pISSN: 0259-9996 – eISSN: 2783-3968

Journal of Entomological Society of Iran

2026, 46 (2), 227–238

Research Article

تأثیر افزودن کومبوچا در شربت شکر روی غدد موم ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی کلنی‌های زنبورعسل (*Apis mellifera* L.)

عطاالله رحیمی [1] و صالح صالحی [1]

[1]. بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران

چکیده: مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر افزودن غلظت‌های مختلف کومبوچا در شربت شکر روی غدد موم‌ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی زنبورها و تحلیل اقتصادی آن بر عملکرد کلنی‌های زنبورعسل در شرایط اقلیمی استان کردستان طی بازه‌ی زمانی ۱۴۰۲ الی ۱۴۰۴ انجام شد. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و هفت تکرار به مرحله اجرا درآمد. تیمارها شامل تیمار شاهد، تیمارهای حاوی غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد در لیتر کومبوچا به صورت محلول در شربت شکر (یک‌به‌یک) بودند. در مطالعه‌ی حاضر، صفات اندازه غدد موم‌ساز، اندازه غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی کلنی‌های زنبورعسل تیمارهای آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار روی صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود (p <۰/۰۱). براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین میانگین اندازه غدد موم‌ساز (۱۱۴۲/۸۶ میکرون)، اندازه غدد هیپوفارنژل (طول (۱۵۳/۰۸) و عرض (۹۳/۹۲) میکرون)، تولید زهر (۰/۱۴ گرم) و توان زمستانگذرانی(۰/۶۲) مربوط به زنبورهای تیمار کومبوچای ۱۰ درصد در لیتر و کمترین آنها مربوط به زنبورهای تیمار شاهد بود. تحلیل اقتصادی اثر کومبوچا بر عملکرد کلنی‌های زنبورعسل براساس صفات تولیدعسل و جمع‌آوری گرده نشان داد افزودن کومبوچا در تغذیه زنبورها منجر به افزایش سود حاصل از فروش فرآورده‌های هر کلنی (عسل و گرده) در مقایسه با تیمار شاهد شد. براساس نتایج به‌دست آمده، تیمار کومبوچا ۱۰ درصد در لیتر با بالاترین مقدار سود (۱۰۳۱۵۷۵۰۰ ریال) به ازای هر کندو و ۵۲۷۴۷۰۱۰ ریال سود در مقایسه با تیمار شاهد به عنوان بهترین تیمار شناخته شد. بنابراین، با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان تغذیه کلنی‌ها را با کومبوچا ۱۰ درصد در لیتر برای بهبود صفات عملکردی کلنی‌های زنبورعسل و افزایش بازده اقتصادی زنبورستان‌ها به‌خصوص در دوره‌های کمبود شهد و گرده در طبیعت توصیه کرد.

کلمات کلیدی: زنبورعسل، تغذیه، کومبوچا، صفات عملکردی، استان کردستان

اطلاعات مقاله

دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۳

پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۰۲

انتشار: ۱۴۰۵/۰۲/۱۱

دبیر تخصصی: نجمه صاحب‌زاده

نویسنده مسئول: عطاالله رحیمی

ایمیل: ata.rahimi@areeo.ac.ir

DOI: https://doi.org/10.61186/jesi.46.2.8

مقدمه

زنبورعسل (*Apis mellifera* L.) برای ادامه حیات، فعالیت و رشدونموی خود، نیاز به شش گروه مواد مغذی از جمله کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، چربی‌ها، مواد معدنی، ویتامین‌ها و آب دارد که در صورت غنی بودن طبیعت، این مواد را از طریق جمع‌آوری شهد و گرده از گل‌های گیاهان زراعی، باغی، مرتعی و جنگلی در طبیعت به‌دست می‌آورد (Salehpor *et al.*, 2024). کمیاب شدن گیاهان شهدزا و گرده‌زا به علت شرایط خاص آب و هوایی در طبیعت و تأثیرات منفی تغییرات اقلیمی و ریزگردها در سال‌های اخیر روی گلدهی گیاهان شهدزا و گرده‌زا، منجر به کاهش تخمریزی ملکه، کاهش رشد جمعیت، کاهش طول عمر زنبورها، کاهش مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها، کاهش ذخیره مواد غذایی کندو و در نهایت منجر به ضعیف شدن و کاهش سلامت کلنی‌های زنبورعسل شده است (DeGrandi-Hoffman *et al.*, 2008; Ahmadi, 2014; Tosi *et al.*, 2017). بنابراین، تغذیه مناسب برای رشدونموی زنبورها، سلامت و بقای کلنی‌های زنبورعسل بسیار حیاتی است (Brodschneider & Crailsheim, 2010; Avni *et al.*, 2014; Kalateh *et al.*, 2025). مطالعات نشان داده است حتی گاهی گرده گل همه نیازهای کلنی را در زمان وفور گل در طبیعت به علت کمبودهای تغذیه‌ای تامین نمی‌کند (DeGrandi-Hoffman *et al.*, 2016, 2018). بنابراین، نیاز به تغذیه تکمیلی برای غلبه بر دوره‌های کمبود شهد و گرده در طبیعت و حمایت از توسعه کلنی در شرایط استرس‌زا ضروری به نظر می‌رسد.

کومبوچا (Kombucha)، یک نوشیدنی غیر الکی است که از تخمیر چای شیرین از طریق همزیستی باکتری‌ها و مخمرها به‌دست می‌آید و به خاطر داشتن ترکیبات خاص پروتئینی، ویتامینی، اسیدهای چرب، اسیدهای آمینه، مواد معدنی، ترکیبات پلی‌فنولیک و خواص سودمندش از قبیل فعالیت‌های ضدمیکروبی، ضد ویروسی و خواص آنتی اکسیدانی و آنتی بیوتیکی خاص، برقراری تعادل در جمعیت فلور میکروبی دستگاه گوارش و جدیداً دارای خواص پروبیوتیکی به عنوان یک مکمل تغذیه‌ای ارزشمند در طیف وسیعی از موجودات استفاده شده و نتایج فرآسودمند آن تایید شده است (Kumari *et al.*, 2011; De Vadder *et al.*, 2014; Ghosh

© 2025 by Author(s), Published by the Entomological Society of Iran
This Work is Licensed under Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International Public License.

et al., 2016; Saha *et al.,* 2016; Chakravorty *et al.*, 2019; Sengun & Kirmizigul, 2020). این نوشیدنی ارزشمند در جیره غذایی دام و طیور استفاده شده و باعث بهبود وضعیت سلامت و افزایش عملکرد آنها شده است و اخیراً، به عنوان یک پروبیوتیک و خوراک عملکردی ارزشمند در جیره غذایی دام و طیور استفاده و گزارش شده که بر عملکرد دستگاه گوارش آنها تأثیر مثبت داشته و جمعیت میکروبی دستگاه گوارش را متعادل و عملکرد روده را بهبود بخشیده است (Adriani *et al.,* 2011; Kabiri *et al.*, 2014; Sengun & Kirmizigul, 2020; Salehi *et al.,* 2023). پژوهشگران معتقدند که شربت کومبوچا به خاطر خواص و ترکیبات مفید و ارزشمندش، یک مکمل غذایی کامل به‌حساب می‌آید و به‌خاطر داشتن خواص آنتی اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضد ویروسی و pH اسیدی می‌تواند در درمان بسیاری از میکروب‌های بیماری‌زا در بدن موجودات زنده از جمله زنبورعسل موثر باشد (Feizabadi *et al.,* 2020; Salehi *et al.,* 2023). مطالعات نشان داده که تغذیه کلنی‌ها با شربت شکر حاوی مواد اسیدی کننده کمک زیادی در کاهش pH دستگاه هاضمه زنبورها کرده و مانع رشد و توسعه میکروب‌های بیماری زا در دستگاه گوارش آنها می‌شود. تأثیرات ضد میکروبی مواد اسیدی کننده روی باکتری *Paenibacillus larvae* که عامل بیماری لوک آمریکایی است، نشان داده که استفاده از مواد اسیدی می‌تواند روش جایگزین مناسبی برای کنترل این بیماری باشد (Fuselli *et al.,* 2012). از این رو، ترکیباتی که تامین کننده مواد ضد میکروبی هستند، می‌توانند نقش آنتی بیوتیک و پروبیوتیک را در زنبورعسل برعهده داشته و از توسعه بیماری‌های مهمی از جمله بیماری نوزما در زنبورها جلوگیری نمایند.

کومبوچا حاوی ترکیبات پلی فنولیک و اسیدهای ارگانیک زیادی از جمله اسید استیک، اسید گلوکورونیک، اسید لاکتیک، اسید کربنیک، اسید فولیک، اسید اگزالیک، اسید مالیک، اسید بوتیریک، اسید نوکلئیک، آسکوربیک، اسـید پروپیونیک، اسید سوکسینیک و اسید سیتریک می‌باشد که وجود این ترکیبات پلی فنولیک و اسیدهای ارگانیک باعث ایجاد خواص مهمی از جمله خواص آنتی اکسیدانی، ضدباکتریایی، بهبود اکسیداسیون متابولیسمی، تقویت سیستم ایمنی، اثرات ضد سرطانی، خواص آنتی بیوتیکی علیه باکتری‌ها، ویروس‌ها و مخمرها، تحریک سیستم غده‌ای بدن، کاهش استرس و اضطراب و خاصیت سم زدایی در کومبوچا می شوند (Dufresne *et al.,* 2000; Brodschneider *et al.,* 2009; Hodgson, 2011; Jayabalan *et al.,* 2010; Rahimi & Salehi, 2025). همچنین، در کومبوچا ترکیبات مهم دیگری از قبیل پروتئین‌ها، اسید آمینه‌های ضروری (مثل ایزولوسین، لوسین، لیزین، متیونین، فنیل آلانین، ترئونین، والین وتریپتوفان)، اسید آمینه های غیر ضروری (مثل آلانین، آرژنین، اسید اسپارتیک، سیستئین، اسید گلوتامیک، گلاسین، هیستیدین، پرولین، سرین و تیروزین)، ویتامین‌های محلول در آب مثل ویتامین B1 ، B2، B3، B6، B12 و ویتامین C و مواد معدنی ضروری مثل سدیم، پتاسیم، فسفر، کلسیم، کلر، مس، آهن، منگنز، نیکل، سولفور و روی و قندهای ساده (مثل گلوکز و فروکتوز) وجود دارد که برای موجودات زنده از جمله زنبورعسل ضروری هستند (Rahimi & Salehi, 2025).

مطالعات بسیار محدودی روی اثر استفاده از کومبوچا روی زنبورعسل در ایران و دنیا انجام شده است. در یک پژوهشی، اثرات سطوح مختلف کومبوچا روی صفات عملکردی کلنی‌های زنبورعسل (*Apis mellifera*) در استان آذربایجان غربی بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که کومبوچا روی صفات عملکردی و درصد پروتئین و چربی لاشه زنبورها به طور معنی‌داری (p <۰/۰۱) موثر است. پس از اجرای این پژوهش، مصرف کومبوچا پنج درصد در لیتر به صورت محلول در شربت شکر برای افزایش صفات عملکردی و تولیدمثلی کلنی‌های زنبورعسل پیشنهاد شد (Rajabi, 2025). در مطالعه دیگری، محققان مصرف مکمل آب ماست و توده قارچی کومبوچا در جیره پروتئینی زنبورعسل و تأثیر آن بر تخمریزی ملکه و وزن بدن زنبورهای کارگر را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که مصرف مکمل آب ماست و توده قارچی کامبوچا در جیره پروتیئنی زنبورها به طور معنی‌داری (p <۰/۰۱) باعث افزایش جمعیت نوزادان و وزن زنبورهای کارگر نسبت به تیمار شاهد شد ولی تفاوت معنی‌داری از لحاظ تولید عسل در بین تیمارها مشاهده نشد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان دهنده این امر است که مکمل کردن آب ماست و توده قارچی کومبوچا می‌تواند جهت افزایش توان تخمریزی ملکه و همچنین افزایش سلامت کلنی‌های زنبورعسل مورد استفاده قرار گیرد (Esmailzadeh *et al.,* 2015). در بررسی دیگری، پژوهشگران گرده جمع آوری شده توسط زنبورهای عسل را با هدف بهبود وضعیت تغذیه آن به وسیله قارچ کومبوچا تخمیر و نتایج آن را مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه این محققان نشان داد که خواص و مزایای سلامتی مربوط به دانه‌های گرده هنگام تخمیر آن به وسیله قارچ کومبوچا افزایش یافت (Utoiu *et al.*, 2018).

بررسی‌ها نشان داده است دسترسی زنبورهای عسل به گرده گل به عنوان منبع اصلی تأمین کننده پروتیئن‌ها، ویتامین‌ها، اسیدهای چرب و مواد معدنی در کلنی ضروری است. اگر زنبورهای کارگر جوان مواد پروتیئنی، ویتامینی، اسیدهای چرب و مواد معدنی را مصرف نکنند بیشتر فعالیت‌های حیاتی آنها از جمله تولید ژل رویال، تولید موم، تولید زهر، توان زمستانگذرانی آنها، فعالیت چراگری و خیلی از ارگان‌های حیاتی بدن آنها دچار اختلال می‌شود (De Groot, 1952; Saffari *et al.,* 2010; Corby-Harris & Snyder, 2018; Dolezal & Toth, 2018). با توجه به اثرات مفید و تایید شده کومبوچا روی موجودات مختلف به‌خصوص در جیره‌های غذایی دام و طیور، غنی بودن آن از لحاظ پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، اسیدهای چرب آلی و مواد معدنی و همچنین مطالعه خیلی محدود تأثیر کومبوچا روی زنبورعسل به‌خصوص تأثیر آن روی صفات عملکردی، تولیدمثلی و سایر خصوصیات کلنی‌های زنبورعسل در ایران و جهان و جدید بودن موضوع در صنعت زنبورعسل، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر افزودن غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد در لیتر کومبوچا در شربت شکر روی غدد موم‌ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی زنبورها و تحلیل اقتصادی آن بر عملکرد کلنی‌های زنبورعسل در شرایط اقلیمی استان کردستان انجام شد.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان اجرای آزمایش. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر افزودن غلظت‌های مختلف کومبوچا در شربت شکر روی غدد موم ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی زنبورها و تحلیل اقتصادی آن بر عملکرد کلنی‌های زنبورعسل در شرایط اقلیمی استان کردستان طی بازه‌ی زمانی ۱۴۰۲ الی ۱۴۰۴ انجام شد.

روش و نحوی اجرای مطالعه. مطالعه حاضر روی کلنی‌های زنبورعسل زنبورستان تحقیقاتی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان واقع در ایستگاه‌های تحقیقاتی گریزه و سارال این مرکز (جدول ۱) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و هفت تکرار به مرحله اجرا در آمد. تیمارها شامل تیمار شاهد، تیمارهای حاوی غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد در لیتر کومبوچا به صورت محلول در شربت شکر (به نسبت ۱ به ۱) بودند. در سال اول مطالعه (۱۴۰۲)، کلنی‌های زنبورعسل (نژاد ایرانی) آزمایشی در زنبورستان تحقیقاتی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان واقع در ایستگاه تحقیقاتی گریزه این مرکز تهیه (شکل ۱) و سپس در اردیبهشت و خردادماه ۱۴۰۲ کلنی‌های آزمایشی از لحاظ سن ملکه (همگی دارای ملکه‌های هم‌سن خواهری)، جمعیت بالغین و نوزادان و مجدد در شهریور ماه ۱۴۰۲ نیز از لحاظ جمعیت (بالغین و نوزادان) و ذخیره عسل براساس دستورالعمل Delaplane *et al.* (2013) یکسان‌سازی شدند. برای تولید کومبوچا برپایه چای خشک (جنس ایرانی) از دستورالعمل Jayabalan *et al.* (2010) با اندکی تغییرات مطابق مواد ارائه شده در جدول (۲) در آزمایشگاه علوم دامی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان استفاده شد. لازم به ذکر است pH کومبوچای رسیده در حین برداشتن قارچ کومبوچا از داخل آن (روز ۱۲ام) و هنگام استفاده آن در کلنی‌ها اندازه گیری شد و ۳/۵ بود. در اسفند ماه سال ۱۴۰۲، کلنی‌های آزمایشی برای حصول اطمینان از زمستانگذرانی موفق آنها مورد بازدید قرار گرفتند. بعد از همسان‌سازی مجدد کلنی‌های آزمایشی از لحاظ جمعیت، از ۱۵ فروردین ۱۴۰۳ کلنی‌های آزمایشی با سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد در لیتر کومبوچا به صورت محلول در شربت شکر (به نسبت ۱ به ۱) به میزان ۰/۵ لیتر به صورت یک روز در میان طی دوره‌ای به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. این کار بعد از برداشت عسل و شروع فصل نرکشی در منطقه نیز انجام شد. در تیمار شاهد از شربت آب و شکر (به نسبت ۱ به ۱) استفاده شد. در مطالعه حاضر، صفاتی نظیر اندازه غدد هیپوفارنژل، اندازه غدد موم ساز، تولید زهر، توان زمستانگذرانی، تولید عسل و جمع آوری گرده کلنی‌های زنبورعسل تیمارهای آزمایشی در بازه زمانی ذکر شده به شرح ذیل مورد اندازه گیری قرار گرفت.

جدول ۱- مختصات جغرافیایی، دما و بارش سالیانه ایستگاه‌های تحقیقاتی در مطالعه حاضر

Table1- Geographical coordinates, annual rainfall and average temperature of research stations in the present study

Research Stations	Longitude	Latitude	Altitude	Annual rainfall (mm)	Average temperature (°C)
Gerizeh station	68° 45′ 60.60	39° 05′ 173.05	1384	425	18.4
Saral station	49° 21′ 63.60	39° 49′ 684.05	2100	343	9.3

جدول ۲: مواد لازم برای تولید کومبوچا در مطالعه حاضر (برای حجم ۱۰ لیتر کامبوچا)

Table 2: Materials required for kombucha production in the present study (for a volume of 10 liters of kombucha)

Number	Required materials	Amount/ volume
1	Water	8 L
2	Sugar	750 g
3	Dry tea (Iranian type)	50 g
4	10% starter (ready kombucha)	1 L
5	Kombucha mushroom	400 g

شکل ۱- کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه در پژوهش حاضر

Fig. 1. Honey bee colonies studied in the present study

ارزیابی صفات مورد مطالعه

تولید عسل. برای ارزیابی مقدار عسل تولیدی کلنی‌ها در فصل برداشت عسل در منطقه، وزن عسل برداشتی و باقی‌مانده در هر کندو محاسبه شد. تفاوت وزن قاب‌های عسل هر کندو قبل و بعد از استخراج عسل، میزان عسل تولیدی قاب‌ها و مجموع عسل استخراج شده از قاب‌های هر کلنی، میزان عسل تولیدی آن کلنی را تشکیل داد. برای ارزیابی وزن دقیق عسل باقی‌مانده، از روش ارزیابی سطح عسل باقیمانده روی قاب‌ها به وسیله قاب مخصوص که با سیم گالوانیزه به مسطیل ۱۰×۵ سانتی‌متر کادربندی شده بود، استفاده شد. برای تخمین عسل باقی‌مانده با استفاده از تجربیات محققین ایرانی (Yarahmadi *et al.*, 2007) و دیگر کشورها از روش تبدیل سطح به وزن، بدین ترتیب هر دسی‌متر مربع عسل در دو طرف قاب را معادل ۳۰۴ گرم عسل در نظر گرفته، استفاده شد. با قرار دادن این قاب سیم کشی شده روی هر دو طرف قاب‌های باقی‌مانده عسل در کندوها، مجموعاً سطح عسل باقی‌مانده در هر کلنی محاسبه و ثبت گردید. در پایان با مجموع عسل باقی‌مانده و برداشتی، کل عسل تولیدی هر کندو به‌دست آمده و برای آن کندو ثبت شد. ارزیابی این صفت روی تمام کلنی‌های مورد مطالعه در فصل برداشت عسل در منطقه در تابستان ۱۴۰۳ انجام شد (Rahimi *et al.*, 2023).

جمع آوری گرده. اندازه‌گیری سطح گرده ذخیره شده براساس دستورالعمل Salehipor *et al.* (2024) انجام شد. بدین ترتیب، طول و عرض یک قاب خالی به اندازه‌های ۲ سانتی‌متری درج و سپس به وسیله سیم گالوانیزه کادر بندی شد (شکل ۲). شبکه‌های مربع به‌دست آمده مساحتی برابر با ۴ سانتی‌متر داشت. با منطبق نمودن کادر تقسیم بندی شده بر روی تک تک شان‌های کلنی‌ها و شمارش تعداد شبکه‌های مربع پر از گرده، سطح گرده ذخیره شده کلنی‌ها ارزیابی شد. ارزیابی این صفت در ماه‌های اردیبهشت– خرداد سال ۱۴۰۳هر هفته یک بار به تعداد چهار بار روی کلنی‌های مورد مطالعه انجام شد.

توان زمستانگذرانی. برای ارزیابی توان زمستانگذرانی، میزان جمعیت بالغین و ذخیره عسل تک تک کندوهای مورد مطالعه در دو نوبت مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیابی نوبت اول در اواسط پاییز ۱۴۰۳ هنگام آماده سازی کلنی‌ها برای زمستانگذرانی و ارزیابی نوبت دوم در اوایل بهار ۱۴۰۴ هنگام شروع فعالیت کلنی‌ها انجام شد. پس از ارزیابی جمعیت و ذخیره عسل در پاییز (۱۴۰۳) و بهار سال بعد (۱۴۰۴)، از ذخیره عسل آن کندو در بهار نسبت به پاییز و جمعیت بهار نسبت به پاییز آن کندو نسبت گرفته و سپس میانگین آنها به عنوان توان زمستانگذرانی آن کلنی ثبت شد و همین ارزیابی برای تمام کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه انجام شد (Rahimi *et al.*, 2023).

شکل ۲– ارزیابی سطح گرده ذخیره شده کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه

Fig.2. Evaluation of stored pollen surface in the studied honey bee colonies

اندازه غدد هیپوفارنژل. برای اندازه‌گیری غدد هیپوفارنژل در خرداد ماه سال ۱۴۰۳، از هر کلنی در تیمارهای آزمایشی پنج زنبور پرستار جوان ترجیحاً از روی قاب‌های حاوی لارو یک الی دو روزه برداشته و آنها را به داخل فالکون‌های ۵۰ میلی لیتری حاوی اتانول ۹۶ درجه منتقل و سپس به آزمایشگاه انتقال داده‌شدند. در آزمایشگاه زنبورها را به مدت سه دقیقه در دمای ۲۰ – درجه سانتی‌گراد نگه داشته تا کاملاً بی حرکت شوند. برای تشریح غدد شیری از روش Suenami *et al.* (2018) با اندکی تغییرات استفاده شد. به منظور ایجاد بستری برای تشریح، مقداری پارافین جامد ذوب شده در یک ظرف پتری شیشه‌ای بزرگ (قطر دهانه ۱۰۰ میلی‌متر و ارتفاع ۱۵ میلی‌متر) ریخته، سپس ظرف پتری را در محیط آزمایشگاه قرار داده تا پارافین کاملاً به حالت جامد درآید. برای تشریح زنبورها، با کمک استریومیکروسکوپ Olympus و با استفاده از یک قیچی نوک تیز سر زنبور را از بدن جدا کرده و روی بستر تشریح طوری قرار گرفت به نحوی که قسمت جلویی آن (صورت زنبور) رو به بالا قرار گیرد. با فرو بردن یک سوزن نازک به هر یک از چشم‌های مرکب و یک سوزن به داخل حفره دهانی، سر زنبور روی بستر پارافینی تثبیت شد. شاخک‌های زنبور را با یک قیچی نوک تیز از قاعده قطع کرده و جلد سر با استفاده از یک تیغ نوک تیز و با ایجاد دو برش طولی در امتداد لبه داخلی چشم‌های مرکب، یک برش عرضی در قسمت بالای قطعات دهانی و یک برش عرضی دیگر در قسمت فرق سر شکافته شد. سپس، ۳۰ میکرولیتر بافر فسفات (کلرید سدیم ۱۳۷ میلی‌مولار، کلرید پتاسیم ۲/۷ میلی مولار، دی‌سدیم فسفات ۱۰ میلی‌مولار و مونو پتاسیم فسفات ۱/۸میلی‌مولار) روی قسمت شکافته شده سر زنبور ریخته تا غدد شیری به صورت شناور درآیند. این غدد را با استفاده از یک پنس نوک تیز به آرامی برداشته و پس از توزین، مطابق روش Corby-Harris و Snyder (۲۰۱۸) با اعمال تغییرات جزیی رنگ‌آمیزی شدند. بدین منظور، ابتدا محلول رنگی گیمسا (۰/۶ گرم پودر گیمسا، ۵۰ میلی‌لیتر متانول و ۵۰ میلی‌لیتر گلیسرول) تهیه شد. این محلول با نسبت ۱:۱۰ با بافر فسفات (یک قسمت محلول رنگی گیمسا به نه قسمت بافر فسفات) رقیق شده و سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول رنگی رقیق شده روی یک قسمت از لام ریخته شد. غدد شیری را با کمک یک پنس نوک تیز به آرامی به محلول رنگی منتقل و به مدت پنج دقیقه نگهداری شد. ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات را روی قسمت دیگری از لام ریخته و غدد رنگ‌آمیزی شده به آرامی به آن منتقل شد تا رنگ اضافی شسته شود. در صورت نیاز، غدد شیری با کمک تیغ تیز به تکه‌های کوچکتر تقسیم شد. نمونه‌های رنگ آمیزی‌شده با میکروسکوپ نوری Olympus مورد بررسی قرار گرفت. به ازای هر زنبور، طول و عرض حداقل ۲۰ آسینی به طور تصادفی، اندازه گیری و میانگین اندازه آسینی‌های هر زنبور و به همین ترتیب میانگین اندازه آسینی‌های زنبورهای مربوط به هر تکرار و تیمار به عنوان اندازه غدد هیپوفارنژل آن تکرار و تیمار محاسبه شد.

اندازه غدد موم ساز. برای اندازه‌گیری غدد موم ساز، در اول خرداد ۱۴۰۳ در داخل هر کندو در تیمارهای آزمایشی یک قاب را علامت‌دار کرده و زمان تخمریزی ملکه در آن قاب ثبت شد. سپس، یک روز قبل از تولد زنبورها، آن قاب را به آزمایشگاه منتقل و ۲۰ زنبور کارگر تازه متولد شده را علامت گذاری و سپس زنبورها به داخل کلنی مادری برگردانده شدند. در سن ۱۳ روزگی زنبورها، از هر کلنی هفت زنبور علامت‌دار را برداشته و آنها را به داخل فالکون‌های ۵۰ میلی لیتری حاوی محلول پامپل منتقل و سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه زنبورها را به مدت سه دقیقه در دمای ۲۰ – درجه سانتی‌گراد نگه داشته تا کاملاً بی حرکت شوند. برای اندازه گیری غدد موم ساز از دستورالعمل Sanford and Dietz (1976) استفاده شد. بدین ترتیب، با ایجاد یک مقطع عرضی بند پنجم شکمی زنبورها را برداشته و سپس با کمک پنس و قیچی مخصوص در زیر بینوکولار مدرج آیینه‌های مومی و لایه پشتی آن که حاوی بافت اپیتلیال که به آن غدد مومی نیز می گویند، برداشته شد. ارتفاع بافت اپیتلیال به عنوان اندازه غدد موم ساز در نظر گرفته شد. براساس مطالعات انجام شده، ماکزیمم ارتفاع این بافت مربوط به سن ۱۳ روزگی زنبورهای کارگر است و اندازه آن در سایر بندهای حاوی غدد موم ساز یکسان است ((Justino *et al.* (2018)). بدین منظور، در پنج نقطه در طول این بافت ارتفاع آن ثبت شده و میانگین آن به عنوان اندازه غدد موم ساز آن زنبور ثبت شد. همین اندازه‌گیری برای سایر زنبورهای آن کندو انجام و میانگین آن به عنوان اندازه غدد موم ساز آن کلنی ثبت و همین اندازه گیری برای زنبورهای مابقی کندوهای آن تیمار و سایر تیمارهای آزمایشی انجام شد.

تولید زهر. برای اندازه‌گیری تولید زهر زنبورهای کلنی‌های زنبورعسل تیمارهای آزمایشی از دستگاه زهر گیری داخل کندو در مطالعه حاضر استفاده شد. این دستگاه از دو قسمت شوک دهنده و قاب جمع‌آوری زهر و متعلقات آن تشکیل شده است. دستگاه شوک دهنده استفاده شده دارای یک ترانس کاهنده است که ولتاژ ۲۲۰ ولت را به ۲۳ ولت تبدیل می‌کند. قاب جمع‌آوری زهر نیز از یک قاب چوبی به ابعاد ۱/۵×۳۰×۴۰ سانتی متر ساخته شده که روی آن سیم‌هایی به ضخامت ۰/۶ میلی متر به فاصله ۷–۵ میلی متر کشیده شده است. در زیر سیم‌ها هم یک صفحه شیشه‌ای به ابعاد ۳۲×۲۳ سانتی‌متر قرار دارد. برای زهرگیری با این دستگاه، قاب جمع‌آوری زهر روی قسمت فوقانی شان‌ها در زیر درب کندو قرار داده شد، سپس درب کندو را گذاشته و دستگاه روشن و پس از ۱۵ دقیقه شوک دادن دستگاه بصورت خودکار خاموش شد. در طی این ۱۵ دقیقه، دستگاه به طور اتوماتیک ۳ ثانیه روشن (شوک دهی) و سپس ۱۰ ثانیه غیر فعال می‌شد (به عنوان زمان استراحت). بعد از طی ۱۵ دقیقه، دستگاه را از داخل کندو خارج کرده و زهر استحصال شده را در آزمایشگاه از روی صفحه شیشه‌ای تراشیده و در شیشه‌های کوچک درب دار جمع‌آوری، توزین و نگهداری شد. ارزیابی این صفت روی تیمارهای آزمایشی هر دو هفته یکبار و مجموعاً دو بار از تاریخ ۲۰ خرداد تا ۲۰ مرداد سال ۱۴۰۳ با توجه به توصیه‌های سازنده دستگاه روی تمام کلنی‌های آزمایشی انجام شد. زهرگیری از تمام کلنی‌های آزمایشی در هر دفعه زهرگیری در همان روز انجام گردید.

تحلیل اقتصادی. هزینه‌ها و درآمدها در طول اجرای مطالعه ثبت شد. هزینه‌ها به دو دسته شامل هزینه تغذیه و سایر هزینه‌ها تقسیم شدند. هزینه تغذیه با شربت کومبوچا از ابتدا تا پایان آزمایش ثبت شد و سایر هزینه‌ها (هزینه شکر، کارگری، برگه موم آجدار، پوکه یا شانه مومی، مهاجرت کلنی‌ها و داورهای مصرفی) معادل ۳۵ درصد کل هزینه‌ها در نظر گرفته شد (Talebi *et al.*, 2010). درآمد حاصل از فروش عسل و گرده در پایان آزمایش به عنوان درآمد درنظر گرفته شد. با کسر میزان هزینه‌ها از مجموع درآمد حاصل از فروش عسل و گرده، سود ناخالص به ازای هر کندو در هر تیمار آزمایشی محاسبه شد.

آنالیز داده‌ها. نرمال بودن توزیع داده‌ها در مطالعه حاضر به‌وسیله آزمون کلوموگروف اسمیرنوف با استفاده از رویه univariate نرم افزار آماری SAS 9.4 M6 مورد آزمون قرار گرفت. پس از حصول اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها، تجزیه واریانس داده‌های مطالعه حاضر با استفاده از رویه GLM تعبیه شده در نرم افزار SAS V.9.4 و مقایسه میانگین‌های تیمارهای آزمایشی هم با استفاده از آزمون توکی با استفاده از همین نرم افزار انجام شد.

مدل آماری زیر برای تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفت:

$$yij = \mu + hij + tj + \varepsilon ij$$

yij = هر مشاهده از هر واحد آزمایشی μ = میانگین جامعه hij= اثر تصادفی کندو در آزمایش

tj= اثر ثابت تیمار εij = اثر خطای آزمایش

نتایج

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها. نتایج تجزیه واریانس تأثیر افزودن غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد در لیتر کومبوچا در شربت شکر روی صفات مورد مطالعه در جدول (۳) ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر افزودن غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد در لیتر کومبوچا در شربت شکر روی غدد موم ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه معنی‌دار بود (p <۰/۰۱). نتایج مقایسه میانگین‌های تأثیر افزودن غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد در لیتر کومبوچا در شربت شکر روی رشد غدد موم ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه در جدول (۴) ارائه شده است. نتایج مقایسه میانگین‌های اندازه غدد موم ساز زنبورهای عسل تیمارهای آزمایشی نشان داد بیشترین میانگین اندازه غدد موم ساز با میانگین ۱۱۴۲/۸۶ میکرون با اختلاف معنی‌دار (p <۰/۰۱) نسبت به سایر تیمارها مربوط به زنبورهای کلنی‌های عسل تیمار کومبوچای ۱۰ درصد در لیتر و کمترین این صفت با میانگین ۸۲۸/۵۷ میکرون مربوط به زنبورهای کلنی‌های زنبورعسل تیمار شاهد بود. نتایج مقایسه میانگین‌های اندازه غدد هیپوفارنژل زنبورهای کلنی‌های زنبورعسل تیمارهای مورد مطالعه نشان داد بیشترین میانگین طول این غدد با میانگین ۱۵۳/۰۸ میکرون با اختلاف معنی‌دار (p <۰/۰۱) نسبت به سایر تیمارها مربوط به زنبورهای کلنی‌های زنبورعسل تیمار کومبوچای ۱۰ درصد در لیتر و کمترین طول این غدد با میانگین ۹۳/۱۴ میکرون مربوط به زنبورهای کلنی‌های زنبورعسل تیمار شاهد بود. همچنین، براساس نتایج مقایسه میانگین‌های به‌دست آمده، بیشترین عرض غدد هیپوفارنژل با میانگین ۹۳/۹۲ میکرون با اختلاف معنی‌دار (p <۰/۰۱) نسبت به سایر تیمارهای مورد مطالعه مربوط به زنبورهای کلنی‌های زنبورعسل تیمار کومبوچای ۱۰ درصد در لتیر و کمترین عرض این غدد با میانگین ۶۵/۷۷ میکرون مربوط به زنبورهای کلنی‌های زنبورعسل تیمار شاهد بود. نتایج مقایسه میانگین‌های صفت تولید زهر نشان داد بیشترین میانگین صفت تولیدزهر با میانگین ۰/۱۴ گرم با اختلاف معنی‌دار (p <۰/۰۱) نسبت به سایر تیمارها مربوط به زنبورهای کلنی‌های زنبورعسل تیمار کومبوچای ۱۰ درصد در لتیر و کمترین آن با میانگین ۰/۰۸ گرم مربوط به زنبورهای کلنی‌های زنبورعسل تیمار شاهد بود. براساس نتایج به دست آمده، بیشترین میانگین توان زمستانگذرانی کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه با میانگین ۰/۶۲ با اختلاف معنی‌دار (p <۰/۰۱) نسبت به سایر تیمارها مربوط به کلنی‌های زنبورعسل تیمار کومبوچای ۱۰ درصد در لیتر و کمترین میانگین این صفت با میانگین ۰/۴۳ مربوط به کلنی‌های زنبورعسل تیمار شاهد بود.

تحلیل اقتصادی. در مطالعه حاضر تحلیل اقتصادی اثر افزودن کومبوچا در تغذیه زنبورها بر عملکرد کلنی‌های زنبورعسل تیماری آزمایشی براساس دو فرآورده مهم مورد نظر زنبورداران ایرانی از لحاظ تولید (صفات تولیدعسل و جمع آوری گرده) انجام و نتایج آن در جدول (۵) ارائه شده است. مقایسه تحلیل اقتصادی اثر افزودن غلظت‌های مختلف کومبوچا به صورت محلول در شربت شکر در تغذیه زنبورهای تیمارهای آزمایشی نشان داد افزودن کومبوچا در تغذیه زنبورها منجر به افزایش سود حاصل از فروش فرآورده‌های هر کلنی (عسل و گرده) در مقایسه با تیمار شاهد شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد بیشترین سود حاصل از افزودن کومبوچا در تغذیه زنبورهای تیمارهای آزمایشی مربوط به تیمار کومبوچای ۱۰ درصد در لیتر بود که این تیمار با بالاترین مقدار سود (۱۰۳۱۵۷۵۰۰ ریال) به ازای هر کندو و ۵۲۷۴۷۰۱۰ ریال سود در مقایسه با تیمار شاهد به عنوان بهترین تیمار شناخته شد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر افزودن کومبوچا در شربت شکر روی غدد موم ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه

Table 3. Variance analysis results of the effect of adding kombucha to sugar syrup on wax glands, hypopharyngeal glands, venom production, and overwintering performance of the studied honey bee colonies

Variations Sources	df	Studied traits				
		Size of wax glands (micron)	Size of hypopharyngeal glands (micron)		Venom production (gram)	Overwintering performance
			Length of hypopharyngeal glands	Width of hypopharyngeal glands		
Treatments	3	119307.747**	5524.064**	1031.855**	0.005**	0.0486**
Error	24	7019.407	16.953	10.508	0.0004	0.004

** : Significance level of one percent, *: significance level of five percent, n.s: not significant

The number for each trait represents the mean of squares

جدول ٤- نتایج مقایسه میانگین‌های تأثیر افزودن کومبوچا در شربت شکر روی غدد موم ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی زنبورهای عسل مورد مطالعه براساس روش توکی در سطح احتمال یک درصد

Table 4. Mean comparison results of the effect of adding kombucha to sugar syrup on wax glands, hypopharyngeal glands, venom production, and overwintering performance of the studied honey bee colonies based on the Tukey method at a probability level of one percent

Traits / Treatments	Studied traits				
	Size of wax glands (micron)	Size of hypopharyngeal glands (micron)		Venom production (gram)	Overwintering performance
		Length of hypopharyngeal glands	Width of hypopharyngeal glands		
Kombucha 5 %	938.50^{b}	144.32^{b}	87.37^{b}	0.11^{b}	0.50^{b}
Kombucha 10 %	1142.86^{a}	153.08^{a}	93.92^{a}	0.14^{a}	0.62^{a}
Kombucha 15 %	951.43^{b}	146.34^{b}	85.64^{b}	0.09^{bc}	0.48^{bc}
Control	828.57^{c}	93.14^{c}	65.77^{c}	0.08^{c}	0.43^{c}
SEM	2.63	4.73	2.10	0.05	0.18

جدول ٥- تحلیل اقتصادی افزودن کومبوچا در تغذیه کلنی‌های زنبورعسل تیمارهای آزمایشی در مطالعه حاضر

Table 5. Economic analysis of adding kombucha to the diet of honey bee colonies in the experimental treatments of the present study

Variables	Experimental treatments			
	Kombucha 5 %	Kombucha 10 %	Kombucha 15 %	Control
Price per kilo of produced honey	6000000	6000000	6000000	6000000
Price per kilo of produced pollen	4500000	4500000	4500000	4500000
Cost of feeding each colony	214500	249000	283500	180000
Other costs (35 percent of total costs)	2125000	2787500	1934375	1553125
Total costs	2339500	3036500	2217875	1733125
Income from each colony	71670000	106194000	64296000	52143615
Profit	74009500	103157500	62078125	50410490
SEM	6250000	7245301	5091140	4304091

*- Economic evaluation was calculated based on two traits: honey and pollen production in the present study.
**- Prices are based on the September 2024 rate, and prices and costs are in Rials.
*** - Calculations were performed per colony at the end of the experiment

بحث و نتیجه گیری

کومبوچا، یک نوشیدنی غیر الکی است که از تخمیر چای شیرین از طریق همزیستی باکتری‌ها و مخمرها به‌دست می‌آید و به خاطر داشتن ترکیبات و خواص سودمندش به عنوان یک مکمل تغذیه‌ای ارزشمند در طیف وسیعی از موجودات زنده استفاده شده و نتایج فرآسودمند آن تایید شده است. پژوهش‌های محدودی روی تأثیر کومبوچا بر صفات تولیدمثلی و عملکردی کلنی‌های زنبورعسل انجام شده و موضوع جدیدی در مبحث تغذیه زنبورعسل است. به همین خاطر، مطالعه حاضر برای اولین بار با هدف بررسی تأثیر افزودن غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد در لیتر کومبوچا در شربت شکر روی غدد موم ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی کلنی‌های زنبورعسل در شرایط اقلیمی استان کردستان انجام شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن کومبوچا به صورت محلول در شربت شکر در تغذیه زنبورها روی رشد غدد موم ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه موثر و بیشترین تأثیر مطلوب این مکمل با اختلاف معنی‌دار (p <۰/۰۱) نسبت به سایر تیمارهای مورد مطالعه در پژوهش حاضر مربوط به تیمار کومبوچای ۱۰ درصد در لیتر بود. بنابراین، با توجه به نتایج پژوهش حاضر مصرف غلظت ۱۰ درصد در لیتر کومبوچا به عنوان غلظت بهینه این مکمل به صورت محلول در شربت شکر برای تغذیه کلنی‌های زنبورعسل به‌خصوص در مواقع کمبود شهد و گرده در طبیعت توصیه می‌شود. کومبوچا سرشار از باکتری‌های اسید لاکتیک، مخمرها، اسیدهای آلی، آنزیم‌ها و مواد آنتی اکسیدانی، ویتامین‌ها به‌خصوص ویتامین‌های گروه B، پلی فنول‌ها، مواد ضد میکروبی و مقداری قند باقیمانده است که می‌تواند به عنوان پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها در زنبورعسل عمل کند. تأثیر مطلوب و معنی‌دار (p <۰/۰۱) غلظت ۱۰ درصد در لیتر کومبوچا روی صفات مورد مطالعه احتمالاً به این دلیل باشد که در این غلظت مقدار بهینه‌ای از این میکروارگانیسم‌ها برای زنبورها فراهم می‌شود تا فلورمیکروبی روده آنها تقویت شده که این موضوع به جذب بهتر مواد مغذی و افزایش مقاومت زنبورها در برابر پاتوژن‌ها کمک کند. همچنین، غلظت بهینه ۱۰ درصد در لیتر کومبوچا ممکن است طعم دلپذیری (به دلیل اسیدیته و ترکیبات تخمیری) به شربت شکر بدهد که باعث شود زنبورها بیشتر شربت شکر را مصرف کنند و در نتیجه ضمن دریافت مواد پروتیئنی، ویتامینی، اسیدهای چرب و مواد معدنی (به‌واسطه افزودن کومبوچا در شربت شکر)، انژری بیشتری برای فعالیت‌های رفتاری و عملکردی (مانند تخمیریزی ملکه و جمع آوری شهد و گرده) داشته باشند. با وجود اینکه صفاتی مثل خوشخوراکی شربت کومبوچا، رفتار تهاجمی، تعویض ملکه و غارت جزو صفات مورد مطالعه در زمان تصویب پروپوزال طرح تحقیقاتی نبود ولی در بررسی‌های میدانی حین اجرای پروژه این صفات نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌غیر از تیمار کومبوچای ۱۵ درصد در لیتر بقیه تیمارها از

لحاظ این صفات مشابه تیمار شاهد بودند ولی زنبورهای کلنی‌های زنبورعسل تغذیه شده با کومبوچای ۱۵ درصد در لیتر تهاجمی‌تر و در برخی تکرارهای این تیمار غارت هم مشاهده شد. علیرغم این موارد، خوشخوارکی کومبوچای ۱۵ درصد در لیتر نسبت به سایر غلظت‌های مورد مطالعه این مکمل (۵ و ۱۰ درصد در لیتر) و همچنین تیمار شاهد کمتر بود (پس از ۴۸ ساعت بیش از یک سوم شربت در ته ظرف تغذیه این تیمار باقی می‌ماند). همچنین، در یکی از تکرارهای تیمار کومبوچای ۱۵ درصد در لتیر، تعویض اضطراری ملکه نیز مشاهده شد. دلایل متعددی باعث می‌شود که غلظت‌های بالای کومبوچا برای زنبورهای عسل خوشایند نباشد و اثرات نامطلوبی بر آن‌ها بگذارد، از جمله: ۱) کومبوچا حاوی اسیدهای مختلف، قندها و پروتئین‌ها است که در غلظت‌های بالا می‌توانند طعم و بافت شربت شکر را تغییر دهند و زنبورها به دلیل طعم تند یا ترش این ترکیبات از شربت شکر حاوی غلظت بالای کومبوچا (۱۵ درصد در لیتر) اجتناب کنند، ۲) کومبوچا ترکیبی از باکتری‌ها و مخمرها است که طی فرآیند تخمیر تولید می‌شوند. این میکروارگانیسم‌ها در غلظت‌های بالای کومبوچا ممکن است برای زنبورهای عسل غیرقابل هضم باشند و ۳) اسیدهای آلی در غلظت‌های بالا برای حشرات خاصیت دورکنندگی دارند. کومبوچا سرشار از اسیدهای آلی مانند مانند استیک، سیتریک و لاکتیک است که این اسیدها در غلظت‌های بالا خواص دورکنندگی برای زنبورهای عسل دارند. نتایج تحلیل اقتصادی اثر افزودن کومبوچا در تغذیه زنبورها بر عملکرد کلنی‌های زنبورعسل براساس صفات تولیدعسل و جمع‌آوری گرده نیز نشان داد افزودن کومبوچا در تغذیه زنبورها منجر به افزایش سود حاصل از فروش فرآورده‌های هر کلنی (عسل و گرده) در مقایسه با تیمار شاهد شد. براساس نتایج به‌دست آمده، تیمار کومبوچا ۱۰ درصد در لیتر با بالاترین مقدار سود (۱۰۳۱۵۷۵۰۰ ریال) به ازای هر کندو و ۵۲۷۴۷۰۱۰ ریال سود در مقایسه با تیمار شاهد به عنوان بهترین تیمار شناخته شد. بنابراین، با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان تغذیه کلنی‌های زنبورعسل را با کومبوچای ۱۰ درصد در لیتر به صورت محلول در شربت شکر برای بهبود غدد موم ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی و همچنین افزایش بازده اقتصادی زنبورستان‌ها توصیه کرد. در یک مطالعه‌ای، Rajabi (2025) تأثیر سطوح مختلف شربت کومبوچا بر پایه چای خشک را روی صفات عملکردی کلنی‌های زنبورعسل (*Apis mellifera*) در شرایط اقلیمی استان آذربایجان غربی بررسی کرد. هم راستا با نتایج مطالعه حاضر این پژوهشگر گزارش کردند که تأثیر سطوح مختلف شربت کومبوچا روی صفات عملکردی و درصد پروتئین و چربی لاشه زنبورها به طور معنی‌داری ($p < ۰/۰۱$) موثر بود. پس از اجرای این پژوهش، این محقق مصرف شربت کومبوچا به صورت پنج درصد در لیتر را برای افزایش صفات عملکردی و تولیدمثلی کلنی‌های زنبورعسل پیشنهاد دادند. در مطالعه‌ای دیگری، Esmaeilzadeh *et al.* (2015) تأثیر مکمل آب ماست و توده قارچ کومبوچا در جیره پروتئینی زنبورعسل را بر تخمریزی ملکه و وزن بدن زنبورهای کارگر مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که مصرف مکمل آب ماست و توده قارچ کومبوچا در جیره پروتئینی زنبورها به طور معنی‌داری باعث افزایش جمعیت نوزادان و وزن زنبورهای کارگر نسبت به تیمار شاهد شد. این محققان گزارش کردند مکمل کردن آب ماست و توده قارچ کومبوچا در جیره پروتئینی زنبورها می‌تواند جهت افزایش توان تخمریزی ملکه و همچنین افزایش سلامتی کلنی‌های زنبورعسل مورد استفاده قرار گیرد. در بررسی دیگری در سال (2009)، محققی به اسم Wrangler به مدت سه هفته شربت کومبوچا رفیق شده را به صورت اسپری روی زنبورها استفاده و همسو با نتایج مطالعه حاضر گزارش کردند که مصرف شربت کومبوچا باعث بهبود صفات رفتاری و عملکردی زنبورها از جمله صفات تولید عسل و رفتار تهاجمی زنبورها می‌شود. همچنین، این محقق گزارش کردند که مصرف کومبوچای رقیق شده به صورت اسپری روی زنبورها خیلی بهتر از دود زنبورها را آرام می‌کند. مطالعات نشان داده است تغذیه کلنی‌ها با شربت شکر حاوی مواد اسیدی کمک زیادی در کاهش pH دستگاه هاضمه زنبورها کرده و مانع رشد و توسعه میکروب‌های بیماری‌زا در بدن زنبورها می‌شود. همچنین، تأثیرات ضد میکروبی مواد اسیدی روی باکتری *Paenibacillus larvae* که عامل بیماری لوک آمریکایی در زنبورعسل است، اثبات شده است (Fuselli *et al.*, 2012). با توجه به اینکه pH کومبوچا اسیدی (pH=۳/۴ (کومبوچای برداشت شده در روز هفتم کشت)) است احتمالاً در درمان بسیاری مشکلات گوارشی و بیماری‌های زنبورعسل از جمله بیماری لوک آمریکایی و نوزما موثر باشد. بنابراین توصیه می‌شود در مطالعات آینده تأثیر آن روی کنترل و بهبود مشکلات گوارشی و بیماری زنبورعسل از جمله لوک آمریکایی و نوزما بررسی شود.

به طور کلی، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد افزودن کومبوچا در تغذیه زنبورها روی رشد غدد موم ساز، غدد هیپوفارنژل، تولید زهر و توان زمستانگذرانی کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه به طور معنی‌داری ($p <۰/۰۱$) موثر بوده و بیشترین تأثیر مطلوب این مکمل نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی مورد مطالعه در پژوهش حاضر مربوط به تیمار کومبوچای ۱۰ درصد در لیتر بود. همچنین، تحلیل اقتصادی اثر غلظت‌های مختلف کومبوچا بر عملکرد کلنی‌های زنبورعسل تیمارهای آزمایشی نیز نشان داد افزودن کومبوچا در تغذیه زنبورها منجر به افزایش سود حاصل از فروش فرآورده‌های هر کلنی (عسل و گرده) در مقایسه با تیمار شاهد شد. بیشترین سود حاصل از افزودن کومبوچا در تیمارهای آزمایشی مربوط به تیمار کومبوچای ۱۰ درصد در لیتر بود که این تیمار با بالاترین مقدار سود (۱۰۳۱۵۷۵۰۰ ریال) به ازای هر کندو و ۵۲۷۴۷۰۱۰ ریالسود در مقایسه با تیمار شاهد به عنوان بهترین تیمار شناخته شد. بنابراین، با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان تغذیه کلنی‌ها با غلظت بهینه ۱۰ درصد در لیتر کومبوچا به صورت محلول در شربت شکر برای بهبود صفات عملکردی کلنی‌های زنبورعسل و افزایش بازده اقتصادی زنبورستان‌ها به‌خصوص در دوره‌های کمبود شهد و گرده در طبیعت پیشنهاد کرد.

Author's Contributions

Ataollah Rahimi: conceptualization, methodology, formal analysis, investigation, draft preparation, final review and edit, visualization, supervision, project administration and funding acquisition, **Saleh Salehi:** final review, edit and methodology.

Author's Information

Ataollah Rahimi ✉ ata.rahimi@areeo.ac.ir https://orcid.org/0000-0002-4298-7304
Saleh Salehi ✉ saleh3100@yahoo.com https://orcid.org/0000-0001-7834-2746

Funding

This research has received financial support by, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Sanandaj, Iran

Data Availability Statement

All data supporting the findings of this study are available within the paper.

Acknowledgments

The authors are extremely grateful to Dr. Vahid Mahdavi and Dr. Hamid Reza Bahmani for the scientific editing of this article.

Ethics Approval and Consent to Participate

Insects were used in this study. All applicable international, national, and institutional guidelines for the care and use of animals were followed. This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors.

Consent for Publication

not applicable

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.

Generative AI statement

The authors declare that no Gen AI was used in the creation of this manuscript.

REFERENCES

Adriani, L., Mayasari, N. & Angga-kartasudjana, R. (2011) The effect of feeding fermented kombucha tea on Hdl, Ldl and total cholesterol levels in the duck bloods. *Biotechnology in Animal Husbandry,* 27, 1749–1755. https://doi.org/10.2298/bah1104749a

Ahmadi, A. (2014) The effect of different levels of vitamin C on the queen egg laying rate and the percentage of body protein of worker bees in honey bee colonies (*Apis mellifera* L.). MSc Thesis, University of Kurdistan.

Avni, D., Hendriksma, H. P., Dag, A., Uni, Z. & Shafir, S. (2014) Nutritional aspects of honey bee-collected pollen and constraints on colony development in the eastern Mediterranean. *Journal of Insect Physiology*, 69, 65–73. https://doi.org/10.1101/008524

Brodschneider, R. & Crailsheim, K. (2010) Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41, 278–294. https://doi.org/10.1051/apido/2010012

Brodschneider, R., Riessberger-Gallé, U. & Crailsheim, K. (2009) Flight performance of artificially reared honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 40, 441–449. https://doi.org/10.1051/apido/2009006

Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Bhattacharya, D., Sarkar, S. & Gachhui, R. (2019) Kombucha: a promising functional beverage prepared from tea. *Non-Alcoholic Beverages*, 6, 285–327. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815270-6.00010-4

Corby-Harris, V. & Snyder, L. A. (2018) Measuring hypopharyngeal gland acinus size in honey bee (*Apis mellifera*) workers. *Journal of Visualized Experiments*, 139, e58261. https://doi.org/10.3791/58261

Delaplane, K. S., Van der Steen, J. & Guzmán-Novoa, E. (2013) Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apiculture Science*, 52, 1–12. https://doi.org.10.3896/IBRA/1.52.1.03

DeGrandi-Hoffman, G., Gage, S. L., Corby-Harris, V., Carroll, M., Chambers, M., Graham, H., Watkins deJong, E., Hidalgo, G, Calle, S, Azzouz-Olden, F., Meador, C., Snyder, L. & Ziolkowski, N. (2018) Connecting the nutrient

composition of seasonal pollens with changing nutritional needs of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Journal of Insect Physiology*, 109, 114–124. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2018.07.002

DeGrandi-Hoffman, G., Chen, Y., Rivera, R., Carroll, M., Chambers, M. E., Hidalgo, G. & Watkins deJong, E. (2016) Honey bee colonies provided with natural forage have lower pathogen loads and higher overwinter survival than those fed protein supplements. *Apidologie*, 47, 186–196. https://doi.org/10.1007/s13592-015-0386-6

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. https://doi.org/10.3896/ibra.1.47.4.06

De Groot, A. P. (1952) Amino acid requirements for growth of the honey bee (*Apis mellifica* L.). *Experientia*, 8, 192–194. https://doi.org/10.1007/bf02173740

De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Goncalves, D., Vinera, J., Zitoun, C., Duchampt, A., Bäckhed, F. & Mithieux, G. (2014) Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*, 156, 84–96. https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.016

Dolezal, A. G. & Toth, A. L. (2018) Feedback between nutrition and disease in honey bee health. *Current Opinion in Insect Science,* 26, 114–119. https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.02.006

Dufresne, C., Farnworth, E. & Ghohjyi, M. (2000) Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International*, 33, 409–421. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00067-3

Esmaeilzadeh, S., Naazati, G. & Nouri-Emamzadeh, A. (2015) Consumption of yogurt and kombucha mushroom mass in the protein diet of honey bees and its effect on queen egg laying and worker weight. Third International Conference on Applied Research in Agricultural Sciences, 31 Jan, 2015, Hamadan. p. 1–9.

Feizabadi, F., Sharifan, A. & Tajabadi, N. (2020) Isolation and identification of lactic acid bacteria from stored *Apis mellifera* honey. *Journal of Apicultural Research*, 60, 421–426. https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1765490

Fuselli, R. S., Garcia De La Rosa, B. S., Eguaras, J. M. & Fritz, R, (2012) Chemical composition and antimicrobial activity of Citrus essences on honeybee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae* the causal agent of American foulbrood. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 2067–2072. https://doi.org/10.1007/s11274-008-9711-9

Ghosh, S., Sarkar, A., Bhattacharyya, S. & Sil, P. C. (2016) Silymarin protects mouse liver and kidney from thioacetamide induced toxicity by scavenging reactive oxygen species and activating PI3K-Akt pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 481. https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00481

Hodgson, J. M. (2011). Tea and cardio vascular disease. *Pharmacological Research*, 64, 136–145. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2011.03.009

Jayabalan, R., Malini, K., Sathishkumar, M., Swaminathan, K. & Yun, S. E. (2010) Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 19, 843–847. https://doi.org/10.1007/s10068-010-0119-6

Justino, C. E. L., Noll, F. B., Mateus, S. & Billen, J. (2018) Wax gland size according to worker age in *Friesella schrottkyi*. *Apidologie*, 49, 359–366. https://doi.org/10.1007/s13592-018-0561-7

Kalateh, R., Dastar, B., Nadimi, A., Kotook, Sh., Sarvarzadeh, F. & Kord, E. (2025) Effect of using a food supplement with sugar on the growth and development of hypopharyngeal glands, body weight, and carcass compositions of nurse honey bees raised in laboratory cages. *Animal Production Research*, 14(2), 93–101. https://doi.org/10.22124/ar.2025.28536.1849

Kabiri, N., Ahangar Darabi, M., Rafieian-Kopaei, M., Setorki, M. & Doudi, M. (2014) Protective Effect of Kombucha Tea on Liver Damage Induced by Thioacetamide in Rats. *Journal of Biological Science*, 14, 343–348. https://doi.org/10.3923/jbs.2014.343.348

Kumari, D., Reddy, M. S. & Upadhyay, R. C. (2011) Antioxidant activity of three species of wild mushroom genus Cantharellus collected from North-Western Himalaya, India. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13, 341–350.

Rahimi, A. & Salehi, S. (2025) Kombucha and its beneficial properties on living organisms, including honey bee (*Apis mellifera*). *Iranian Honey Bee Science and Technology*, 16, 61–74. https://doi.org/10.22034/hbsj.2025.368418.1185

Rahimi, A., Tahmasebi, G., Bahmani, H. R., Salehi, S., Zare, B., Parsanaseb, A. & Rokhzad, B. (2023) Comparative evaluation of performance for improved Iranian honey bee queens (*Apis mellifera meda* Skorikov, 1929) in the climate conditions of Kurdistan province. *Research on Animal Production*, 39, 102–111. https://doi.org/10.61186/rap.14.39.102

Rajabi, R. (2025) Studying the effect of kombucha syrup based on dried tea on functional and reproductive traits of honey bee colonies (*Apis mellifera*). MSc Thesis, University of Urmia.

Saffari, A., Kevan, P. G. & Atkinson, J. (2010) Consumption of three dry pollen substitutes in commercial apiaries. *Journal of Apicultural Science*, 54, 5–12.

Salehipor, F., Ghafari, M., Rahimi, A. & Mokhbar, M. (2024) Effect of vitamins thiamine and riboflavin on population growth, functional traits, and body fat and protein reserves in Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) colonies. *Animal Production Research*,13, 87–98. https://doi.org/10.22124/ar.2024.26114.1803

Salehi, S., Sadegh, A. & Karimi, A. (2023) Effect of molasses kombucha on performance, morphology and intestinal microbial population of broiler chickens. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 140, 127–138. https://doi.org/10.22092/asj.2023.360451.2265

Saha, S., Rashid, K., Sadhukhan, P., Agarwal, N. & Sil, P. C. (2016) Attenuative role of mangiferin in oxidative stress-mediated liver dysfunction in arsenic-intoxicated murines. *BioFactors*, 42, 515–532. https://doi.org/10.22124/ar.2024.26114.1803

Sanford, M. & Dietz, A. (1976) The fine structure of the wax gland of the honey bee (*Apis mellifera* l.). *Apidologie*, 7, 197 – 207. https://doi.org/10.1051/apido:19760301

Sengun, I. Y. & Kirmizigul, A. (2020) Probiotic potential of kombucha. *Journal of Functional Foods*, 104284. https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104284

Suenami, S., Miyazaki, R. & Kubo, T. (2018) Detection of phospholipase C activity in the brain homogenate from the honeybee. *Journal of Visualized Experiments*, 139, e58173. https://doi.org/10.3791/58173

Talebi, M. A., Miraei Ashtiani, S. R., Moradi Shahrbabak, M. & Nejati Javaromi, A. (2010) Economic Values of Reproduction, Growth and Carcass Composition Traits in Lori -Bakhtiari Sheep. *Iranian Journal of Animal Science,* 3, 210 –203.

Tosi, S., Nieh, J. C., Sgolastra, F., Cabbri, R. & Medrzycki, P. (2017) Neonicotinoid pesticides and nutritional stress synergistically reduce survival in honey bees. *Proceedings of the Royal Society, Biological Sciences,* 284, 20171711. https://doi.org/10.1098/rspb.2017.1711

Utoiu, E, Matei, F., Toma, A., Diguta, C., Mihaela, L., Mănoiu, S., Vrăjmasu, V., Moraru, I., Oancea, A., Israel-Roming, F., Cornea, C., Constantinescu-Aruxandei, D., Moraru, A. & Oancea, F. (2018) Bee Collected Pollen with Enhanced Health Benefits, Produced by Fermentation with a Kombucha Consortium. *Nutrients*, 10, 1365. https://doi.org/10.3390/nu10101365.

Wrangler, B. (2009) https://sethroberts.net/2009/08/04/bees-and-kombucha.

Yarahmadi, S., Mirai Ashtiani, S., Ebadi, R. & Tahmasebi, G. (2007) Phenotypic Correlations among 9 Morphological and 3 Production Traits in Honey-Bee Population in Tehran Province. *Journal of Crop Production and Processing*, 5, 157–168.

Citation: Rahimi, A. & Salehi, S. (2026) The effect of kombucha on wax glands, hypopharyngeal glands, venom production, and overwintering performance of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *J. Entomol. Soc. Iran*, 46 (2), 227–238.

DOI: https://doi.org/10.22034/jesi.46.2.8

URL: https://jesi.areeo.ac.ir/article_135386.html

pISSN: 0259-9996 – eISSN: 2783-3968

Journal of Entomological Society of Iran

2026, 46 (2), 227–238

The effect of adding kombucha to sugar syrup on wax glands, hypopharyngeal glands, venom production, and overwintering performance of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies

Ataollah Rahimi[1] & Saleh Salehi[1]

1. *Animal Science Research Department, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Sanandaj, Iran*

Abstract. This study aimed to investigate the effect of adding different concentrations of kombucha to sugar syrup on wax glands, hypopharyngeal glands, venom production, overwintering performance, and its economic analysis on the performance of honey bee colonies in the climatic conditions of Kurdistan province during 2023 to 2025. This research was conducted in a completely randomized design with four treatments and seven replications. The treatments included a control treatment, treatments containing concentrations of 5, 10, and 15 percent per liter of kombucha dissolved in sugar syrup (in a ratio of 1:1). Wax gland size, hypopharyngeal gland size, venom production, and overwintering performance traits of honey bee colonies in experimental treatments were investigated in the present study. The results of variance analysis showed that the effect of different concentrations of kombucha on the studied traits was significant (p<0.01). Based on the results of the mean comparison, the highest mean of wax glands size (1142.86 micron), hypopharyngeal glands size (length (153.08) and width (93.92) micron), venom production (0.14 g), and overwintering performance (0.62) were related to honey bees of 10 % kombucha treatment, and the lowest was related to bees of control treatment. Economic analysis of the kombucha effect on honey bee colony performance was conducted based on honey production and pollen collection traits in the present study. The results showed that adding kombucha to bee nutrition led to an increase in profits from the sale of each colony products (honey and pollen) compared to the control treatment. The highest profit from adding kombucha in the experimental treatments was related to the 10% kombucha treatment per liter, which this treatment was recognized as the best treatment with the highest profit of 103,157,500 Rials per hive and a profit of 52,747,010 Rials compared to the control treatment. With regard to the results of this study, adding a 10% concentration per liter of kombucha to the feeding of bees can be recommended for improving the functional traits of honey bee colonies and increasing the economic efficiency of apiaries especially periods of nectar and pollen scarcity in nature.

Keywords: Honey bee, Nutrition, Functional traits, Kombucha, Kurdistan province

Article info
Received: 25 September 2025
Accepted: 21 February 2026
Published: 02 May 2026

Subject Editor: Najmeh Sahebzadeh

Corresponding author: Ataollah Rahimi

E-mail: ata.rahimi@areeo.ac.ir

DOI: https://doi.org/10.22034/jesi.46.2.8

© 2025 by Author(s), Published by the Entomological Society of Iran
This Work is Licensed under Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International Public License.