

## تأثیر سطوح گوناگون ویتامین C بر میزان تخم گذاری ملکه و پروتئین بدن زنبوران کارگر در کلنی های زنبور عسل (*Apis mellifera* L.)

اردشیر احمدی<sup>۱</sup>، غلامعلی نهضتی پا قله<sup>۲\*</sup>، محمد امیری زندی<sup>۳</sup> و سعید عباسی<sup>۴</sup>  
۱. کارشناس ارشد و استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، ایران، ۲ و ۴. استادیار و دانشجوی  
کارشناسی ارشد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران  
(تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۸-تاریخ تصویب: ۹۲/۲/۱۲)

### چکیده

نقش ویتامین ها در تغذیه زنبور عسل به ویژه در مواقعی که تغذیه کمکی با شکر یا جایگزین های گرده مطرح می گردد اهمیت دارد. به همین منظور تأثیرات سطوح گوناگون ویتامین C بر میزان تخم گذاری ملکه و پروتئین بدن زنبوران کارگر مورد پژوهش قرار گرفت. در این آزمایش کلنی های استفاده شده از نظر جمعیت (۵ قاب) و ملکه همسن، یکسان سازی شدند و همراه با شربت شکر (۱:۱) در سه سطح ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۶۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم شربت و گروه شاهد که فقط شربت شکر مصرف می کردند، مقایسه شدند. عملیات صحرایی در مدت ۶۰ روز از دهم اردیبهشت ماه تا دهم تیرماه (۴۵ روز تغذیه با شربت ویتامینه و ۱۵ روز بعد از مصرف) انجام گرفت. میزان تخم گذاری ملکه با استفاده از کادر تقسیم شده به مربع هایی با ابعاد ۵×۵ سانتی متر و پروتئین بدن براساس درصد وزن بدن اندازه گیری شد. نتایج آنالیز آماری نشان داد که بین تیمارها از نظر میزان تخم گذاری تفاوت معنی داری وجود داشت ( $P < 0/05$ ). بیشترین میزان تخم گذاری ملکه مربوط به تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم شربت (۹۰۴۹ سانتی متر مربع) بود و کمترین میزان تخم گذاری را تیمار شاهد (۴۸۴۸ سانتی متر مربع) داشت. بررسی میانگین درصد پروتئین بدن زنبوران کارگر تغذیه شده با سطوح گوناگون ویتامین C نشان داد که تیمارها با یکدیگر تفاوت معنی داری داشتند ( $P < 0/05$ ). بالاترین درصد پروتئین بدن در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم شربت (۵۷/۴۵ درصد) بود و کمترین میزان را تیمار ۴۰۰۰ میلی گرم ویتامین در کیلوگرم شربت (۴۷/۵۰ درصد) داشت. با توجه به نتایج به دست آمده می توان گفت افزودن ۲۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم به تغذیه بهاره (شربت ۵۰ درصد شکر) سبب افزایش تخم گذاری ملکه و پروتئین بدن زنبوران کارگر می گردد.

**کلیدواژگان:** پروتئین بدن، تخم گذاری ملکه، زنبورعسل، ویتامین C.

### مقدمه

کم شدن فعالیت تخم گذاری ملکه است که آن هم فقط از طریق تغذیه مصنوعی زنبورها امکان پذیر است. ویتامین ها از مواد ضروری برای رشدونمو و سلامت زنبور عسل هستند. زنبور عسل در مواقعی که از غذای طبیعی خود یعنی شهد و گرده گل ها تغذیه می کند، به دلیل تازگی و تنوع شهد و گرده گل ها از نظر تأمین مواد ویتامینی با کمبود مواجه نمی شود، ولی زمانی که تغذیه تکمیلی مطرح می شود و زنبورداران با استفاده از

میزان تخم گذاری ملکه افزون بر طول روز و شرایط آب و هوایی به مقدار شهد و به خصوص به مقدار گرده ای که زنبورها وارد کندو می کنند، بستگی دارد (Somerville, 2005). کمیاب شدن گل های شهدزا و گرده دار در طبیعت می ، به طور مستقیم بر ملکه اثر منفی می گذارد و به کاهش تخم گذاری ملکه می انجامد. در چنین وضعیتی بزرگترین وظیفه زنبوردار مقابله با

تکمیلی، مواقعی که از مواد پروتئینی حرارت‌دیده یا کهنه (انبارشده) و همچنین شکر که تقریباً فاقد ویتامین است، استفاده می‌شود، تأمین این ویتامین به صورت مکمل مطرح خواهد بود. پژوهش‌های متعددی در زمینه ویتامین C انجام شده است، اما در کشور ما هنوز این ویتامین برای موارد فوق چندان به کار گرفته نمی‌شود و برای توسعه و ترویج مصرف ویتامین C، تحقیقات تکمیلی ضروری است. سطوح بسیار متفاوتی از ویتامین C در مطالعات به کار رفته است، ولی با توجه به نتایج گوناگون هنوز سطح بهینه گزارش نشده است، به‌ویژه بررسی تأثیر این ویتامین بر ذخیره پروتئینی بدن در آزمایش‌های گذشته مطرح نشده است. در حالی که با توجه به مشکلات ناشی از استرس‌های تغذیه‌ای و CCD، پروتئین ذخیره‌ای بدن بر طول عمر و سلامت زنبوران تأثیر بسزایی دارد. از این رو این پژوهش به منظور بررسی تأثیرات سطوح گوناگون ویتامین C بر میزان تخم‌گذاری ملکه و پروتئین بدن زنبوران کارگر انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه در زنبورستان شخصی واقع در منطقه کوهستانی (دامنه‌های مرکزی البرز) کیلومتر ۶۵ جاده کرج-چالوس، روستای گرماب (36°N, 51°E)، در بهار و تابستان ۱۳۹۰ انجام شد.

### آماده‌سازی کلنی‌های آزمایشی

در فروردین سال ۱۳۹۰، ۳۰ فروند ملکه خواهری همسن از اتحادیه زنبورداران ایران زمین خریداری شد و با بچه‌گیری مصنوعی از کلنی‌های مادری، این ملکه‌ها به کلنی‌های جدید معرفی شدند. طی ۳ هفته کلنی‌ها از نظر وجود ملکه و میزان غذای ذخیره‌شده بازدید شدند و پس از همسان‌سازی آن‌ها از نظر میزان تخم‌گذاری، سطح پرورش نوزاد، اندازه جمعیت، و سطح جمع‌آوری گرده و عسل تیمارهای آزمایشی روی آن‌ها اعمال گردید.

### تیمارهای آزمایشی

شربت پایه تمام کلنی‌ها شامل شکر سفید با غلظت ۵۰ درصد بود. ویتامین C به کاررفته در آزمایش، ساخت شرکت کانویت کشور کانادا به شکل پودر خشک

موادی مانند شکر سفید و جانشین‌شونده‌های گرده، زنبوران را تغذیه می‌کنند، در این‌گونه موارد از نظر ویتامین‌ها بسیار با مشکل روبرو هستند و افزودن ویتامین‌ها به غذای زنبور الزامی به نظر می‌رسد (Nehzati, 2009).

طبق تحقیقات انجام‌شده ویتامین C دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است (Katalinic *et al.*, 2004). بسیاری از محققان بر این باورند که مکمل‌های ویتامینی (A، C، و E) به کاهش رادیکال‌های آزاد می‌انجامد و از این طریق در کاهش بیماری‌ها و افزایش طول عمر در موجودات تأثیر می‌گذارد (Jacob & Sotoudeh 2002). ویتامین C و سایر ویتامین‌های محلول در آب در مقایسه با ویتامین‌های محلول در چربی در گرده به فراوانی یافت می‌شوند، ولی مقدار آنها با توجه به فصل جمع‌آوری به شدت متغیر است (DeGrandi-Hoffman *et al.*, 2008; Brodschneider & Crailsheim, 2010). به گونه‌ای که طبق گزارش‌های محققان از ۷۰ تا ۵۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم گرده تغییر می‌کند (Mattila & Otis, 2006). مصرف مکمل ویتامین C به افزایش پرورش نوزاد (Hussein *et al.*, 1979؛ Zahra & Talal, 2008؛ Javaheri, 2003؛ 1985a)، تکامل غدد شیری (Zahra & Talal, 2008)، افزایش فعالیت زنبوران چراگر، و افزایش تولید عسل (Hussein *et al.*, 1979) می‌انجامد. ناهنجاری ناپدیدشدن جمعیت کلنی‌های زنبور عسل (CCD) از سال ۲۰۰۶ به کاهش سالانه ۳۰-۴۰ درصد از کلنی‌های زنبور عسل در ایالات متحده آمریکا منجر شده است (vanEngelsdorp *et al.*, 2009). عامل CCD تاکنون ناشناخته مانده است، ولی بسیاری از محققان بر این باورند که ترکیبی از چند عامل: استفاده بی‌رویه از حشره‌کش‌ها، آفات، استرس تغذیه‌ای، و استرس ناشی از جابه‌جایی منجر به CCD می‌شوند (Huang, 2012; Oldroyd, 2007). تغذیه ناکافی به تضعیف سیستم ایمنی زنبور عسل می‌انجامد و در نتیجه اثر تشدیدکنندگی بر سایر استرس‌ها خواهد گذاشت (Huang, 2012). با توجه به اهمیت ویتامین C در سلامت کلنی‌های زنبور عسل و مخصوصاً در تغذیه

مصرف در نظر گرفته شد و در پایان، تأثیر پس از مصرف ویتامین در کارگران تا ۱۵-۲۰ روز بعد از آخرین مصرف بررسی شد.

#### تعیین پروتئین لاشه

تمامی عملیات تجزیه و آنالیز پروتئین بدن در بخش شیمی موسسه تحقیقات و سرم‌سازی رازی کرج با دستگاه کلدال به شرح زیر صورت پذیرفت:

برای این منظور مقدار ۰/۵ گرم از نمونه توزین گردید و در داخل لوله آزمایش مخصوص هضم دستگاه ریخته شد، سپس ۵ گرم کاتالیزور و ۱۵ سی‌سی اسیدسولفوریک غلیظ به نمونه اضافه شد. عمل هضم آنقدر ادامه پیدا کرد تا محلول شفاف به دست آمد. محلول فوق سرد شد، پس از اضافه کردن آب مقطر به نمونه در دستگاه کلدال قرار داده شد و برای استاندارد کردن از محلول سولفات آمونیوم ۵ درصد استفاده گردید. داده‌های به دست آمده با نرم‌افزار SAS و با رویه GLM تجزیه و تحلیل آماری شدند.

#### نتایج و بحث

##### اندازه‌گیری میزان تخم‌گذاری ملکه

با توجه به جدول ۱ در دوره اول تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. اما در دوره دوم بیشترین مقدار تخم‌گذاری ملکه مربوط به تیمار ۲ و کمترین مقدار مربوط به تیمار ۱ بود. در دوره سوم بیشترین مقدار تخم‌گذاری مربوط به تیمار ۲ بود که با تیمارهای دیگر (۱، ۳، ۴) تفاوت معنی‌داری داشت ( $P < 0/05$ ). در دوره چهارم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در سطح ۵ درصد مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

سفیدرنگ با درجه خلوص ۹۹/۹۹ درصد که شرکت شیمی دارو پارسیان وارد کشور می‌کند، با نسبت‌های مشخص در شربت حل گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۷ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱. تیمار ۱ (شاهد): شربت شکر خالص بدون ویتامین C، ۲. تیمار ۲: شربت شکر به اضافه ۲۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین C، ۳. تیمار ۳: شربت شکر به اضافه ۴۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین C؛ و ۴. تیمار ۴: شربت شکر به اضافه ۶۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین C.

##### نحوه مصرف شربت‌ها

برای تهیه شربت، شکر را در آب گرم (به نسبت ۱ به ۱) مخلوط شد و پس از سرد شدن به‌ازای هر تیمار ۳۵۰۰ میلی‌لیتر شربت (هر کلنی یک روز در میان ۵۰۰ میلی‌لیتر شربت و ۷ تکرار) در سطل مخصوص جدا گردید و بعد از آماده‌سازی تغذیه کلنی‌ها به‌صورت یک روز در میان به مدت ۴۵ روز انجام شد.

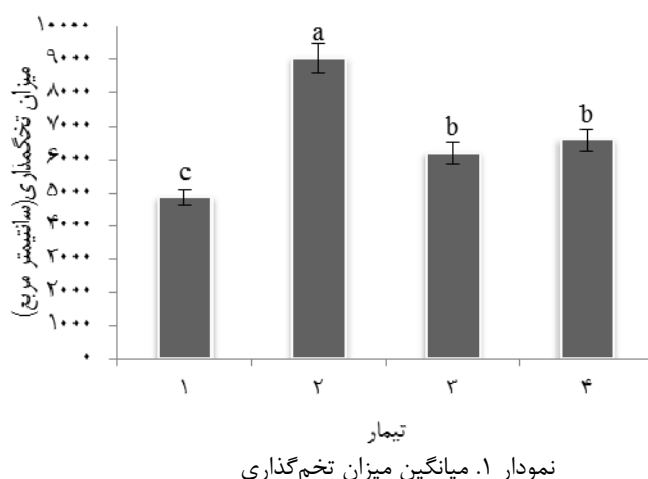
##### داده برداری و اندازه‌گیری فراسنجه‌ها

به‌منظور ارزیابی عملکرد تیمارهای آزمایشی فراسنجه‌های زیر اندازه‌گیری شد. میزان تخم، لارو، و شفیره با استفاده از کادر تقسیم‌شده به مربع‌هایی با ابعاد ۵×۵ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. همچنین به‌منظور اندازه‌گیری وزن بدن و تجزیه شیمیایی برای تعیین پروتئین لاشه، نمونه‌برداری از زنبوران گارگر جوان به‌صورت تصادفی به تعداد تقریبی ۵۰ عدد طی چهار دوره (۱۳۹۰/۲/۱۰، ۱۳۹۰/۳/۰۱، ۱۳۹۰/۳/۲۰، و ۱۳۹۰/۴/۱۰) انجام شد. آخرین نمونه‌برداری ۱۵ روز پس از قطع تغذیه با ویتامین C انجام گرفت. در ابتدای آزمایش برای بررسی تأثیر ویتامین بر کارگران جوان حدود ۲۰ روز فاصله از شروع

جدول ۱. تأثیر سطوح گوناگون ویتامین C بر تخم‌گذاری ملکه در دوره‌های گوناگون (سانتی‌متر مربع)

تیمار	دوره ۱	دوره ۲	دوره ۳	دوره ۴
تیمار ۱ (۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)	۴۳۹۳	۴۹۸۱ <sup>b</sup>	۴۹۸۲ <sup>b</sup>	۵۰۳۶
تیمار ۲ (۲۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)	۴۲۸۶	۱۰۳۷۵ <sup>a</sup>	۱۴۷۸۶ <sup>a</sup>	۶۷۵۰
تیمار ۳ (۴۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)	۴۷۱۴	۷۵۵۳ <sup>ab</sup>	۶۳۲۱ <sup>b</sup>	۶۲۱۴
تیمار ۴ (۶۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)	۴۳۹۲	۷۰۱۷ <sup>ab</sup>	۸۳۵۷ <sup>b</sup>	۶۵۸۹
SEM	۸۲۹	۱۰۶۶	۷۹۳	۵۵۳

a, b, c: حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) هستند.



کلنی شده است. طبق گزارش *Herbert et al.* (1985b) کلنی‌های زنبور عسل تغذیه‌شده با تیمارهای غذایی حاوی ۲ گرم ویتامین C در کیلوگرم شربت تعداد بیشتری نوزاد پرورش دادند.

اندازه‌گیری درصد پروتئین بدن زنبوران کارگر مقایسه میانگین تیمارها نشان داد (جدول ۲) که تیمار ۲ از نظر درصد پروتئین بدن با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد دارد. بیشترین درصد پروتئین را تیمار ۲ (۵۷/۴۵ درصد) به خود اختصاص داد و کمترین میزان مربوط به تیمار ۳ (۴۷/۵۰ درصد) بود.

باتوجه به نمودار ۱ میانگین میزان تخم‌گذاری کل دوره برای تیمارهای ۱، ۲، ۳، ۴ و ۱ به ترتیب از بیشترین به کمترین ۹۰۴۹، ۶۵۸۹، ۶۲۰۰ و ۴۸۴۸ سانتی‌متر مربع است که از نظر آماری بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P < 0.05$ ). تیمار ۲ از نظر میزان تخم‌گذاری ملکه با تیمارهای ۳، ۴ و ۱ تفاوت معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). نتایج حاصل با نتایج دیگر محققان، *Hussein et al.*, 1979، 1985b، *Herbert et al.*، 2003 و *Javaheri*، 2003 مطابقت دارد.

*Hussein et al.* (1979) نشان دادند که تغذیه ۰/۵ درصد ویتامین C همراه شربت شکر (۱:۱) موجب افزایش تخم‌گذاری و افزایش قابل توجه در جمعیت

جدول ۲. تأثیر سطوح گوناگون ویتامین C بر درصد پروتئین بدن زنبوران کارگر

میانگین درصد پروتئین بدن	تیمار
۵۰/۳۵ <sup>bc</sup>	(۰)۱
۵۷/۴۵ <sup>a</sup>	۲ (۲۰۰۰ میلی‌گرم در گیلوگرم)
۴۷/۵۰ <sup>c</sup>	۳ (۴۰۰۰ میلی‌گرم در گیلوگرم)
۵۳/۴۰ <sup>ab</sup>	۴ (۶۰۰۰ میلی‌گرم در گیلوگرم)
۱/۶۴	SEM

a-b-c: حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) است.

تیمار گرده گل ۶۳/۴۷ درصد و تیمار مکمل گلوتن+گرده گل ۶۷/۷ درصد گزارش کرد. به نظر می‌رسد در اثر تخم‌گذاری زیادی که تیمار ۳ داشته است سطح پروتئین آن در کل به دلیل پرورش نوزاد تحت تأثیر قرار گرفته باشد.

مقادیر به‌دست‌آمده از این آزمایش با نتایج *Nehzati* (2009) و *Somerville* (2005) مطابقت دارد. (2005)

*Nehzati* (2009) جیره‌های حاوی گلوتن ذرت، مخمر نانویی، و دانه سویا را ارزیابی کرد، این جیره‌ها که همراه با ۱۰ درصد گرده بودند، پروتئین بدن زنبوران را افزایش دادند، در این پژوهش درصد پروتئین لاشه ۴۳/۲۳ تا ۷۰/۰۵ درصد گزارش شده است.

*Abbasian* (1997) میانگین پروتئین لاشه برحسب وزن خشک را برای تیمار عسل (شاهد) ۶۲/۷۰ درصد،

زمستان‌گذرانی اهمیت فوق‌العاده‌ای دارد. در بهار و اوایل تابستان میزان پروتئین بدن کمتر از سایر فصول است. Otis *et al.* (2004) گزارش کردند هرچقدر پروتئین و چربی ذخیره‌شده در بدن زنبورعسل بیشتر باشد، در دوره زمستان‌گذرانی و طی‌کردن فصل سرما از ذخیره انرژی بیشتری برخوردار خواهند بود و زمستان را با تلفات کمتری پشت سر خواهند گذاشت.

#### نتیجه‌گیری کلی

با توجه به فراسنجه‌های اندازه‌گیری‌شده و تجزیه و تحلیل تمامی نتایج به‌دست‌آمده، نتیجه‌گیری می‌شود که به احتمال قوی افزودن ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در شربت شکر می‌تواند به افزایش میزان تخم‌گذاری ملکه و پروتئین بدن زنبوران کارگر منجر شود و از آنجاکه ذخیره پروتئین بدن برای پرورش نوزاد و رشد و فعالیت غدد شیری لازم است، در مواقع تغذیه کمکی کلنی‌های زنبور عسل با مواد قندی (شکر سفید) و جیره‌های مصنوعی، بهتر است زنبورداران برای افزایش تخم‌گذاری ملکه و ترمیم و بازسازی کلنی‌های ضعیف از ویتامین C محلول در شربت شکر با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم استفاده کنند.

Somerville سطح پروتئین لاشه کارگران را ۳۰ تا ۶۰ درصد اعلام کرد و کمتر از ۴۰ درصد را نشانه سوء تغذیه و استرس کمبود پروتئین می‌داند. با توجه به اینکه ویتامین C با تأثیر گذاشتن بر عوامل فیزیولوژیکی متعددی در بدن باعث بهبود عملکرد متابولیسم و بیوسنتز مواد لازم می‌شود، می‌تواند در تکامل و رشد بیشتر اندام‌ها و بافت‌ها نقش بسزایی داشته باشد. از فعالیت‌های وابسته به ویتامین C، سنتز کلاژن، کارنیتین، نوروترانسمیترها است، ویتامین C به‌عنوان کوفاکتور آنزیمی در متابولیسم برخی از اسیدهای آمینه اهمیت دارد (MedlinePlus)، از این رو می‌تواند در بهبود ذخایر پروتئینی بدن و تکامل غدد ترشح‌کننده ژل رویال (هایپوفارینژال) دخالت داشته باشد.

Amdam *et al.* (2004) گزارش کردند که درصد پروتئین بدن زنبورها با توجه به فصل‌های سال متغیر است. آخرین نسل تولیدشده زنبورهای کارگر در اواخر فصل تابستان ویژگی‌های فیزیولوژیکی و طول عمر گوناگون دارند و میزان سطح پروتئین در بدن و همولنف آنها در مقایسه با سایر زمان‌ها خیلی بالاتر است. بالا رفتن میزان پروتئین بدن زنبورها در افزایش طول عمر آنها، شروع جستجوگری زنبورهای صحرارو، و

## REFERENCES

1. Abbasian, A. R. (1997). Effects of various protein sources on dry matter, carcass protein, fat and longevity of honeybee. *Proceeding of 4th Iranian Honeybee Seminar*, (In Farsi)
2. Amdam, G.V., Hartfelder, K., Norberg, K., Hagen, A. & Omholt, S.W. (2004). Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): a factor in colony loss during overwintering? *Journal of Economic Entomology*, 97, 741-747.
3. Brodschneider, R. & Crailsheim, K. (2010). Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41, 278-294.
4. DeGrandi-Hoffman, G., Wardell, G., Ahumada-Segura, F., Rinderer, T., Danka, R. & 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*, 47, 265-270.
5. Heather, R. & Gard, W. (2006). The effects of pollen availability during larval development on the behaviour and physiology of spring-reared honey bee workers. *Apidologie*, 37, 533-546.
6. Herbert, Jr E., Vanderslice, J. & Higgs, D. (1985a). Effect of dietary vitamin C levels on the rate of brood production of free-flying and confined colonies of honey bees. *Apidologie*, 16, 385-394.
7. Herbert, Jr E., Vanderslice, J. & Higgs, D. (1985b). Vitamin C enhancement of brood rearing by caged honeybees fed a chemically defined diet. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2, 29-37.
8. Huang, Z. (2012). Pollen nutrition affects honey bee stress resistance. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 5, 175-189.
9. Hussein, M.H., Abou-Ghadir, M.F., Maher Ali, A., Omar MOM. (1979). Hemolymph of honeybee worker larvae in relation to cobalt chloride and/or vitamin C, *Bee Symposium Affiliated to 3rd Arab Pesticide Conf*, Tanta Univ, 159 – 166
10. Jacob, R.A. & Sotoudeh, G. (2002). Vitamin C function and status in chronic disease. *Nutrition in Clinical Care* 5: 66-74.
11. Javaheri, S. D. (2003). Effects of different levels of vitamin C on brood rearing and honey production. *Proceeding of 5th Iranian Honeybee Seminar*. (In Farsi)

12. Katalinić, V., Milos, M., Modun, D., Musić, I. & Boban, M. (2004). Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chemistry*, 86, 593-600.
13. Mattila, HR., Otis, GW. (2006). The effects of pollen availability during larval development on the behavior and physiology of spring-reared honey bee. *Apidologie*, 37, 533-546.
14. MedlinePlus Encyclopedia Ascorbic acid.
15. Nehzati, Gh. A. (2009). *Digestibility of protein supplements in Honeybees*. Ph.D. Thesis, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj. (In Farsi)
16. Oldroyd, B. P. (2007). What's killing American honey bees? *PLoS Biology*, 5, 168.
17. Otis, G., Wheeler, D., Buck, N. & Mattila, H. (2004). Storage proteins in winter honey bees. *Apicata*, 38, 352-357.
18. Somerville, D. (2005). Fat bees, skinny bees—a manual on honey bee nutrition for beekeepers. *Australian Rural Industries Research and Development Corporation Publication*.
19. vanEngelsdorp, D., Evans, J., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B., Frazier, M., Frazier, J., Cox-Foster, D., Chen, Y. (2009). Colony collapse disorder: a descriptive study. *PLoS One*, 4, e6481.
20. Zahra, A. & 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.