16(1) 123-130, Spring 2024

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

Original Research Paper

The effect of different doses of ascorbic acid on the egg-laying of queen, body weight of nurse bees, behavior of worker bees and the amount of royal jelly production in honey bee during the hot season

Hamid Shahin, Mohammad Chamani *, Ali Asghar Sadeghi, Asa Ebrahimi

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

Key Words

Antioxidant capacity
Heat stress
Honey bee
Vitamin C
Queen egg laying

Abstract

Introduction: Heat stress in honey bees causes a decrease in queen egg laying and the life span of workers on royal jelly production cells. In order to reduce the effects of heat stress and increase the body resistance of bees, heat stress problems can be minimized by providing antioxidant substances. The current research aimed to determine the effect of different doses of vitamin C on queen egg laying, antioxidant status and body weight of nurse bees, larval acceptance percentage, and royal jelly production.

Materials & Methods: A total of 30 honey bee colonies (*Mellifera meda*) were equalized and organized for royal jelly production in July and used in a completely random design. Colonies were fed vitamin C in concentrations of zero, 1000, 1500, 2000, 2500, and 3000 mg/liter for 30 days. The body's antioxidant capacity, weight and composition of the body of nurse bees, the percentage of larval acceptance, and the amount of royal jelly produced in each cup were determined.

Results: The lowest body weight of nurse bees belonged to colonies that received 2500 and 3000 mg of vitamin C per liter of syrup. The lowest antioxidant capacity of the body was observed in the control group, and the highest mean was in the group receiving 3000 mg of vitamin C per liter of syrup. The control group had the lowest egg-laying area, and the colonies receiving 2000 mg of vitamin C per liter of syrup had the highest egg-laying area of the queen. The highest percentage of larvae acceptance was observed in the group receiving 2500 mg of vitamin C per liter of syrup. The lowest percentage of larva acceptance was observed in the control group. The lowest amount of royal jelly produced belonged to the control group, and the groups receiving 2000 and 2500 mg of vitamin C per liter of syrup had the highest amount of royal jelly per cell. Colonies receiving 2500 and 3000 mg of vitamin C per liter of syrup were highly aggressive.

Conclusion: The results of the present study showed that supplementation of 2000 mg vitamin C per liter of syrup increases larval acceptance and royal jelly production and improves queen egg laying. By supplementation of vitamin C, the aggressive behavior of worker bees increases, which leads to increases in the risk of the bees' stings.

* Corresponding Author's email: m.chamani@srbiau.ac.ir
Received: 23 November 2022; Reviewed: 24 December 2022; Revised: 24 February 2023; Accepted: 27 March 2023
(DOI):10.70102/AEJ.2025.16.1.14

مقاله پژوهشی

اثر دزهای مختلف اسیدآسکوربیک بر تخم‌گذاری ملکه، وزن و ترکیبات بدن زنبور پرستار، رفتار زنبورهای کارگر و مقدار تولید ژل رویال در زنبور عسل در معرض تنش گرمایی

حمید شاهین، محمد چمنی**، علی‌اصغر صادقی، آسا ابراهیمی

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

کلمات کلیدی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی
ویتامین C
تخم‌گذاری ملکه
تنش گرمایی
زنبورعسل

چکیده

مقدمه: تنش‌گرمایی در زنبور عسل سبب کاهش تخم‌گذاری ملکه و کاهش ماندگاری زنبورهای کارگر روی تیرک‌های تولید ژل رویال می‌شود. برای کاهش اثرات تنش گرمایی و افزایش مقاومت بدن زنبورها، با تأمین مواد آنتی‌اکسیدانی می‌توان مشکلات تنش گرمایی را به حداقل رساند. هدف از انجام پژوهش کنونی، تعیین اثر دوزهای مختلف اسید آسکوربیک (ویتامین C) بر تخم‌گذاری ملکه، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و وزن بدن زنبورهای پرستار، درصد پذیرش لارو و مقدار تولید ژل رویال بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۳۰ کلنی زنبور عسل نژاد بومی (*Mellifera meda*) یکسان‌سازی شده در قالب طرح کاملاً تصادفی، برای تولید ژل رویال در تیرماه سازماندهی شدند. ویتامین C در غلظت‌های صفر، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به کلنی‌ها به‌مدت ۳۰ روز تغذیه شد. غلظت مالون‌دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن، وزن و ترکیبات بدن زنبورهای پرستار، درصد پذیرش لارو و مقدار تولید ژل رویال در هر فنجانک تعیین شد.

نتایج: کم‌ترین وزن بدن زنبورهای پرستار به کلنی‌هایی تعلق داشت که ۲۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت دریافت کردند. کم‌ترین میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن در گروه شاهد و بیش‌ترین میانگین در گروه دریافت‌کننده ۳۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت مشاهده شد. گروه شاهد کم‌ترین وسعت تخم‌گذاری ملکه وکلنی دریافت‌کننده ۲۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر لیتر شربت بیش‌ترین وسعت تخم‌گذاری ملکه داشت. بیش‌ترین درصد پذیرش لارو در گروه دریافت‌کننده ۲۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت وکم‌ترین درصد پذیرش لارو پیوند شده در گروه شاهد مشاهده شد. کم‌ترین مقدار ژل رویال تولیدی به گروه شاهد تعلق داشت و گروه‌های دریافت‌کننده ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ میلی‌گرم ویتامینC در هر لیتر شربت بیش‌ترین مقدار ژل رویال را در هر سلول فنجانک داشتند. کلنی‌های دریافت‌کننده دوزهای ۲۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت به شدت رفتار تهاجمی داشتند

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت سبب افزایش پذیرش لارو و تولید ژل رویال می‌شود و تخم‌گذاری ملکه را بهبود می‌بخشد. با افزودن ویتامین C رفتار تهاجمی زنبورهای کارگر افزایش می‌یابد و افزودن آن به شربت خطر افزایش تهاجم و نیش زنی زنبورها را به‌همراه دارد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: m.chamani@srbiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۲ آذر ۱۴۰۱؛ تاریخ داوری: ۳ دی ۱۴۰۱؛ تاریخ اصلاح: ۵ اسفند ۱۴۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۷ فروردین ۱۴۰۲
(DOI): 10.70102/AEJ.2025.16.1.14

مقدمه

در مناطق مرکزی کشور طی اواخر بهار و اوایل تابستان دمای هوا افزایش می‌یابد و زنبورداران کندوها را به مناطق کوهستانی کوچ می‌دهند تا بتوانند از گرده و شهد کوهستان و دمای خنک آن در جهت افزایش جمعیت کلنی‌ها و برداشت عسل بهره‌برداری کنند (۱). زنبوردارانی که در زمینه تولید ژل رویال فعالیت می‌کنند تمایل کم‌تری به کوچ کندوها به مناطق کوهستانی دارند، زیرا دمای هوا طی شب کاهش می‌یابد و بیش‌تر کندوها را در مناطق دشت مستقر می‌کنند و با دادن شربت شکر و کیک گرده، ژل رویال تولید می‌کنند (۲). یکی از مشکلاتی که این دسته از زنبورداران با آن مواجه هستند گرمای زیاد در کندو که نتیجه آن کاهش فعالیت زنبورها، کاهش تخم‌گذاری ملکه و کاهش تولید ژل رویال است. با کاهش تخم‌گذاری ملکه، گاهی لارو به تعداد کافی که مناسب پیوند باشد در قاب‌ها یافت نمی‌شود (۳). دلیل این وقایع تنش گرمایی است که سبب تنش اکسیداتیو (Oxidative stress) در بدن زنبور و تغییراتی در رفتار و عملکرد آن می‌شود. تا دمای محیطی حدود ۳۲ تا ۳۴ درجه سلسیوس، تولید گرما در بدن زنبور در کم‌ترین مقدار می‌باشد و انرژی لازم برای تنظیم دمای کلنی کم و انرژی دریافتی که صرف تولید ژل رویال می‌شود زیاد است (۳). هنگامی‌که دمای محیط به بالاتر از ۳۴ درجه سلسیوس افزایش می‌یابد تولید گرما در بدن زنبورها نیز به‌دلیل فعالیت بال‌زدن برای خنک‌کردن کلنی افزایش می‌یابد و در این شرایط کلنی تحت تنش گرمایی قرار می‌گیرد. وقتی تنش گرمایی روی می‌دهد زنبورها با تغییر رفتار سعی می‌کنند شرایط کلنی را پایدار نگه دارند (۴). به‌همین دلیل زنبورها در شرایط تنش گرمایی به کف کندو، دیواره‌ها و زیر در کندو رفته و فعالیت را به‌حداقل می‌رسانند تا گرمای تولیدی بدن کاهش یابد. در این شرایط فعالیت اصلی بیش‌تر زنبورهای کارگر آب‌آوری است و گاهی گرما به‌قدری شدید است که آب کافی برای خنک‌کردن محیط پرورش نوزادان تامین نمی‌شود (۴، ۵). علاوه بر این لاروها در کلنی‌هایی که نوزادان زیادی دارند، به‌دلیل تامین‌نشدن آب و مواد مغذی مورد نیاز با تنش تغذیه‌ای نیز رو به رو می‌شوند (۶، ۷) و تولید ژل رویال نیز کم می‌شود. درصورت معرفی تیرک فنجانک‌های حاوی لارو به کندوی در معرض تنش گرمایی پذیرش لارو انجام نمی‌شود و اگر انجام شود درصد پذیرش کمی خواهد داشت، به‌همین دلیل تولیدکنندگان ژل رویال معرفی تیرک را به اواخر روز یا اوایل صبح محدود می‌کنند (۳). به‌منظور کاهش اثرات تنش گرمایی در کلنی‌های زنبور عسل، روش‌های مختلفی مانند ایجاد سایبان، قرار دادن کلنی‌ها در سایه درختان، کاهش تعداد قاب در کندو و طبق جهت ایجاد فضای تهویه و افزودن مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی به شربت و کیک گرده اجرا می‌شود. گرده گل تازه حاوی مقادیر زیادی انواع رنگدانه‌ها و ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی مانند اسیدآسکوربیک (ویتامین C) است، ولیکن مقدار ویتامین C و رنگدانه‌های فعال در گرده انبار شده در حجره‌ها که تخمیر شده‌اند و کیک گرده که از گرده برداشت و خشک شده استفاده می‌شود، کم است (۹، ۸). بنابراین افزودن مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی به شربت برای مقابله با اثرات تنش گرمایی ضروری است. آنتی‌اکسیدان‌ها به‌ویژه ویتامین C، ظرفیت الکترون‌دهی به اکسیدان‌ها را دارند، از این طریق واکنش‌پذیری اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد و بزرگ مولکول‌های سلولی آسیبی نمی‌بینند. در اثر انجام این عمل، خود آنتی‌اکسیدان‌ها رادیکال می‌شوند، با این تفاوت که پایدار هستند و سلول را تخریب نمی‌کنند. سپس، آنتی اکسیدان‌های تخریب شده توسط شماری از فرآیندهای سلولی و با انرژی حاصل از NADPH به حالت احیا شده و فعال خود تبدیل می‌شوند. این عمل، کلید قدرت شبکه آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۱۰). در بدن حشرات یک سیکلی به‌نام سیکل اکسید و احیا گلوتاتیون- آسکوربیک اسید وجود دارد که سبب خنثی شدن رادیکال‌های آزاد تولیدی بر اثر فعالیت زیاد و متابولیسم شدید در بدن آن‌ها می‌شود. این سیکل سبب جمع شدن و بی‌اثر شدن رادیکال‌های آزاد در بدن حشرات می‌شود و نقش ویتامین C در آن بارز است (۱۱). در بدن حشرات هم‌چنین ویتامین C در هیدروکسیلاسیون پرولین و تایروزین نقش دارد (۸). بنابراین وجود ویتامین C در غذای زنبور عسل می‌تواند مقاومت بدن را در برابر عوامل مضر افزایش دهد. بنابر گزارش‌های محققان مصرف ویتامین C در زنبور سبب افزایش پرورش نوزاد و تکامل غدد شیری، افزایش فعالیت زنبوران چراگر و افزایش تولید عسل می‌شود (۱۱). مطالعات مختلفی درباره افزودن ویتامین C در دوزهای مختلف به شربت در زنبور عسل انجام شده است و اثرات آن بر تخم‌گذاری ملکه و جمعیت کلنی بررسی شده است (۶، ۱۱، ۱۳). تاکنون در منابع در دسترس مطالعه‌ای در زمینه اثرات افزودن ویتامین C در دوزهای مختلف بر پذیرش لارو پیوند شده، رفتار زنبورهای کارگر، مقدار تولید ژل رویال و وزن و ترکیبات بدن زنبورهای پرستار گزارش نشده است. فرضیه این تحقیق این است که کلنی‌هایی که در فصل گرما مکمل ویتامین C دریافت می‌کنند درصد پذیرش لارو و تولید ژل رویال بیش‌تری نسبت به گروه شاهد دارند. هدف از انجام پژوهش کنونی، تعیین اثر افزودن دوزهای مختلف مکمل ویتامین C بر تخم‌گذاری ملکه، وزن و ترکیب بدن زنبورهای پرستار، رفتار زنبورهای کارگر، درصد پذیرش لارو و تولید ژل رویال بود.

مواد و روش‌ها

مکان و زمان اجرای آزمایش: این تحقیق در زنبورستان خصوصی در دو مرحله مزرعه‌ای و آزمایشگاهی طی اواسط تیرماه تا اواخر

مردادماه ۱۴۰۱ در منطقه کیانمهر کرج (استان البرز) با عرض جغرافیایی ۳۵/۸۰۸۲۰۱ و طول جغرافیایی ۵۰/۸۲۴۰۴۷ و ارتفاع ۱۰۷۰ متر از سطح دریا انجام شد.

کلنی‌های مورد استفاده و ایجاد تنش گرمایی: تعداد ۳۰ کلنی زنبور عسل نژاد بومی (*Mellifera meda*) انتخاب و ملکه‌ها از نظر سلامتی و تخم‌گذاری بررسی شد. ملکه‌های کلنی‌های مورد استفاده از پایه مادری یکسان بودند (ملکه اصلاح نژاد شده موسسه علوم دامی) و به‌صورت جفتگیری طبیعی در بهار سال ۱۴۰۰ بارور شده بودند. کلنی‌های زنبور عسل با انتقال قاب و جمعیت به‌روش ادغام یکسان سازی شدند. بعد از یکسان‌سازی از نظر جمعیت و پیشگیری از بیماری‌ها و آفات با دادن داروهای مربوطه به گروه‌های آزمایشی اختصاص داده شدند. برای ایجاد تنش گرمایی بنابر روش توصیه شده توسط Li و همکاران، آزمایش مزرعه‌ای در مکانی آفتابگیر با دمای ۳۸ درجه سلسیوس به‌مدت حداقل ۴ ساعت در روز از ساعت ۱۱ تا ۳ عصر ایجاد شد (۱۲). برای اطمینان از ایجاد تنش گرمایی در کلنی‌های زنبور عسل، بنابر روش Li و همکاران، رفتار زنبورهای نر، زنبورهای پرستار و کارگر مورد بررسی قرار گرفت. در تمام کلنی‌ها در ساعاتی که دمای هوا بالای ۳۸ درجه سلسیوس بود رقص زنبورهای کارگر بر روی قاب‌های بدنه و طبق مشاهده نشد و زنبورهای نر در کف کندو و زنبورهای کارگر و پرستار در زیر در و جلو دریچه تجمع کردند (۱۲).

گروه‌های آزمایشی: این تحقیق با ۶ گروه آزمایشی و ۵ تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. گروه آزمایشی اول به‌عنوان شاهد فقط شربت شکر یک به یک دریافت کرد. گروه آزمایشی دوم شربت یک به یک حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C؛ گروه آزمایشی سوم شربت یک به یک حاوی ۱۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین C؛ گروه آزمایشی چهارم شربت یک به یک حاوی ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C؛ گروه آزمایشی پنجم شربت یک به یک حاوی ۲۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و گروه آزمایشی ششم شربت یک به یک حاوی ۳۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در یک لیتر شربت دریافت کردند.

مراحل سازماندهی و تولید ژل رویال: دوره آزمایشی ۳۱ روز بود که ۱۰ روز دوره عادت‌پذیری، ۱۱ روز طول دوره تولید ژل رویال (سه دوره) و ۲۱ روز (۱۱ روز تولید ژل و ۱۰ روز بعد از آن) برای آزمون تخم‌گذاری ملکه بود. طی دوره یکسان‌سازی کندوها، ملکه به همراه تعدادی پرستار در قفس فشاری (شرکت هفت گوهر، تهران) قرار داده شد. همه کلنی‌ها دارای بدنه و طبق با تعداد قاب یکسان بودند و در بدنه ملکه با دو قاب عسل وگرده و دو قاب خالی و در طبق کادر حاوی تیرک پیوند قرار داده شد. هر سه روز کندوها چک و در بدنه در صورت نیاز قاب خالی جهت تخم‌گذاری قرار داده می‌شد. قاب‌های تخم‌گذاری شده بررسی سطح و از بدنه خارج می‌شد. تحقیق با استفاده از ۳۰ کلنی زنبور عسل استارتر و فینیشر سازمان‌دهی شده برای تولید ژل رویال انجام شد. در دوره آزمون تولید ژل رویال کندوها هر ۳ روز یک‌بار بازدید می‌شدند و تیرک‌های حاوی ژل رویال خارج و روز بعد دوباره تیرک‌ها به‌طور هم‌زمان و با فاصله زمانی کم‌تر از یک ساعت معرفی می‌شد. پیوند زدن لارو در سلول ویژه تولید ژل رویال انجام شد، تعداد دو تیرک با مجموع ۲۰ سلول حاوی لارو پیوند شده به هر کندو معرفی شد و میزان پذیرش لارو به‌صورت درصد محاسبه شد. مقدار ژل تولیدی سه روز بعد از پیوند زدن لارو اندازه‌گیری شد. وزن ژل رویال در هر سری پیوند بر تعداد فنجانک تقسیم شد و مقدار ژل تولیدی در هر سلول فنجانک محاسبه شد.

اندازه‌گیری سطح تخم‌ریزی ملکه: طی دوره آزمون تولید ژل رویال و ۱۰ روز بعد از آن، سطح تخم‌ریزی ملکه که در بدنه کندو مستقر بود اندازه‌گیری شد. طی ساماندهی تولید ژل همه قاب‌های حاوی تخم روز، لارو و شفیره از بدنه کندو و به‌جای آن قاب مومبافی شده و دو قاب حاوی عسل وگرده قرار داده شد. برای اندازه‌گیری سطح تخم‌ریزی ملکه از قاب مشبک شده دارای مربع‌های استاندارد ۵×۵ سانتی‌متر که کل قسمت‌های یک‌شان را می‌پوشاند استفاده شد (۲). طی یک‌دوره ۲۱ روزه تعداد مربع‌های حاوی تخم شمارش شده و سطح مورد نظر نیز محاسبه شد.

نمونه‌گیری زنبورهای پرستار و آنالیز شیمیایی: در روز ۲۲ بعد از شروع آزمایش، وزن بدن زنبور پرستار که از تیرک‌های تولید ژل جمع‌آوری شد محاسبه گردید. برای این منظور تعداد زنبور موجود در ۵۰ گرم زنبور که با دی‌اکسیدکربن بی‌هوش شده بودند شمارش و محاسبه وزن هر زنبور انجام شد. زنبورهای بی‌هوش در ظرف دربسته در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس تا انجام آزمایش‌های بعدی نگه‌داری شدند (۶). ماده خشک لاشه زنبورها با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس تعیین شد. نمونه‌ها پس از خشک شدن در آون به دسیکاتور منتقل شده و پس از سرد شدن توزین شد. اندازه‌گیری وزن نمونه‌ها قبل و بعد از خشک شدن با ترازوی دیجیتال (AND Scale GE220, Tokyo, Japan) با دقت ۰/۰۰۱ گرم انجام شد. درصد چربی و پروتئین بدن زنبورهای نمونه‌برداری شده به‌ترتیب با استفاده از روش سوکسله و کلدال تعیین شد (۱۵). سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن زنبورها با روش Benzie and Strain انجام شد (۱۶).

ارزیابی رفتار تهاجمی: برای بررسی رفتار نیش‌زنی زنبورها از یک قطعه پارچه سیاه‌رنگ استفاده شد که به‌مدت یک‌دقیقه در بالای

قاب‌ها به‌صورت رفت و برگشت حرکت داده شد. تعداد نیشی که در مدت ۱ دقیقه بر روی پارچه‌زده شد برای هر کندو ثبت گردید (۱۴).

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS، در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی با سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

نتایج مربوط به وزن و ترکیب شیمیایی بدن و ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن زنبورهای پرستار در جدول ۱ گزارش شده است. درصد چربی و پروتئین بدن زنبورهای پرستار تحت تاثیر افزودن دوزهای مختلف ویتامین C قرار نگرفت. تفاوت معنی‌داری بین میانگین وزن بدن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن زنبورهای پرستار مشاهده شد. بیش‌ترین وزن بدن زنبورهای پرستار در گروه شاهد و دوگروه دریافت کننده ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت مشاهده شد. کم‌ترین وزن بدن زنبورهای پرستار به کلنی‌هایی تعلق داشت که ۲۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر لیتر شربت دریافت کردند. با افزایش دوز ویتامین C کاهش معنی‌دار در وزن بدن زنبورهای پرستار مشاهده شد. کم‌ترین میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن در گروه شاهد و بیش‌ترین میانگین در گروه دریافت‌کننده ۳۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری بین مقادیر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن زنبورهای پرستار دریافت کننده دوزهای ۲۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت مشاهده نشد. در جدول ۲ نتایج مربوط به وسعت تخم‌گذاری ملکه، درصد پذیرش لارو و مقدار ژل رویال تولید شده در هر سلول فنجانک گزارش شده است. تفاوت معنی‌داری بین وسعت تخم‌گذاری ملکه، درصد پذیرش لارو و مقدار ژل رویال تولیدی در کلنی‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف ویتامین C مشاهده شد. گروه شاهد کم‌ترین وسعت تخم‌گذاری ملکه وکلنی دریافت‌کننده ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت بیش‌ترین وسعت تخم‌گذاری ملکه داشت. دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت سبب افزایش معنی‌دار وسعت تخم‌گذاری ملکه نسبت به گروه شاهد شد ولی نسبت به کلنی‌های دریافت‌کننده ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت وسعت تخم‌گذاری کم‌تری داشت. با افزایش دوز ویتامین C به ۲۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در هر لیتر شربت کاهش غیرمعنی‌دار در وسعت تخم‌گذاری ملکه نسبت به دوز ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت مشاهده شد. بیش‌ترین درصد پذیرش لارو در گروه دریافت کننده ۲۵۰۰ میلی‌گرم‌ویتامین C در هر لیتر شربت و کم‌ترین درصد پذیرش لارو پیوند شده در گروه شاهد مشاهده شد. با افزایش دوز ویتامین C تا ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت روند افزایشی در درصد پذیرش لارو مشاهده شد، ولی در دوزهای بیش‌تر از ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت، کاهش در درصد پذیرش لارو مشاهده شد. کم‌ترین مقدار ژل رویال تولیدی به گروه شاهد تعلق داشت و گروه‌های دریافت‌کننده ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت بیش‌ترین مقدار ژل رویال را در هر سلول فنجانک داشتند. مشابه روندی که در درصد پذیرش لارو مشاهده شد، با افزایش دوز ویتامین C تا ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت روند افزایشی در مقدار ژل رویال تولیدی مشاهده شد، ولی در دوزهای بیش‌تر از ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت، کاهش در تولید ژل رویال مشاهده شد.

جدول ۱: وزن و ترکیب شیمیایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن زنبورهای پرستار

تیمار آزمایشی	وزن بدن (میلی‌گرم)	چربی بدن (درصد)	پروتئین بدن (درصد)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (mM Trolox)
شاهد	۱۱۲^{a}	۷/۶	۵۱/۰	۳/۱^{b}
۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۱۱۱^{a}	۷/۶	۴۹/۸	۳/۶^{ab}
۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۱۱۳^{a}	۷/۵	۵۰/۵	۳/۸^{ab}
۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۱۰۹^{b}	۷/۳	۴۹/۶	۴/۳^{a}
۲۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۱۰۵^{c}	۷/۵	۴۹/۷	۴/۱^{a}
۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۱۰۷^{c}	۷/۴	۴۹/۵	۴/۲^{a}
خطای استاندارد	۱/۷۶	۰/۱۲	۱/۳۰	۰/۱۵
سطح معنی‌داری	۰/۰۱۷	۰/۵۷۴	۰/۹۴۷	۰/۰۰۷

درج حروف متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۲: میزان پذیرش لارو و مقدار ژل رویال تولیدی

تیمار آزمایشی	وسعت تخم‌گذاری ملکه طی ۲۰ روز (سانتی‌متر مربع)	میزان پذیرش لارو (درصد)	مقدار ژل رویال در هر سلول (میلی‌گرم)
شاهد	۶۷۸۹^{c}	۷۵^{d}	۸۳/۲^{c}
۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۷۱۹۸^{b}	۷۸^{cd}	۸۵/۸^{bc}
۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۷۴۲۱ ^{ab}	۸۳^{bc}	۹۲/۱^{ab}
۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۷۵۷۵ ^{a}	۹۱^{a}	۹۷/۷^{a}
۲۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۷۴۳۴^{ab}	۸۷^{ab}	۹۳/۱^{a}
۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۷۴۸۱^{ab}	۷۹^{cd}	۹۱/۸^{ab}
خطای استاندارد	۷۰/۵۰	۱/۴۱	۱/۵۰
سطح معنی‌داری	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲

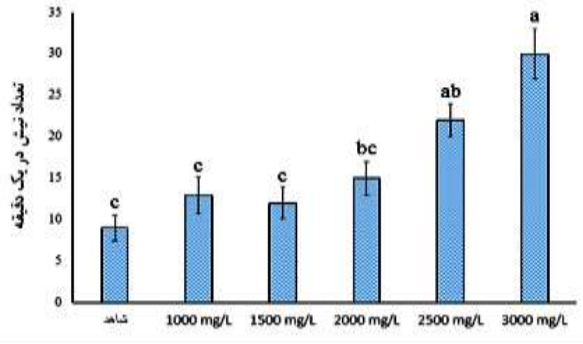
درج حروف متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۳: ترکیبات شیمیایی ژل رویال تولیدی

تیمار آزمایشی	ماده خشک (درصد)	چربی خام (درصد)	پروتئین حقیقی (درصد)
شاهد	۳۸/۶	۵/۸	۱۲/۱
۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۳۸/۲	۵/۶	۱۱/۸
۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۳۷/۹	۵/۵	۱۱/۹
۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۳۷/۶	۵/۶	۱۱/۷
۲۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۳۷/۷	۵/۵	۱۱/۶
۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت	۳۸/۳	۵/۷	۱۱/۹
اشتباه معیار	۰/۷۵	۰/۱۰	۰/۱۷
سطح معنی‌داری	۰/۹۲۷	۰/۲۲۳	۰/۴۳۲

عدم درج حروف در هر ستون بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P>۰/۰۵).

نتایج مربوط به ترکیب شیمیایی ژل رویال تولیدی در جدول ۳ گزارش شده است. تفاوت معنی‌داری بین گروه های آزمایشی مختلف از نظر درصد ماده خشک، چربی خام و پروتئین خام ژل رویال تولیدی مشاهده نشد. در شکل ۱ تعداد نیش زده شده به پارچه چرمی نازک سیاه رنگ طی یک دقیقه حرکت بر روی سطح قاب‌ها نشان داده شده است. زنبورهای گروه شاهد و دو گروه دریافت‌کننده ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت رفتار آرامتری نسبت به سایر گروه‌ها داشتند. گروه دریافت‌کننده ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت نیز نسبتا آرام و دارای رفتار تهاجمی شدید نبودند. کلنی‌های دریافت‌کننده دوزهای ۲۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت به شدت رفتار تهاجمی داشتند، به گونه‌ای که با باز کردن در کندوها به لباس و دستکش حمله می‌کردند و مدت طولانی در تلاش برای زدن نیش بودند. ضمن اینکه بعد از شربت دادن به این کندوها جمعیت زیادتری نسبت به چهار گروه دیگر از کندو خارج و جلو کندو پرواز داشتند و بیشترین رفتار تهاجمی را در زمان مصرف شربت نشان می‌دادند.



شکل ۱: تعداد نیش زده شده به پارچه چرمی نازک سیاه رنگ طی یک دقیقه حرکت بر روی سطح قاب‌ها

بحث

تنش گرمایی سبب کاهش فعالیت زنبورها می‌شود و عمده فعالیت زنبورهای کارگر به آب‌آوری و بال‌زدن برای خنک کردن محیط پرورش نوزادان معطوف می‌شود. در چنین شرایطی زنبورهای پرستار قاب‌ها را رها کرده و به دیواره‌ها و زیر در کندو می‌روند و فعالیت متابولیکی بدن را به حداقل می‌رسانند (۴). یکی از دلایل بیش‌تر بودن وزن بدن زنبورهای پرستار در گروه شاهد می‌تواند به تنش گرمایی مربوط باشد. زنبورهای پرستار در کلنی‌های گروه شاهد عمدتاً زیر در کندو یا در کف و دیواره کندو تجمع می‌کردند. این زنبورها با کم کردن فعالیت متابولیکی و کم کردن تولید ژل رویال انرژی کم‌تری مصرف کردند. در پژوهش کنونی با افزودن ویتامین C به شربت وزن بدن زنبورها نسبت به گروه شاهد کم‌تر شد. دلیل کاهش وزن بدن زنبورهای دریافت کننده ویتامین C به اثر آنتی‌اکسیدانی و تاثیری که این ویتامین بر ناقل‌های عصبی (Neurotransmitters) دارد مربوط می‌باشد (۱۷). ویتامین C توانایی گرفتن الکترون‌ها و انتقال آن به عوامل آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی را دارد و از این طریق سبب مقاومت بدن در تنش گرمایی می‌شود و امکان فعالیت متابولیکی و تولیدی زنبورهای پرستار را بیش‌تر می‌کند (۶). علاوه برنقش آنتی‌اکسیدانی، ویتامین C در ساختن ناقل‌های عصبی به‌ویژه ساختن کته کول آمین‌ها و در دوزهای زیاد در ساختن استیل کولین و هم‌چنین عملکرد گیرنده استیل کولین نقش دارد (۱۷). با تاثیری که ویتامین C بر ناقل‌های عصبی دارد فعالیت زنبور افزایش می‌یابد. بادادن شربت حاوی ویتامین C به‌ویژه در دوزهای ۲۰۰۰ میلی‌گرم و بالاتر، مشاهدات میدانی نشان داد که فعالیت زنبورها افزایش می‌یابد. افزایش فعالیت زنبور با مصرف انرژی همراه است، با بیش‌تر شدن سطح فعالیت زنبورهای پرستار تحت تنش گرمایی ذخایر بدن صرف تامین انرژی می‌شود و زنبور پرستار

با کاهش وزن رو به رو می‌شود (۱۸). هر چند با توجه به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن توانایی زنبور و مقاومت آن در برابر تنش افزایش می‌یابد، ولیکن این موضوع سبب بیش‌تر شدن فعالیت زنبور پرستار می‌شود. در پژوهش کنونی مشاهدات میدانی نشان داد که زنبورهای دریافت‌کننده دوزهای ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در لیتر شربت در کف کندو و دیواره‌ها تجمع خیلی کم‌تری دارند و بیش‌تر روی قاب‌ها فعالیت دارند. هر چند وزن بدن زنبورها تغییرات معنی‌داری نشان داد، ولیکن درصد پروتئین و چربی بدن تحت تاثیر دوزهای مختلف ویتامین C قرار نگرفت. به‌نظر می‌رسد پروتئین و چربی بدن در افزایش و کاهش وزن زنبورها به یک میزان ذخیره یا مصرف شده است. این یافته با گزارش Andi و Ahmadi که مصرف ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C سبب افزایش درصد پروتئین بدن زنبورها شده (۱۳) مغایرت داشت. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن زنبورهای پرستار تغذیه شده با شربت حاوی ویتامین C افزایش یافت. ویتامین C یک آنتی‌اکسیدان مهم محلول در آب است که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را خنثی کرده و استرس اکسیداتیو ناشی از تنش گرمایی را کاهش دهد (۱۹). این ویتامین به‌دلیل محلول بودن در آب می‌تواند هم بخش داخلی و هم بخش خارجی غشاهای پلاسمایی سلول‌ها را از آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت کند و مانند یک خازن عمل کند و الکترون‌های مازاد را از رادیکال‌های آزاد مانند رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید بگیرد و مانع از انتقال آن به چربی‌های غشایی و پراکسید شدن آن‌ها شود (۲۰، ۲۱). مطالعات قبلی نشان داد که مکمل غذایی ویتامین C به‌طور معنی‌داری بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن زنبورها و کاهش میزان مرگ و میر در زمستان اثر دارد (۶، ۱۳). با افزایش دوز ویتامین C ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن زنبورهای پرستار افزایش یافت، ولیکن متناسب با افزایش دوز افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی روی نداد. دلیل این مشاهده می‌تواند به افزایش یافتن شدید فعالیت زنبورها به ویژه در دوزهای بیش‌تر از ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در لیتر شربت مربوط باشد. با افزایش فعالیت زنبورها ویتامین C حاوی الکترون‌های مازاد می‌شود و در اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی این حالت ویتامین C قدرت آنتی‌اکسیدانی و احیاکنندگی نشان نمی‌دهد. البته شایان ذکر است در بدن زنبور و حشرات سیستم بازگردانی ویتامین C از حالت اکسید به حالت احیاء به صرف انرژی و کمک NADPH وجود دارد (۱۰). وسعت تخم‌گذاری ملکه در کلنی‌های گروه شاهد کم‌ترین سطح را داشت که دلیل آن به کم‌شدن فعالیت زنبورها بر روی قاب‌ها و کاهش تولید ژل رویال برای تغذیه لاروها و ملکه مربوط می‌باشد. در ساعت ۱۴ گرمای کندوها در حدی زیاد بود که بیش‌تر جمعیت زنبورها از روی قاب‌ها به کف کندو و دیواره‌ها و زیر در کندو رفته بودند. دلیل این رفتار کم کردن گرمای ساطع شده از بدن آن‌ها بر روی قاب‌های حاوی نوزادان و ایجاد عایق برای جلوگیری از ورود گرما به درون کندو می‌باشد (۴). از طرفی جمعیت زیادی از زنبورهای کارگر مشغول آوردن آب از محل آبگیر بودند. دما محیطی تا ۳۲ درجه سلسیوس مشکلی برای زنبور در پرورش نوزادان ایجاد نمی‌کند و با آوردن آب و تبخیر و حرکات بال شرایط دمایی مناسب را ایجاد می‌کند (۵، ۳). در شرایط تنش گرمایی که در زنبور در دمای محیطی بالاتر از ۳۴ درجه سلسیوس شروع می‌شود آب‌آوری و حرکات بال نمی‌تواند سبب خنک کردن منطقه پرورش نوزادان شود به‌همین دلیل زنبورها به کف کندو و دیواره‌ها می‌روند تا دمای بدن آن‌ها سبب افزایش دمای منطقه پرورش نوزادان نشود و گروه کم‌تری در آن منطقه فعالیت تغذیه لاروها و عملیات خنک‌کردن محل پرورش را انجام می‌دهند (۳، ۴). کاهش تغذیه لاروها و افزایش دمای منطقه پرورش لارو سبب ایجاد تنش اکسیداتیو در لاروها می‌شود و آن‌ها را حساس به عفونت‌های باکتریایی مانند لوک اروپایی و قارچ‌ها می‌کند یا این‌که سبب تاخیر در رشد و کسب مواد مغذی لازم برای رشد بعد از پوشاندن دهانه حجره با موم می‌شود (۷). این وقایع سبب کاهش وزن زنبورهای تازه متولد شده می‌شود. سطح تخم‌گذاری ملکه زنبور عسل تحت تاثیر تغذیه، شرایط محیطی و وسعت لاروها قرار دارد. در کلنی‌های دریافت کننده ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در لیتر شربت به‌دلیل بهتر بودن شرایط آنتی‌اکسیدانی بدن و فعالیت متناسب با نیازهای کلنی (برخلاف دوز بالاتر که فعالیت خیلی شدید بود) زنبورهای کارگر و پرستار لاروها و ملکه را بهتر تغذیه کردند و با این فعالیت سبب افزایش توانایی ملکه در تخم‌گذاری شده و هم‌چنین سبب افزایش فرومون لاروها در کندو شده که خود عاملی برای افزایش تخم‌گذاری ملکه است. در کلنی زنبور عسل، ملکه توسط زنبورهای ملازم با ژل رویال تغذیه می‌شود و زنبورهای ملازم با تولید ژل رویال و خوراندن آن به ملکه شرایط تخم‌گذاری بیش‌تر را فراهم می‌کنند (۳). با وارد شدن منابع آنتی‌اکسیدانی به شربت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن این زنبورها افزایش یافته و توانسته‌اند در تعداد کافی با توان بیش‌تر به تغذیه ملکه پرداخته و سطح تخم‌گذاری را افزایش دهند. از طرفی زنبورهای پرستار با تولید ژل رویال و تغذیه شهد و گرده به لاروها، شرایط تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی (فرومون لاروها) را برای فعالیت ملکه و تخم‌گذاری بیش‌تر فراهم می‌کنند (۷). وجود فرومون لاروها ملکه را به تخم‌گذاری بیش‌تر ترغیب می‌کند و هرچه لاروها بهتر تغذیه شوند فرومون بیش‌تری تولید می‌کنند و ملکه به تخم‌گذاری بیش‌تر ترغیب می‌شود. (۳، ۶). در پژوهش کنونی درصد پذیرش لارو و تولید ژل رویال در گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C بیش‌ترین بود که دلیل آن افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن، محافظت بیش‌تر از غدد هیپوفارنژیال در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش

گرمایی و فعالیت بیش‌تر زنبورها به‌دلیل تولید و ترشح ناقل‌های عصبی می‌تواند مربوط باشد (۱۴، ۱۷، ۱۹). مشاهدات میدانی نشان داد که جمعیت زنبورهای پرستار احاطه‌کننده فنجانک‌های حاوی لارو طی ساعات اولیه معرفی در گروه شاهد کم‌تر می‌باشد هر چند زمان معرفی تیرک‌ها اواخر روز انجام می‌شد. برای خنثی‌شدن اثرات تنش گرمایی در بدن زمان زیادی لازم است و افزودن ویتامین C به شربت به زنبورها در بازیافتن شرایط نامتعادل ایجاد شده در بدن بر اثر تنش گرمایی کمک کرد و در کلنی‌های دریافت‌کننده ویتامین C غالباً تیرک‌ها پوشیده از زنبورهای پرستار بود. هرچه پوشش زنبور بر روی تیرک‌ها بیش‌تر باشد درصد پذیرش و مقدار تولید ژل رویال افزایش می‌یابد. هر چند انتظار می‌رفت ترکیب ژل رویال تحت تاثیر مقدار تولید آن قرار گیرد، ولی آنالیز آماری داده تغییر معنی‌داری بین ترکیبات شیمیایی اندازه‌گیری شده ژل رویال نشان نداد. افزودن دزهای بیش از ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در لیتر شربت سبب افزایش رفتار نیش زنی و تهاجمی زنبورها شد. دلیل این مشاهده، افزایش تحریک‌پذیری زنبورها با مصرف ویتامین C است. دوزهای زیاد ویتامین C با تاثیر بر تولید و ترشح ناقل‌های عصبی به‌ویژه کته کول‌آمین‌ها (Catecholamines) و استیل کولین (Acetylcholine) سبب بیش‌تر شدن ارتباطات سیناپسی در سیستم‌عصبی زنبورعسل و افزایش فعالیت و تحریک‌پذیری آن می‌شود (۱۴، ۱۷). از مکمل ویتامین C در شربت برای تغذیه زنبور عسل در مناطقی که تردد انسان و دام‌ها زیاد است باید با احتیاط استفاده شود و از دزهای بالای ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر شربت استفاده نشود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین C به هر لیترشربت در شرایط تنش گرمایی بر تخم‌گذاری ملکه و وضعیت آنتی‌کسیدانی بدن زنبورهای پرستار موثر است و سبب بهبود پذیرش لارو پیوند شده و مقدار تولید ژل رویال می‌شود. افزودن مقادیر بیش از ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر لیتر شربت سبب افزایش رفتار تهاجمی می‌شود و درمناطق مسکونی و دامی استفاده از دزهای بالاتر توصیه نمی‌شود. در پژوهش‌های آینده پیشنهاد می‌شود اثر مکمل ویتامین C برطول‌عمر زنبورهای کارگر در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای بررسی شود. هم‌چنین اثر افزودن مکمل ویتامین C بر تولید زهر زنبور عسل مطالعه شود.

منابع

1. **Shahrestani, N., 2016.** Honey Bee Breeding. Sepehr publication. Tehran, Iran. 453 p. (In Persian).
2. **Ebadi, R. and Ahmadi, A.A., 2016.** Honey Bee Culture. Arkan Danesh publication. Isfahan, Iran. 616 p. (In Persian).
3. **Lipiński, Z., 2019.** Honey Bee Nutrition and Feeding. Northern publication. London, UK. 312 p.
4. **Zhao H., Guilin Li., Dezheng G., Han L. and Qingxin L., 2021.** Response mechanisms to heat stress in bees. Apidologie. 52 (2): 388-399. DOI: 10.1007/s13592-020. 00830-w.
5. **Kühnholz, S. and Seeley, T.D., 1997.** The control of water collection in honey bee colonies. Behavioral Ecology and Sociobiology. 41 (1): 407-422. DOI: 10.1007/s002650050402.
6. **Farjan, M., Dmitryjuk, M.G., Lipinski, Z., Biernat-Lopienska E. and Zóltowska, K., 2012.** Supplementation of the honey bee diet with vitamin C: The effect on the antioxidative system of Apis *mellifera carnica* brood at different stages. Journal of Apicultural Research. 51 (3): 263-270. DOI: 10.3896/IBRA.1.51.3.07
7. **Bryś, M.S., Skowronek, P. and Strachecka, A., 2021.** Pollen Diet-Properties and Impact on a Bee Colony. Insects. (9)12: 782-798. DOI: 10.3390/insects12090798.
8. **Brodschneider, R. and Crailsheim**, **K., 2010.** Nutrition and health in the honeybee (Review). Apidologie, 41: 278-294. doi10.1051/apido/2010012.
9. **DeGrandi-Hoffman, G., Lucas, T., Gronenberg, W. and Caseman, D., 2008.** Brains and brain components in African and European honeybees (Hymenoptera: Apidae)-a volumetric comparison. Journal of Apiculture Research. 47: 281-285.
10. **Lykkesfeldt, J. and Tveden-Nyborg,** P., 2019. The Pharmacokinetics of Vitamin C. Nutrients. 11(10): 2412. DOI: 10.3390/nu11102412.
11. **Zahra, A. and Talal, M., 2015.** Impact of pollen supplements and vitamins on the development of hypopharyngeal glands and brood area in honey bees. Journal of Apicultural Science. 52 (2): 5-12.
12. **Li, X., Ma, W., Shen, J., Long, D., Feng, Y. and Su, W., 2019.** Tolerance and response of two honeybee species *Apis cerana* and *Apis mellifera* to high temperature and relative humidity. PLoS ONE. 14(6): e0217921. DOI: 10.1371/journal.pone.0217921.
13. **Andi, M.A. and Ahmadi, A., 2014.** Influence of vitamin C in sugar syrup on brood area, colony population, body weight and protein in honeybees. International Journal of Biosciences, 4: 32-36. DOI: 10.12692/ijb/4.6.32-36.
14. **Hamrahi, A., Movahedi Fazel, M., Moarefi, M. and Eila**, **N., 2022.** Combined effects of edible tryptophan and ascorbic acid on some physiological, biological and behavioral parameters on workers of the Iranian honey bee, *Apis mellifera meda* L. Iranian Journal of Plant Protection Science. 53(1): 11-26. DOI: 10.22059/ijpps.2022.309403.1006950
15. **AOAC. 2005.** Official Methods of Analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. USA.
16. **Benzie, I.F. and Strain, J.J., 1996.** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay Analytical Biochemistry. 239 (1): 70-76. DOI: 10.1006/abio.1996.0292.

17. **Coker, S.J., Smith-Díaz, C.C., Dyson, R.M. and Vissers, M.C.M., 2022.** Berry MJ. 2022. The Epigenetic Role of Vitamin C in Neurodevelopment. International Journal of Molecular Science. 23(3): 1208. DOI: 10.3390/ijms23031208.
18. **Arrese, E.L. and Soulages, J.L., 2010.** Insect fat body: Energy, metabolism, and regulation. Annual Review of Entomology 55: 207-225.
19. **Verma, R.S., Mehta, A. and Srivastava, N., 2007.** In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: attenuation by antioxidant vitamins. Pesticide Biochemistry and Physiology, 88: 191-196. DOI: 10.1016/j.pestbp.2006.11. 002.
20. **Bindhumol, V., Chitra, K.C. and Mathur, P.P., 2003.** BisphenolA induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats. Toxicology, 188: 117-124. DOI: 10.1016/S0300- 483X (03)00056-8
21. **Bendich, A., 1990.** Antioxidant Micronutrients and Immune Responses, Micronutrients and Immune Functions. New York Academy of Sciences, New York. 175 p.