرولین است که از شهد، گرده و ترشحات بزاقی زنبور عسل ساخته می‌شود؛ و طبق استاندارد ۱۱۱۴۵ برآورد می‌گردد و مقدار آن در عسل‌های روشن ۲۰۰ تا ۳۵۰ اعلام شده است. به طور کلی هر چه مدت زمان فرآوری عسل توسط زنبور عسل بیشتر باشد میزان پرولین در عسل افزایش می‌یابد. خواص فیزیکی و شیمیایی عسل به فصل برداشت عسل، روش تولید، شرایط فرآوری و همچنین منشأ شهد و گرده گل بستگی دارد (۳۹). براساس مطالعات انجام‌شده پروتئین عسل از گرده گیاهان به دست می‌آید. پروتئین کم در عسل نشان دهنده عدم دسترسی به منبع پروتئین یا وجود منبع پروتئین نامطلوب است (۳۶). محققان اذعان داشتند که وقتی تعداد اسیدهای آمینه ضروری در پروتئین گرده زیاد باشد، پروتئین بیشتری در عسل وجود داد (۵۲). مشخص شده است که کیفیت و کمیت اسیدهای آمینه بر کیفیت عسل تولید شده تأثیر می‌گذارد. همچنین مشخص است که پروتئین برخی از گرده‌ها تمام اسیدهای آمینه مورد نیاز زنبورها را ندارد. یک مکمل غذایی حاوی پروتئین با اسیدهای آمینه ضروری می‌تواند میزان پروتئین عسل را افزایش (۳۷). همچنین نشان داده شده است که حشرات محلول‌های قندی حاوی پروتئین و اسیدهای آمینه را به محلول‌های قندی بدون مکمل ترجیح می‌دهند (۴۱)؛ بنابراین افزایش میزان پرولین عسل با تغذیه مکمل را می‌توان مرتبط با مطلوب بودن مکمل خوراکی و تمایل بیشتر زنبورها به استفاده از این فرآورده‌ها دانست.

نتایج اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان قندهای موجود در عسل در جدول ۷ نشان داده شده است. همان طور که در جدول نشان داده شد سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان قندهای موجود در عسل در تیمار یک برای قند ساکارز اثر معنی داری از خود نشان داد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۷- اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان قند موجود در عسل

	ساکاروز	فروکتوز	گلوکز	گلوکز/فروکتوز
تیمار۱	۳/۷۰۰±۰/۰۵۸[a]	۳۸/۱۰۰±۰/۳۶۱	۳۲/٤۰۰±۰/۵۵۷	۱/۱۳۳±۰/۰۳۳
تیمار۲	۲/۸۱۳±۰/۱٦۲[b]	۳۷/۰۸۰±۰/٤۹۰	۳۱/۳٦۷±۰/۲۸۵	۱/۱٦۷±۰/۰۳۳
تیمار۳	۳/۳٦۷±۰/۰۳۳[b]	۳٦/۰۷۳±۰/۲٤۰	۳۲/۳۰۰±۰/٤٦۲	۰/۰۰۰±۱/۲۰۰

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح پنج درصد هستند.
تیمار ۱ (شاهد): دریافت کننده شربت شکر(۱:۱)، تیمار ۲: شاهد + ۱۰ گرم مکمل خوراکی، تیمار ۳: شاهد + ۲۰ گرم مکمل خوراکی.

محققان گزارش دادند که عسل حاوی قندهای ساده مانند گلوکز و فروکتوز و قندهای ترکیبی مانند ساکارز است. ساکارز توسط آنزیمی به نام اینورتاز که مهم‌ترین آنزیم موجود در عسل است و از غدد بزاقی زنبورها ترشح می‌شود به قندهای ساده، گلوکز و فروکتوز تبدیل می‌شود (۶). اگر نسبت فروکتوز به گلوکز بالا باشد، احتمالاً زنبورها مواد مغذی مناسب را از گرده دریافت می کنند. گرده گل حاوی پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و ویتامین‌ها است که باعث تحریک و فعال شدن غدد ترشحی و همچنین بهبود و تسریع عملکرد متابولیک زنبورها می‌شود و درنتیجه منجر به افزایش آنزیم ترشحی اینورتاز و تجزیه بیشتر ساکارز می‌گردد (۸). همچنین نتایج ازمایشات دیگر مشخص نمودند که محتوای قند بالای نمونه‌های عسل مورد بررسی را می‌توان به اسیدیته بالا و رطوبت کم آن نسبت داد که از تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال از قندها به ویژه گلوکز جلوگیری می‌نماید (۴۵). نتایج پژوهش حاضر و مقایسه با نتایج سایر پژوهش‌ها حاکی از آن است که سطح پایین ساکارز در عسل زنبورهای عسل در تیمارهای آزمایشی مربوط به تاثیر مکمل خوراکی مورد استفاده در تغذیه آن‌ها است.

نتایج اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر هیدروکسی-۲-دیسنوئیک اسید، در جدول ۸ نشان داده شده است. همانطورکه از جدول پیدا است، سطوح مختلف این مکمل خوراکی بر هیدروکسی-۲-دیسنوئیک اسید اختلاف معنی‌داری را از خود نشان نداد ($P>۰/۰۵$).

جدول ۸- اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر هیدروکسی-۲-دیسنوئیک اسید (HAD)

تیمار	HDA
تیمار ۱	۲/۷۹۳±۰/۰۴۹
تیمار۲	۲/۸۴۰±۰/۰۴۰
تیمار۳	۲/۷۳۷±۰/۰۲۷

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح پنج درصد هستند.

تیمار ۱ (شاهد): دریافت کننده شربت شکر(۱:۱)، تیمار ۲: شاهد + ۱۰ گرم مکمل خوراکی، تیمار ۳: شاهد + ۲۰ گرم مکمل خوراکی.

نتایج اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر برخی از فراسنجه‌های ژله سلطنتی، در جدول ۹ نشان داده شده است مقدار پروتئین در تیمار دوم تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد ($P<۰/۰۵$). در یک پژوهش تعداد زیادی از مطالعاتی را که برای روشن کردن عملکرد و خصوصیات پروتئین‌ها و پپتیدهای ژله سلطنتی انجام شد، مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل پروتئین‌های ژله سلطنتی نشان داد که ۹۰-۸۲ درصد وزن ژله سلطنتی توسط پروتئین‌های اصلی ژله سلطنتی تشکیل شده است به عبارتی دیگر این پروتئین‌های اصلی ژله سلطنتی اجزای پروتئینی غالب در ژله سلطنتی هستند (۴۲). در یک مطالعه پروتئین‌های موجود در ژله سلطنتی تولید شده توسط زنبورهای عسل آفریقایی و زنبورهای عسل اروپایی به طور مفصل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و با استفاده از الکتروفورز ژل دو بعدی مقایسه شده و توالی اسید آمینه N ترمینال هر نقطه تعیین شد. تفاوت‌های معنی-داری در ناهمگونی پروتئین‌های اصلی ژله سلطنتی از نظر وزن مولکولی و نقاط ایزوالکتریک بین دوگونه ژله سلطنتی یافت شد. نتایج نشان داد که الکتروفورز ژل دو بعدی روش مناسبی را برای تجزیه و تحلیل کیفی پروتئین‌های موجود در ژله سلطنتی گرفته شده از گونه‌های مختلف زنبور عسل فراهم می‌نماید.

جدول ۹- اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر برخی فراسنجه های ژله سلطنتی

	رطوبت نسبی	pH	پروتئین
تیمار ۱	۶۲/۷۰۳±۰/۱۲۲	۴/۰۶۷±۰/۰۲۴	۱۴/۵۶۰±۰/۱۴۶[b]
تیمار۲	۶۳/۲۴۳±۰/۱۸۱	۴/۰۱۳±۰/۰۰۹	۱۶/۰۴۳±۰/۰۶۱[a]
تیمار۳	۶۲/۹۵۷±۰/۱۵۷	۴/۲۸۰±۰/۳۱۱	۱۴/۴۹۷±۰.۲۷۱[b]

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح پنج درصد هستند.

تیمار ۱ (شاهد): دریافت کننده شربت شکر(۱:۱)، تیمار ۲: شاهد + ۱۰ گرم مکمل خوراکی، تیمار ۳: شاهد + ۲۰ گرم مکمل خوراکی.

نتایج اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان اسیدآمینه‌های موجود در ژله سلطنتی ، در جدول ۱۰ آورده شده است. نتایج نشان داد که سطوح مختلف این مکمل خوراکی بر میزان اسید آمینه‌های موجود در ژله سلطنتی بین روزهای برداشت تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد (P>۰/۰۵).

جدول ۱۰- اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان اسید آمینه های موجود در ژله سلطنتی

	آرژنین	سیستئین	تریپتوفان	هیستیدین	تیزوزین
تیمار۱	۰/۷٦٥±۰/۰۱٥	۰/۲٥٥±۰/۰۱٥	۱/۲۰٥±۰/۰۱٥	۱/٤٦٥±۰/۰٤٥	۳/۱۲٥±۰/۰۷٥
تیمار۲	۰/۷٤۰±۰/۰۱۰	۰/۲٦٥±۰/۰۱٥	۱/۲۱۰±۰/۰۱٥	۱/٥۷۰±۰/۰۳۰	۳/۱٥۰±۰/۰۲۰
تیمار۳	۰/۷۳۰±۰/۰۱۰	۰/۲۷٥±۰/۰۱٥	۱/۲۰٥±۰/۰٤٥	۱/٥۳۰±۰/۰۳۰	۳/۱۳٥±۰/۰۲٥
	لوسین	**گلوتامین**	**گلیسین**	**پرولین**	**متیونین**
تیمار۱	۳/۹۳٥±۰/۱۳٥	۸/۳۷۰±۰/۲۲۰	٦/٥٤۰±۰/٤٤۰	٤۱/۱۰۰±۰/٦۰۰	۰/۷٥٥±۰/۱۸٥
تیمار۲	۳/۷۰٥±۰/۲۷٥	۸/٥۳۰±۰۷۰	٦/۰۰۰±۰/۳۰۰	٤۰/٦۰۰±۰/۳۰۰	۰/۷۱۰±۰/۱۸۰
تیمار۳	۳/۹۷۰±۰/۱۷۰	۸/۲۳۰±/۳۰۰	٦/۳۸٥±۰/٤۷٥	٤۰/٦٥۰±۰/۰٥۰	۰/٦٦٥±۰/۰٤٥
	سرین	**لیزین**	**فنیل آلانین**	**ترئونین**	**والین**
تیمار۱	۰/٦۰۰±۰/۰۳۰	۱٥/٤۷٥±۰/٥۰٥a	۰/۳۰۰±۰/۰٦۰	۰/٥۹٥±۰/۰۹٥	۳/۷٤٥±۰/۳٥٥
تیمار۲	۰/٥۲٥±۰/۰۳٥	۱۷/۹۰٥±۰/٦۹٥a	۰/۲۰۰±۰/۰۸۰	۰/۳۹۰±۰/۰٥۰	۳/٤۹٥±۰/۳۹٥
تیمار۳	۰/٥٦٥±۰/۰۱٥	۱۷/٤۱٥±۱/۰۷٥a	۰/۳۷۰±۰/۰٦۰	۰/٦۰٥±۰/۰۲٥	۳/۸۱۳±۰/۲٥۳
تیمار	**آسپارتیک**	**آلانین**	**ایزولوسین**		
تیمار۱	۱/۳۳٥±۰/۰۷٥	۸/۰۱٥±۰/۳۷٥	۱/۰٥٥±۰/۱۲٥		
تیمار۲	۱/۳۹٥±۰/۰٥٥	٦/۷٤۰±۰/٤۲۰	۱/۱۸٥±۰/۰٥٥		
تیمار۳	۱/۲٥٥±۰/۰۳٥	۷/۳٤۰±۰/۸٥۰	۰/۹۷٥±۰/۱۱٥		

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح پنج درصد هستند.

تیمار ۱ (شاهد): دریافت کننده شربت شکر(۱:۱)، تیمار ۲: شاهد + ۱۰ گرم مکمل خوراکی، تیمار ۳: شاهد + ۲۰ گرم مکمل خوراکی.

٤-نتیجه گیری

در این پژوهش میزان عسل تولیدی، جمعیت، تخم و لارو، ژله سلطنتی تولیدی، فراسنجه‌های کیفی ژله سلطنتی نظیر هیدروکسی-۲-دیسنوئیک اسید و اسیدهای آمینه و فراسنجه‌های کیفی عسل مانند هیدروکسی متیل فورفورال و قندها، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمایش میدانی و آزمایشگاهی نشان داد که سطوح مختلف مکمل خوراکی بر روی تولید

ژله سلطنتی و جمعیت زنبوران در تیمار دو در کل دوره اثر معنی‌داری را از خود نشان داد. همچنین در نتایج به دست آمده اثر سطوح مختلف مکمل خوراکی در برخی از فراسنجه‌های ژله سلطنتی در تیمار دو برای پروتئین، تفاوت معنی‌داری از خود نشان داد. در این پژوهش مشاهده شد که سطوح مختلف مکمل خوراکی بر میزان تولید عسل، پرولین و فعالیت دیاستازی در تیمار دو تفاوت معنی‌داری از خود نشان داد. برخی از فراسنجه‌های کیفی عسل، هیدروکسی-۲-دیسنوئیک اسید و همچنین میزان اسید آمینه‌های موجود در ژله سلطنتی در بین تیمارها اثر معنی‌داری از خود نشان نداد. به طور کلی می‌توان عنوان نمود ۱۰ گرم مکمل خوراکی رویالین می‌تواند تاثیر مطلوبی بر جمعیت، تخم لارو و شفیره و پروتئین ژله سلطنتی و برخی از فراسنجه‌های کیفی عسل داشته باشد.

۵-منابع

۱- توسلی موسی، قنبرپور کوثر، شمسی لعیا. بررسی اثر کنه کشی عصاره گیاهی ماتریکاریا کامومیل بر روی کنه آرگاس پرسیکوس. تحقیقات دامپزشکی. ۱۳۹۷؛ ۷۳(۲): ۱۳۹-۱۳۵. doi: 0.22059/JVR.2018.141455.2424

۲- علمی محسن، فانی علیرضا. اثر تغذیه مکمل‌های گرده حاوی فیدبی و مخمر نانوایی بر رشد کلنی‌های زنبور عسل. پژوهش های علوم دامی (دانش کشاورزی). ۱۳۹۲؛ ۲۳(۱): ۱۳۸-۱۲۹.

۳- محب الدینی حسین، مقصود لو عاطفه، دستار بهروز، طهماسبی غلام حسین. تولید ژله سلطنتی، مقدار تیامین ژله سلطنتی و توسعه غدد هیپوفارژینال در کلنی زنبورعسل ایرانی(*Apis mellifera mede*) تغذیه شده با سطوح مختلف تیامین. پژوهش‌های جانوری (زیست شناسی ایران). ۱۳۹۷؛ ۳۱(۴): ۴۱۷-۴۰۶. doi: 20.1001.1.23832614.1397.31.4.7.9

۴- وکیلی محمد حسن، دبیری نجفقلی، نهضتی غلامعلی، معروفی مریم. تأثیر تغذیه سطوح مختلف نشاسته بر پرورش نوزاد و رشد جمعیت کلنی زنبورعسل (*Apis mellifera*). علوم و فنون زنبور عسل ایران. ۱۳۹۲؛ ۶(۱۱): ۱۳۸-۱۲۹.

5- Ali MA. Studies on bee venom and its medical uses. International Journal of Advanced Research and Technology. 2012; 1(2):69-83.

6- Al-Ghamdi A, Mohammed SE, Ansari MJ, Adgaba N. Comparison of physicochemical properties and effects of heating regimes on stored Apis mellifera and Apis florea honey. Saudi Journal of Biological Sciences. 2019; 26(4):845-848. doi: 10.1016/j.sjbs.2017.06.002.

7- Alqarni AS. Influence of some protein diets on the longevity and some physiological conditions of honeybee *Apis mellifera* L. workers. Journal of Biological Sciences. 2006; 6(4):734-737. doi: 10.3923/jbs.2006.734.737.

8- Biluca FC, Braghini F, Gonzaga LV, Costa AC, Fett R. Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). Journal of Food Composition and Analysis. 2016; 50:61-69. doi:10.3389/fsufs.2023.1324385.

9- Carter C, Shafir S, Yehonatan L, Palmer RG, Thornburg R. A novel role for proline in plant floral nectars. Naturwissenschaften. 2006; 93:72-79. doi: 10.1007/s00114-005-0062-1.

10- Cebotari V, Buzu I, Gliga O, Postolachi O. New nutritional supplements for bees during deficient harvesting period. Scientific Papers-Animal Science Series: Lucrări Ştiinţifice–Seria Zootehnie. 2015; 67:73-80.

11- Cebotari V, Buzu I, Postolaky O, Gliga O. Testing of the nutrient supplement enriched with biomass aquatic algae in the bee's feed. Scientific Papers Series D. Animal Science. 2016; 59:85-90.

12- Costa C, Lodesani M, Maistrello L. Effect of thymol and resveratrol administered with candy or syrup on the development of Nosema ceranae and on the longevity of honeybees (*Apis mellifera* L.) in laboratory conditions. Apidologie. 2010; 41(2):141-150. doi: 10.1051/apido/2009070.

13- Da C, Azeredo L, Azeredo MA, De Souza SR, Dutra VM. 2003. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. Food Chemistry. 2003; 80(2):249-254. doi: 10.1016/S0308-8146(02)00261-3.

14- Darvishzadeh A. 2015. Effect of proline as a nutrient on hypopharyngeal glands during development of Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae). Arthropods. 2015; 4(4):137-142.

15- DeGrandi-Hoffman G, Chen Y, Rivera R, Carroll M, Chambers M, Hidalgo G, de Jong EW. Honey bee colonies provided with natural forage have lower pathogen loads and higher overwinter survival than those fed protein supplements. Apidologie. 2016; 47:186-196. doi: 10.1007/s13592-015-0386-6.

16- Delaplane KS, Van Der Steen J, Guzman-Novoa E. Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. Journal of Apicultural Research. 2013; 52(1):1-12. doi: 10.3896/IBRA.1.52.1.03.

17- Di Pasquale G, Alaux C, Le Conte Y, Odoux JF, Pioz M, Vaissière BE, Belzunces LP, Decourtye A. Variations in the availability of pollen resources affect honey bee health. PloS One. 2016; 11(9): 1-12. doi: 10.1371/journal.pone.0162818.

18- Doull KM. Relationships between consumption of a pollen supplement, honey production and broodrearing in colonies of honeybees *Apis mellifera* L. Apidologie. 1980; 11(4): 367-374. doi: doi.org/10.1051/apido:19800404.

19- El-Hassan R, Mahmoud, N. Effect of some algal metabolites producedes for controlling varroa mite infesting honeybee colonies. Assiut Journal of Agricultural Sciences. 2006; 37(4):234-344.

20- Eremia N, Bahcivanji M, Zagareanu A. Study of influence of algal "*Chlorella vulgaris*" suspension on growth and productivity of bees families. Lucrări Ştiinţifice-Seria Zootehnie. 2013; 59:148-152.

21- Faquinello P, de Alencar Arnaut de Toledo V, Nunes Martins E, de Oliveira CA, Josiane Sereia M, Martins Costa-Maia F, Colla Ruvolo-Takasusuki MC. Parameters for royal jelly production in Africanized honeybees. Sociobiology. 2011; 57(3):495-452.

22- Fujita T, Kozuka-Hata H, Ao-Kondo H, Kunieda T, Oyama M, Kubo T. Proteomic analysis of the royal jelly and characterization of the functions of its derivation glands in the honeybee. Journal of Proteome Research. 2013; 12(1):404-411. doi: 10.1021/pr300700e.

23- Ghosh S, Playford RJ. Bioactive natural compounds for the treatment of gastrointestinal disorders. Clinical Science. 2003; 104(6):547-556. doi: 10.1042/CS20030067.

24- Gomes S, Dias LG, Moreira LL, Rodrigues P, Estevinho L. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. Food and Chemical Toxicology. 2010; 48(2):544-548. doi: 10.1016/j.fct.2009.11.029.

25- Haydak MH. Vitamin content of royal jelly from honey bee colonies fed normal diet and from those fed pollen substitutes. Annals of the Entomological Society of America. 1960; 53(5):695-702. doi: 10.1093/aesa/53.5.695.

26- Haydak MH. Honey bee nutrition. Annual Review of Entomology. 1970; 15(1):143-156.

27- Herbert Jr EW, Shimanuki H, Caron D. Optimum protein levels required by honey bees (Hymenoptera, Apidae) to initiate and maintain brood rearing. Apidologie. 1997; 8(2):141-146. doi: 10.1051/apido:19770204.

28- Hoover SE, Ovinge LP, Kearns JD. Consumption of supplemental spring protein feeds by western honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies: effects on colony growth and pollination potential. Journal of Economic Entomology. 2022; 115(2):417-429. doi: 10.1093/jee/toac006.

29- Irandoust H, Ebadi R. Nutritional effects of high protein feeds on growth, development, performance and overwintering of honey bee (*Apis mellifera* L.). International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research. 2013; 1(6):601-613. doi: 10.26655/ijabbr.2017.9.5.

30- Islam N, Mahmood R, Sarwar G, Ahmad S, Abid S. Development of pollen substitute diets for Apis mellifera ligustica colonies and their impact on brood development and honey production. Pakistan Agricultural Research. 2020; 33(2):381-388. doi: 10.17582/journal.pjar/2020/33.2.381.388.

31- Jehlík T, Kodrík D, Krištůfek V, Koubová J, Sábová M, Danihlík J, Tomčala A, Čapková Frydrychová R. Effects of *Chlorella* sp. on biological characteristics of the honey bee *Apis mellifera*. Apidologie. 2019; 50:564-577. doi: 10.1007/s13592-019-00670-3.

32- Keller I, Fluri P, Imdorf A. Pollen nutrition and colony development in honey bees-Part II. Bee World. 2005; 86(2):27-34. doi: 10.1080/0005772X.2005.11099650.

33- Kocot J, Kiełczykowska M, Luchowska-Kocot D, Kurzepa J, Musik I. Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: Possible medical application. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2018; 20:1-29. doi: org/10.1155/2018/7074209.

34- Kunugi H, Mohammed Ali A. Royal jelly and its components promote healthy aging and longevity: from animal models to humans. International Journal of Molecular Sciences. 2019; 20(19):4662-4668. doi: 10.3390/ijms20194662.

35- Manning R, Rutkay A, Eaton L, Dell B. Lipid enhanced pollen and lipid reduced flour diets and their effect on the longevity of honey bees (*Apis mellifera* L.). Australian Journal of Entomology. 2007; 46(3):251-257. doi: 10.1111/j.1440-6055.2007.00598.x.

36- Mattila HR, Otis GW. Influence of pollen diet in spring on development of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. Journal of Economic Entomology. 2006; 99(3):604-613. doi: 10.1603/0022-0493-99.3.604.

37- Mevi-Schütz J, Erhardt A. Amino acids in nectar enhance butterfly fecundity: a long-awaited link. American Naturalist. 2005; 165(4):411-419. doi: 10.1086/429150.

38- Mortensen AN, Jack CJ, Bustamante TA, Schmehl DR, Ellis JD. Effects of supplemental pollen feeding on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony strength and Nosema spp. infection. Journal of Economic Entomology. 2019; 112(1):60-66. doi: 10.1093/jee/toy341.

39- Naheed R, Farooqi SR. Physical characterization and antibiotic potential of honey collected from A. florea combs in district Khairpur. Journal of Entomology and Zoology Studies. 2018; 6(1):1564-1570.

40- Ramchoun M, Alem C, Ghafoor K, Ennassir J, Zegzouti YF. Functional composition and antioxidant activities of eight Moroccan date fruit varieties (*Phoenix dactylifera* L.). Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 2017; 16(3):257-264. doi: 10.1016/j.jssas.2015.08.005.

41- Rathman ES, Lanza J, Wilson J. Feeding preferences of flesh flies (*Sarcophaga bullata*) for sugar-only *vs.* sugar-amino acid nectars. American Midland Naturalist. 1990; 1:379-389. doi: 10.2307/2426188.

42- Sabatini AG, Marcazzan GL, Caboni MF, Bogdanov S, Almeida-Muradian LB. 2009. Quality and standardisation of royal jelly. Journal of ApiProduct and ApiMedical Science. 2009; 1(1):1-6. doi: 10.3896/IBRA.4.1.01.04.

43- Saffari A, Kevan PG, Atkinson JL. Palatability and consumption of patty-formulated pollen and pollen substitutes and their effects on honeybee colony performance. Journal of Apicultural Science. 2010; 54(2):63-71.

44- Salih HS, Al-Jaf SH. Physicochemical properties and mineral contents of honeys harvested from different cities in kurdistan region. Journal of the University of Garmian. 2019; 6(1):369-379. doi: 10.24271/garmian.196230.

45- Schmehl DR, Teal PE, Frazier JL, Grozinger CM. Genomic analysis of the interaction between pesticide exposure and nutrition in honey bees (*Apis mellifera*). Journal of Insect Physiology. 2014; 71:177-190. doi: 10.1016/j.jinsphys.2014.10.002.

46- Schmitzova J, Klaudiny J, Albert Š, Schröder W, Schreckengost W, Hanes J, Judova J, Šimúth J. A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. Cellular and Molecular Life Sciences. 1998; 54:1020-1030. doi: 10.1007/s000180050229.

47- Sihag RC, Gupta M. Testing the effects of some pollen substitute diets on colony build up and economics of beekeeping vvith *Apis mellifera* L. Journal of Entomology. 2013; 10(3):120-135. doi: 10.3923/je.2013.120.135.

48- Silva IP, Caldas MJ, Machado CS, Nascimento AS, Lordêlo MS, Barbara MF, Evangelista-Barreto NS, Estevinho LM, Carvalho CA. Antioxidants activity and physicochemical properties of honey from social bees of the Brazilian semiarid region. Journal of Apicultural Research. 2021; 60(5):797-806. doi: 10.3390/antiox10010071.

49- Smart MD, Pettis JS, Euliss N, Spivak MS. 2016. Land use in the Northern Great Plains region of the US influences the survival and productivity of honey bee colonies. Agriculture, Ecosystems & Environment. 2016; 230:139-149. doi: 10.1016/j.agee.2016.05.030.

50- Steinhauer NA, Rennich K, Wilson ME, Caron DM, Lengerich EJ, Pettis JS, Rose R, Skinner JA, Tarpy DR, Wilkes JT. A national survey of managed honey bee 2012–2013 annual colony losses in the USA: Results from the Bee Informed Partnership. Journal of Apicultural Research. 2014; 53:1-18. doi: 10.3896/IBRA.1.53.1.01.

51- Suzart Araujo G, Sampaio KF, Santos FS, Bastos TD, Oliveira PP, de Carvalho GB, de Souza SM, Martínez EA. Biochemical, physicochemical and melissopalynological analyses of two multifloral honey types from Brazil and their influence on mead production. Journal of Apicultural Research. 2021; 60(5):784-796. doi: 10.1080/00218839.2020.1828236.

52- Tang J, Ma C, Shi W, Chen X, Liu Z, Wang H, Chen C. A national survey of managed honey bee colony winter losses (*Apis mellifera*) in China (2013–2017). Diversity. 2020; 12(9):318-324. doi: 10.3390/d12090318.

53- Toderaş I, Rudic V, Gulea A, Cebatori V, Buzu I. The influence of organic remedies next-generation bioactive agents on the vital activity of bee families *Apis mellifera*. Buletinul Academiei de Stiinte a Moldovei. Stiintele Vietii. 2014; 3:4-15.

54- Toledo VD, Mouro GF. Royal jelly production by selected Africanized honeybees and carniolan hybrids. Revista Brasileira de Zootecnia. 2019; 34:2085-2092. doi: 10.4025/actascianimsci.v41i1.45670.

55- Wright GA, Nicolson SW, Shafir S. Nutritional physiology and ecology of honey bees. Annual Review of Entomology. 2018; 63:327-344. doi: 10.1146/annurev-ento-020117-043423.

56- Zerrouk S, Bahloul R. Palynological and physicochemical properties of multifloral honey produced in some regions of Algeria. Journal of Apicultural Research. 2023; 62(2):345-354. doi: 10.1080/00218839.2020.1856559.

The Effect of Two Levels of Feed Supplements on the Quantity and Quality of Honey and Royal Jelly Produced by Grafting Technique

Sara Shadmehr[1], Mohammad Chamani[11*], Naser Tajabadi[2], Ali Asghar Sadeghi[1], Alireza Seidavi[3]

1- Department of Animal Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Honeybee, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

3- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Abstract

This research was conducted in order to investigate the effect of two levels of Royalin feed supplements on the quantity and quality of royal jelly produced by grafting technique on honey bees (*Apis mellifera meda*). For this purpose, 15 identical honey bee colonies were divided into three treatments and four replications in terms of queen sisterhood, population and feed reserves. The first treatment, as a control, received 500 ml of syrup in a ratio of one to one, the second treatment, received 10 grams of feed supplement in 500 ml of syrup, and the third treatment, received 20 grams of feed supplement in 500 ml of syrup. Population, eggs, larvae and pupae were measured every 15 days. Also, the amount of honey, royal jelly produced, pollen storage, some qualitative parameters of royal jelly such as 10 Hydroxy-D-Decenoic Acid and amino acids, some qualitative parameters of honey such as hydroxymethylfurfural, sugars, diastatic activity, Prolin, Relative Humidity. The results showed that the royal jelly oral supplement significantly increased the amount of royal jelly production, the amount of protein in royal jelly, the amount of population, eggs, larvae and pupae in the second treatment. The amount of honey produced in the second treatment was statistically higher than the first treatment. In none of the treatments, significant effects were observed in HDA concentration, pollen storage rate, and some qualitative parameters of honey. Diastase activity and prolin increased in second treatment compared to the first treatment (control). In general, the use of 10 grams of feed supplement in the second treatment led to better performance in the research.

Keywords: royal jelly, honey bee, grafting technique, Royalin feed supplement, *Apis mellifera meda*

* Corresponding Author: m.chamani@srbiau.ac.ir