

三种蜂花粉在西方蜜蜂消化道内排空时间的测定*

王颖^{1**} 马兰婷² 刘振国² 王红芳² 胥保华^{2***}

(1. 山东农业大学科技处, 泰安 271000; 2. 山东农业大学动物科技学院, 泰安 271000)

摘要 【目的】为了确定西方蜜蜂 *Apis mellifera* L. 消化道的排空时间, 比较了茶花蜂花粉、油菜蜂花粉和玉米蜂花粉在不同日龄西方蜜蜂消化道内的排空率。【方法】本试验利用西方蜜蜂室内盒养技术, 分别配制含有 Cr_2O_3 标记物的茶花蜂花粉、油菜蜂花粉和玉米蜂花粉日粮饲喂新出房西方蜜蜂, 每日粮组蜜蜂分别在饲喂至 3 日龄、6 日龄和 9 日龄时进行禁饲处理, 在禁饲 0、24、48 和 72 h 后采集西方蜜蜂样本并解剖其消化道, 比较各组蜜蜂的消化道排空率、采食量以及中肠、回肠和直肠长度的差异。【结果】除 3 日龄西方蜜蜂在禁饲的 24 h、6 日龄西方蜜蜂在禁饲的 0 h 和 24 h、9 日龄蜜蜂在禁饲 48 h 时, 各处理组的消化道排空率存在显著差异外 ($P < 0.05$), 其它禁饲时段各处理组之间消化道排空率无显著差异 ($P > 0.05$), 不同处理组的不同日龄蜜蜂均在禁饲后的 72 h 完成消化道排空。尽管试验中期, 蜜蜂对玉米蜂花粉的总采食量显著低于茶花蜂花粉和油菜蜂花粉 ($P < 0.05$), 但试验期末各处理组蜜蜂的总采食量无显著差异 ($P > 0.05$); 蜂花粉类型和禁饲期对不同日龄蜜蜂中肠和直肠长度的差异性影响无明显规律, 对回肠长度的影响最小。【结论】对于 9 日龄以内的西方蜜蜂, 无论饲喂茶花蜂花粉、油菜蜂花粉或玉米蜂花粉, 均在采食后 72 h 内完成消化道排空。

关键词 西方蜜蜂; 蜂花粉; 消化道; 排空时间

Processing time of three kinds of bee pollen in the digestive tract of *Apis mellifera* L.

WANG Ying^{1**} MA Lan-Ting² LIU Zhen-Guo² WANG Hong-Fang² XU Bao-Hua^{2***}

(1. Department of Science and Technology, Shandong Agricultural University, Tai'an 271000, China;

2. College of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Tai'an 271000, China)

Abstract [Objectives] To determine the processing time of *Camellia* pollen, rape pollen and corn pollen, in the bee digestive tract. [Methods] Honeybees were fed either *Camellia* pollen, rape pollen or corn pollen, containing a Cr_2O_3 marker. Three, six and nine day old honeybees were prevented from feeding for 0, 24, 48 and 72 h, respectively, after which their digestive tracts were dissected for examination. The emptying rate of the digestive tract, food intake and the length of the midgut, ileum and rectum of each treatment group was compared. [Results] With the exception of 3-day-old bees fasted for 24 hours, 6-day-old bees fasted for 0 and 24 hours, and 9-day-old bees fasted for 48 hours, there were significant differences in the emptying rate of the digestive tract among the treatment groups ($P < 0.05$). The digestive tracts of all treatment groups were completely empty after fasting for 72 h. Although the total consumption of corn pollen was significantly lower than that of *Camellia* and rape pollen ($P < 0.05$), there was no significant difference in the total food intake of each treatment group at the end of the experiment ($P > 0.05$). There was also no significant difference in the length of the midgut and rectum of the different age groups, and the influence of diet on ileum length was small. [Conclusion] The digestive tract of honeybees < 9

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31702195); 泰山产业领军人才高效生态农业创新类项目 (Tscy 20190102); 国家蜂产业技术体系 (CARS-44)

**第一作者 First author, E-mail: wangying@sdaa.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: bhxu@sdaa.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-07-03; 接受日期 Accepted: 2020-08-18

days old empties within 72 h, irrespective of the kind of bee pollen ingested.

Key words *Apis mellifera* L.; bee pollen; digestive tract; emptying time

蜂花粉是蜜蜂重要的蛋白质饲料。蜂花粉类型繁多, 所含营养物质含量各不相同(王开发, 1993), 对蜜蜂的营养价值也不一样(Klungness and Peng, 1984)。开展蜂花粉等蜜蜂饲料营养价值评定研究, 对高效和科学地利用蜂花粉资源具有重要意义。

确定适宜的消化道排空时间, 是开展饲料营养价值评定工作的必要前提。目前, 国内学者已围绕蜜蜂饲料原料筛选(肖培新和胥保华, 2010; 魏伟等, 2018)、配方研制(李成成等, 2011)、及蛋白质(Li *et al.*, 2012; 郑本乐等, 2012)、脂类(Ma *et al.*, 2015; 于静等, 2019)、氨基酸(Zhao *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2016; 王帅等, 2017)、维生素(冯倩倩等, 2011; 雷春红等, 2016)和矿物质(刘俊峰等, 2010; Zhang *et al.*, 2015; 夏振宇等, 2019)等营养素的需要量方面开展了大量研究, 并初步获得意大利蜜蜂 *Apis mellifera* L. 在不同阶段的营养需要基本参数(董文滨等, 2014)。但由于我国蜜蜂营养生物学研究起步较晚(曾志将, 2020), 缺乏蜜蜂消化道排空时间等基础数据, 尚未建立有效的蜜蜂饲料营养物质生物学效价评价方法。

在畜禽上的研究表明, 饲料在通过消化道时, 其排空速度受采食量、饲料组分、动物年龄等多种因素的影响的同时(周华英等, 1991), 其停留时间还与动物对饲料营养物质的消化利用密切相关(施用晖等, 1993), 但有关蜜蜂的研究鲜有报道。本试验以我国养蜂生产中常使用的茶花蜂花粉、油菜蜂花粉和玉米蜂花粉为试验材料, 以意大利蜜蜂为研究对象, 旨在探索 3 种蜂花粉在蜜蜂肠道内的排空时间, 为进一步合理利用蜂花粉资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

试验蜂群为饲养于山东农业大学动物科技

实验站的意大利蜜蜂 *Apis mellifera* L. (纬度: 36.16° N, 经度 117.16° E)。

1.2 主要仪器和试剂

HWS-328 型恒温培养箱(宁波江南仪器厂)、BS 124S 型分析天平(赛多利斯(北京)科学仪器有限公司)、蜜蜂室内饲养盒(专利号: ZL 2014 2 0503643.3, 图 1)、数码相机(Nikon D 6500, 尼康公司)等, 茶花蜂花粉、油菜蜂花粉和玉米蜂花粉由山东农业大学试验蜂场提供, 三氧化二铬(Cr_2O_3 , 分析纯, 天津市北辰方正试剂厂)。

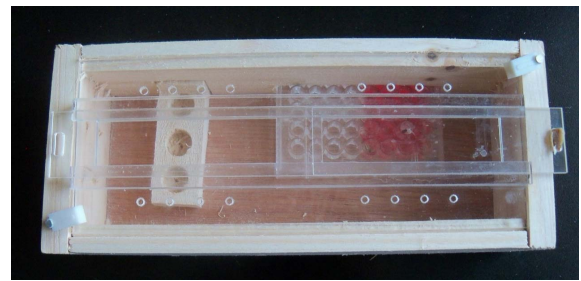


图 1 蜜蜂室内饲养盒

Fig. 1 Bees rearing cage under laboratory conditions

1.3 试验日粮

茶花蜂花粉、油菜蜂花粉、玉米蜂花粉和 Cr_2O_3 预先经球磨粉碎机粉碎、200 目过筛备用。设茶花蜂花粉、油菜蜂花粉和玉米蜂花粉 3 组试验日粮, 各组日粮配制按照蜂花粉: 蔗糖溶液(50% wt.): Cr_2O_3 =20: 10: 1 比例配制(精确至 0.000 1 g), 混合均匀后放置于 4 °C 冰箱保存备用。

1.4 试验动物及饲养管理

试验设计和分组情况见表 1。参照蜜蜂发育图谱(Wang *et al.*, 2015), 选取新羽化出房工蜂 1 800 只于室内饲养盒中(每盒 50 只, 共 36 盒), 随机分为 3 个日粮处理组, 即 A 组、B 组和 C 组(600 只/组, 每处理组 12 盒蜜蜂), 分别饲喂配制的茶花蜂花粉、油菜蜂花粉和玉米蜂花粉日

粮。每个日粮处理组又随机分为 3 个组(即 1 组、2 组和 3 组), 每组 4 个重复, 每重复 1 盒蜜蜂。从 1 日龄开始, A-1、B-1 和 C-1 的蜜蜂连续饲喂对应蜂花粉日粮 3 d; A-2、B-2 和 C-2 的蜜蜂连续饲喂对应蜂花粉日粮 6 d; A-3、B-3 和 C-3 的蜜蜂连续饲喂对应蜂花粉日粮 9 d。饲喂期结束后, 对各组蜜蜂进行禁饲处理并采集蜜蜂样本用于相关测试分析。

所有试验蜜蜂于黑暗无光的恒温恒湿培养箱中饲养(黑暗, $T=(29\pm1)^{\circ}\text{C}$, $\text{RH}=50\%\pm5\%$), 各处理组除饲喂的蜂花粉日粮不同外, 其它饲养条件保持一致(如自由饮水, 足量 40%浓度的蔗糖溶液等)。

表 1 试验设计和分组									
Table 1 Experimental design and grouping									
饲喂持续期 (d) Feeding duration (d)	A 组 Group A			B 组 Group B			C 组 Group C		
	A-1	A-2	A-3	B-1	B-2	B-3	C-1	C-2	C-3
3	+			+			+		
6		+			+			+	
9			+			+			+

+表示对该组饲喂对应天数的蜂花粉日粮。
+ indicated that the group was fed with bee pollen diet for corresponding days.

1.5 测定指标

1.5.1 采食量的测定 试验日粮每 24 h 更换一次。换料前, 准确称取 1 g 左右的(精确至 0.000 1 g)蜂花粉日粮, 团成球状置于盖玻片上, 用镊子夹放于蜜蜂饲养盒中供蜜蜂取食, 并对替换出的日粮精确称重, 记录单天采食量。试验期末统计蜜蜂总采食量, 并计算单只蜜蜂平均采食量。

1.5.2 消化道长度的测定 按照饲喂-禁饲的试验程序, 对于每一处理组的 1 组蜜蜂连续饲喂 3 d, 2 组蜜蜂连续饲喂 6 d, 3 组蜜蜂连续饲喂 9 d 后, 进行禁饲处理(仍保证自由采食水和蔗糖溶液)。禁饲 0、24、48 和 72 h 后, 每个重复分别随机选取 10 只蜜蜂, 迅速置于 -20°C 环境下冻僵, 参照刘意秋(2014)的方法, 解剖出蜜蜂完整的消化道并放置于洁净的滤纸上, 用镊子轻轻

拉动消化道使其自然伸展后(图 2), 使用直尺分别测量蜜蜂中肠、回肠和直肠长度(精确至 0.1 mm)。

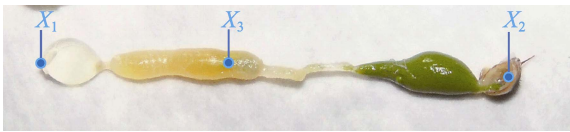


图 2 食糜排空率测定位点示意图
Fig. 2 The schematic diagram of positioning point for the pass rate of chyme measurement

X_1 : 蜜囊前端; X_2 : 直肠末端; X_3 : 食糜末端。
 X_1 : The front end of the crop; X_2 : The end of the rectum; X_3 : The end of the chyme.

1.5.3 食糜排空率的测定 因蜜蜂的口、咽、食道不容易剖离, 试验以食糜末端位置至蜜囊起始端的距离与蜜囊起始端至肛门的距离之比计算食糜的排空率。即以蜜囊前端 X_1 为起始端, 直肠末端 X_2 为终止端, 记录食糜末端(绿色)位点为 X_3 , 则食糜的排空率= $(X_3 - X_1) / (X_2 - X_1) \times 100\%$ 。当蜜囊内容物为绿色时, 排空率记为 0, 食糜全部到达直肠时, 排空率计为 100%。

1.6 数据分析

采食量及中肠、回肠和直肠长度等实验数据以平均值 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD)表示, 食糜排空率数据以平均值 $\pm$ 标准误(Mean $\pm$ SE)表示, 数据统计分析处理使用 SPSS 21.0 软件进行, 多个样本平均值的比较采用单因素方差分析, 各组间数据比较采用 LSD 检验, 方差不齐时采用 Games-Howell 检验。当 $P < 0.05$ 时, 具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 蜂花粉类型对蜜蜂采食量的影响

由图 3 可见, 随着日龄的增长, 各处理组蜜蜂采食量逐渐增多, 并在 9 日龄时达到最高, 说明在试验期内, 蜜蜂持续取食蜂花粉。3 日龄时, 蜜蜂对茶花蜂花粉和油菜蜂花粉的采食量有高于玉米蜂花粉的倾向, 至 6 日龄时, 茶花蜂花粉组和油菜蜂花粉组蜜蜂总采食量显著高于玉米

蜂花粉组 ($P < 0.05$), 但到 9 日龄时蜜蜂对不同日粮的总采食量无显著差异 ($P > 0.05$)。

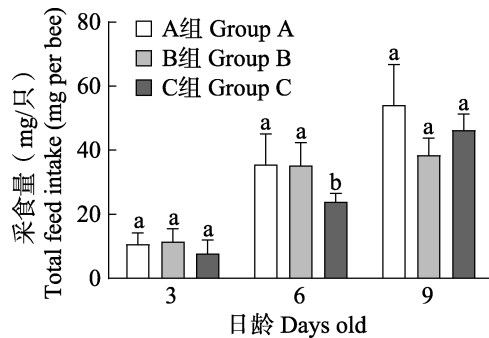


图 3 蜂花粉类型对不同日龄蜜蜂总采食量的影响

Fig. 3 Effects of bee pollen sources on total feed intake of different age group bees

A 组: 茶花蜂花粉日粮组; B 组: 油菜蜂花粉日粮组; C 组: 玉米蜂花粉日粮组。柱上标有相同小写字母表示不同处理间差异不显著 ($P > 0.05$)。下图同。

Group A: The *Camellia* pollen diet group; Group B: The rape pollen diet group; Group C: The corn pollen diet group. Histograms with the same lowercase letters in the figure show no significant difference ($P > 0.05$). The same below.

2.2 蜂花粉类型和禁饲时间对蜜蜂消化道长度的影响

由图 4 可见, 3 日龄时, 各处理组蜜蜂中肠长度在禁饲前 (0 h) 无显著差异 ($P > 0.05$), 随着禁饲时间的延长, 各处理组之间表现出显著差异 ($P < 0.05$), 玉米蜂花粉组蜜蜂中肠显著长于其它处理组 (图 4: A)。6 日龄时, 禁饲 0 h 与 72 h 时, 各处理组蜜蜂之间中肠长度无显著差异 ($P > 0.05$), 但禁饲 24 h 和 48 h 时, 各处理组之间存在显著差异 ($P < 0.05$), 油菜蜂花粉组蜜蜂的中肠最短 (图 4: B)。9 日龄时, 各处理组蜜蜂中肠长度在不同禁饲时间段均存在显著差异 ($P < 0.05$), 总体趋势仍以油菜蜂花粉组蜜蜂的中肠为最短, 茶花蜂花粉组和玉米蜂花粉组蜜蜂中肠长度基本一致 (图 4: C)。

除 3 日龄蜜蜂在禁饲 72 h (图 4: D)、6 日龄蜜蜂在禁饲 48 h (图 4: E)、9 日龄蜜蜂在禁饲 48 h 和 72 h (图 4: F) 时, 各处理组之间蜜蜂的回肠长度表现出显著差异 ($P < 0.05$), 在其它禁饲时间段, 各处理组之间回肠长度无显著差异 ($P > 0.05$)。

由图 5 可见, 随着日龄增长和禁食时间的延长, 蜜蜂直肠长度呈变长趋势。蜜蜂 3 日龄时, 禁食 0 h 和 24 h 的各处理组蜜蜂之间的直肠长度有显著影响 ($P < 0.05$) (图 5: A), 在禁食 48 h 和 72 h 时各处理组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。禁食 0 h 和 48 h 的 6 日龄蜜蜂, 各处理组之间的直肠长度存在显著差异 ($P < 0.05$) (图 5: B), 在禁食 24 h 和 72 h 时各处理组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。9 日龄时, 禁食 24 h 和 72 h 时的各处理组蜜蜂的直肠长度存在显著差异 ($P < 0.05$), 在其它禁食时间点无显著差异 (图 5: C)。

2.3 蜂花粉类型和禁饲时间对蜜蜂消化道排空速度的影响

由图 5 (D-F) 可见, 在 3 日龄时, 禁食 24 h 的各处理组蜜蜂, 其食糜排空率存在显著差异 ($P < 0.05$), 以油菜蜂花粉组为最低, 在其它禁食时间各处理组之间食糜排空率差异不显著。6 日龄蜜蜂在禁食 0 h、24 h 时, 各处理组之间的肠道排空率存在显著差异 ($P < 0.05$), 但在禁食 48 h、72 h 时, 各处理组间无显著差异 ($P > 0.05$)。对于 9 日龄蜜蜂, 除在禁食 48 h 时各处理组间食糜排空率有显著差异外 ($P < 0.05$), 其它禁食时间点均无显著差异 ($P > 0.05$)。禁食前期 (0 h), 对于不同日龄的各处理组蜜蜂, 其食糜的排空率虽不相一致, 但均在禁食 72 h 后全部排空至直肠。

3 讨论

前期研究表明, 不同日龄的蜜蜂对茶花蜂花粉的蛋白质消化利用率显著高于油菜蜂花粉 (Wang *et al.*, 2014), 与玉米蜂花粉相比, 茶花蜂花粉和油菜蜂花粉更有利于促进意蜂蜂群发展 (高丽娇等, 2019)。本研究中, 尽管 3 日龄和 6 日龄蜜蜂表现出喜采食油菜蜂花粉和茶花蜂花粉偏好, 但 9 日龄时各处理组间蜜蜂总采食量无显著差异, 说明 3 种花粉对蜜蜂均有较好的适口性。在生长发育期, 消化道长度与消化器官重量和体重密切相关 (房兴堂等, 1999; 黎观红

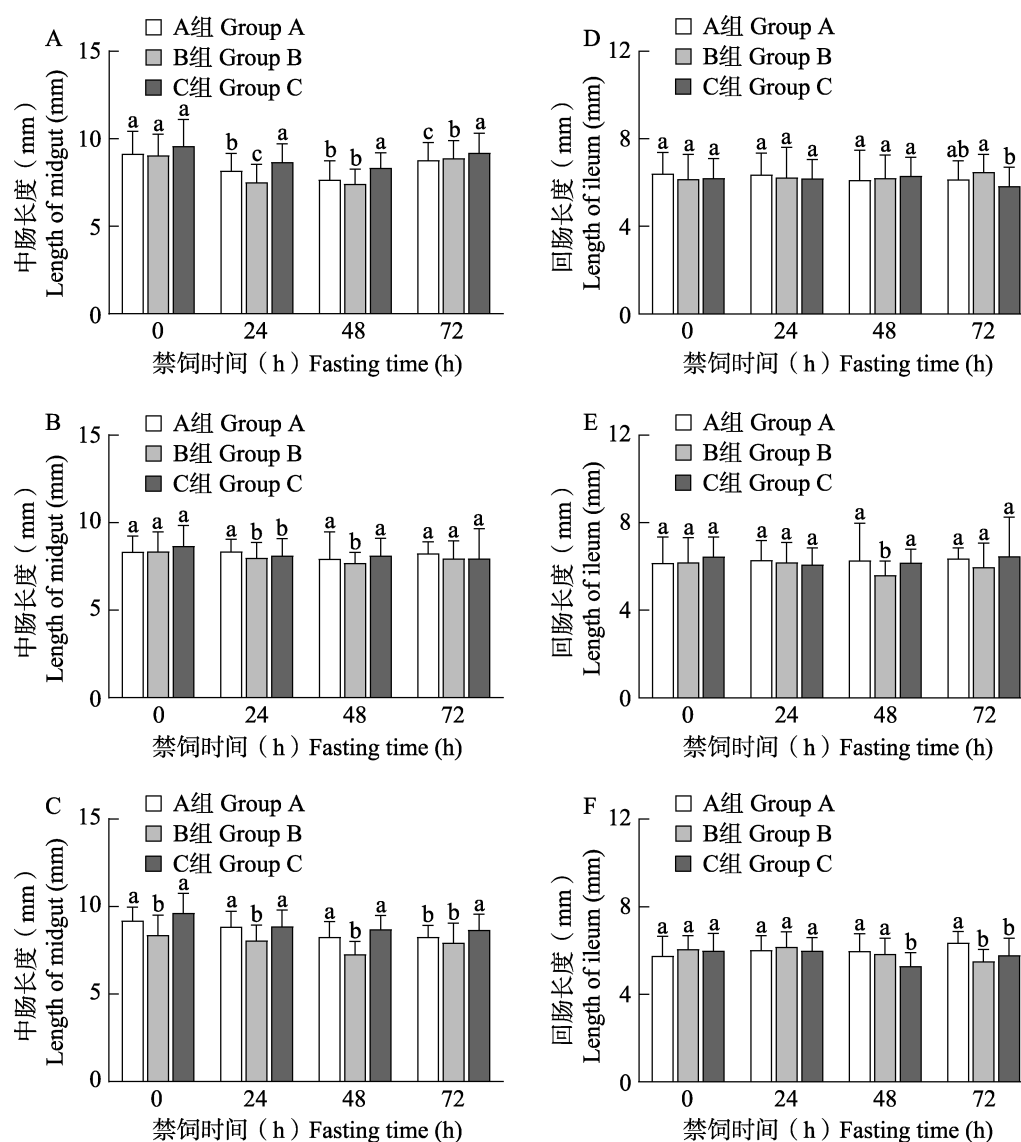


图 4 蜂花粉类型和禁饲时间对不同日龄蜜蜂中肠长度 (A, B, C) 和回肠长度 (D, E, F) 的影响
 Fig. 4 Effects of bee pollen source and fasting time on the length of midgut (A, B and C) and ileum (D, E and F) of different age group bees

等, 2005; 颜莹莉等, 2015), 本研究中, 各处理组的不同日龄蜜蜂消化道发育长度虽存在个别性的差异, 但总体相差不大, 说明 3 种蜂花粉均能较好满足蜜蜂生长发育过程中的营养物质需求。

明确食糜在消化道内的排空时间是开展动物营养需要与饲料营养价值评定研究的必要前提, 相关研究在蜜蜂上尚未见诸报道。与畜禽等动物不同, 蜜蜂消化道由口、咽、食道、蜜囊、前胃、中肠、回肠、直肠和肛门等组成, 取食后的食物不直接进入中肠开始消化, 而是先储存于

蜜囊中 (Winston, 1987)。因此, 蜜蜂食糜的排空时间具有一定的滞后性。同时, 由于蜜蜂具有飞翔排泄习性, 食糜消化完成后会预先留存于直肠内, 而非及时、直接排出体外。此外, 蜜蜂消化道细、短且韧性差, 加之所采食的花粉等食物颜色与肠道内腔颜色相近, 不易辨别食糜在消化道内的移动位置, 传统畜禽消化道排空率的测定技术在蜜蜂上难于复制应用。鉴于蜜蜂消化道柔软较直、壁薄、透明度高, 借助肉眼明显可辩的外源标识物研究食糜在蜜蜂消化道内的排空规律具有明显优势。不同种类的蜂花粉颜色不

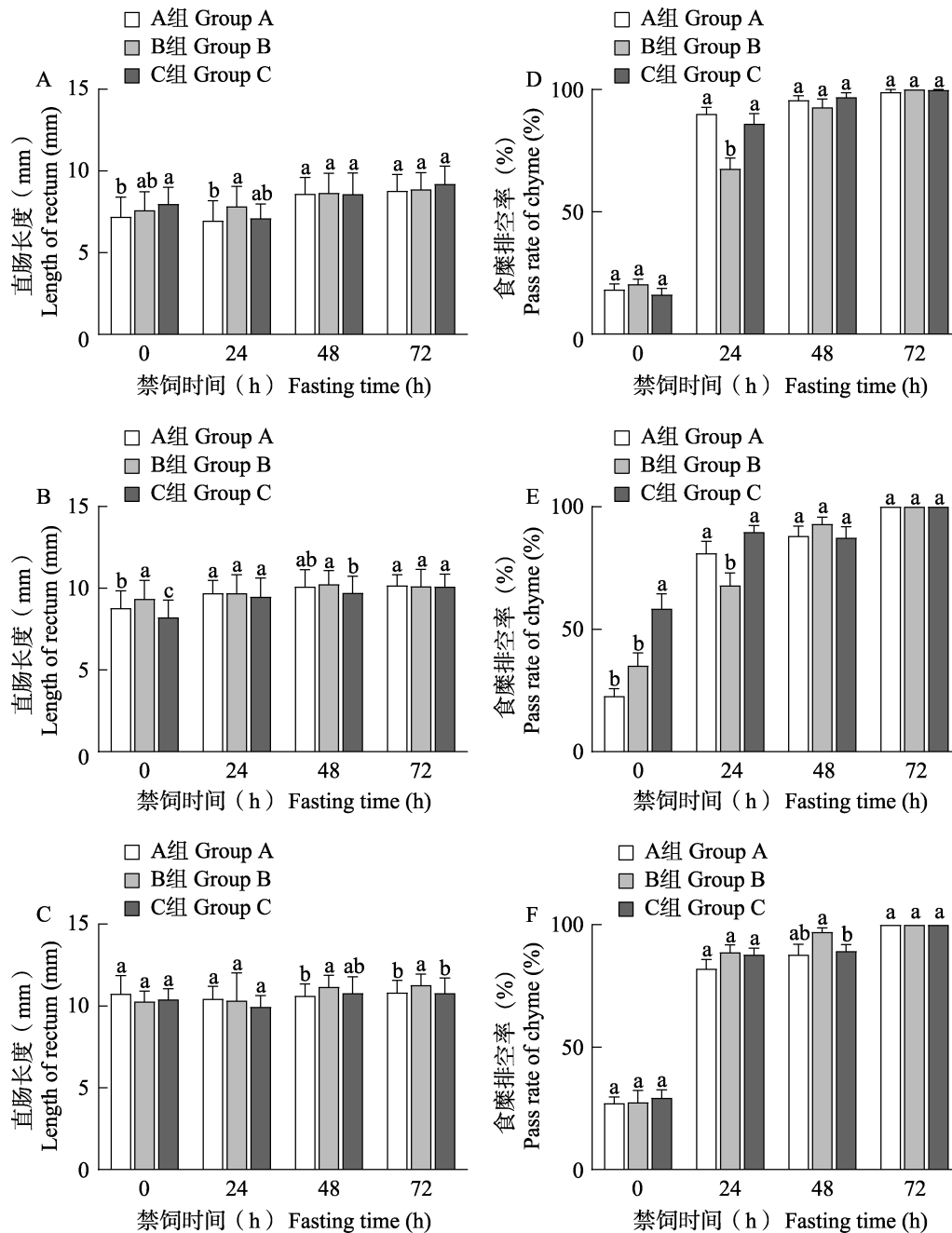


图5 蜂花粉类型和禁饲时间对不同龄蜜蜂直肠长度 (A, B, C) 和消化道食糜排空率 (D, E, F) 的影响

Fig. 5 Effects of bee pollen source and fasting time on rectum length (A, B and C) and pass rate of chyme (D, E and F) of different age group bees

一,若标识物使用不当,食糜在蜜蜂消化道内运动过程中蜂花粉会与之发生分离,影响测定结果的准确性。 Cr_2O_3 性质稳定、不易被蜜蜂消化吸收,且有明显的绿色。本试验中,少量添加即可完全遮盖不同种蜂花粉本身的颜色,且食糜蜜蜂在消化道内始终呈现明显的绿色至深绿色,说明 Cr_2O_3 在蜂花粉日粮中的分布均匀性好,是研究

蜜蜂食糜在消化道内排空速度的良好指示剂。

蜜蜂消化道的发育状况对蜜蜂的营养吸收、生长发育和健康状况至关重要。蜜蜂羽化出房至 12 日龄时,需要大量采食蜂粮,以满足自身生长发育和哺育幼虫所需的营养 (Winston, 1987)。中肠是蜜蜂消化和吸收营养物质的主要部位,回肠和直肠则在水分和矿物质再吸收过程中发挥

重要作用,此外,直肠还是蜜蜂排泄物在排泄前的储存场所(Kwong and Moran, 2016)。营养不足会显著影响蜜蜂肠道发育,导致中肠肠壁变薄、消化道形态发生改变等(Wang *et al.*, 2014)。在畜禽动物上的研究表明,日粮类型和组分能显著影响十二指肠、空肠、回肠等消化道的长度(González-Alvarado *et al.*, 2007; Amerah *et al.*, 2008, 2009; 樊瑞泉等, 2018)。本研究表明,自由采食条件下,茶花蜂花粉、油菜蜂花粉和玉米蜂花粉日粮对蜜蜂消化道长度的影响具有选择性,即主要对高日龄蜜蜂中肠和低日龄蜜蜂直肠的发育有影响,对回肠发育的影响最小。禁饲后,不同日龄的各处理组蜜蜂的中肠、回肠和直肠长度随禁食时间而呈现不同程度的差异性变化。这或许与食糜在消化道内的运动有关,值得进一步研究探讨。

食糜在不同动物消化道内的排空时间不同(滕忠才等, 2011; 颜莹莉等, 2015); 受采食量、日粮组分及年龄等多种因素的影响,食糜在同一动物消化道内的排空时间也不相同(周华英等, 1991; 施用晖等, 1993; 杨曙明和杨忠源, 1994; 王娟等, 2010)。本研究发现,食糜在蜜蜂消化道内的排空速度总体较快,禁食 24 h 后,各处理组蜜蜂的消化道排空率已达 70%以上,但食糜在 72 h 内才能完全排空至直肠,与畜禽相比,蜜蜂消化道的排空时间要长的多。一方面,蜜蜂蜜囊延缓了食物进入中肠消化的时间;另一方面,蜜蜂回肠管腔狭小、细长,不利于食糜的快速通行。另有研究表明,高蛋白质饲料或高纤维饲料会延长消化道的排空时间(施用晖等, 1993)。本试验使用的 3 种蜂花粉,蛋白质高(22%-26%),还含有丰富的粗纤维(6%左右),这或是食糜在蜜蜂消化道内排空速率减慢的另一重要原因(李英华等, 2005; 铃莉妍和耿越, 2011; 高丽娇等, 2019)。

排空时间和排泄物收集时间是影响蜜蜂营养需要和饲料营养价值评定研究准确性的最主要因素。本研究表明,蜂花粉类型和日龄因素显著影响禁食 48 h 内蜜蜂消化道食糜的排空率,3-9 日龄的蜜蜂其排空时间在 72 h 以内。鉴于蜜

蜂具飞翔排泄的习性,在进行蜜蜂消化试验研究时,通过调节饲养条件控制蜜蜂排泄行为,便于利用取直肠的方法完整收集蜜蜂的排泄物。需要注意的是,由于蜜蜂喜好采食蜂花粉,室内饲养的喂食时间不宜超过 10 d,否则在禁饲后期,蜜蜂直肠排泄物积存过多,蜜蜂也会在饲养盒内排泄。

综上所述,本文研究了蜂花粉类型对蜜蜂消化道食糜排空时间的影响,并比较了蜂花粉类型对蜜蜂采食量,以及中肠、回肠和直肠长度的差异。结果显示,无论饲喂茶花蜂花粉、油菜蜂花粉或玉米蜂花粉,蜜蜂均在取食后的 72 h 内完成消化道排空,蜜蜂对 3 种蜂花粉的总采食量无显著差异,日粮和禁饲时间对不同日龄蜜蜂回肠长度的影响最小。研究结果为蜂花粉的有效利用及蜜蜂营养需要研究提供了技术支持和参考数据。

参考文献 (References)

- Amerah AM, Ravindran V, 2008. Influence of method of whole-wheat feeding on the performance, digestive tract development and carcass traits of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 147(4): 326-339.
- Amerah AM, Ravindran V, Lentle RG, 2009. Influence of insoluble fibre and whole wheat inclusion on the performance, digestive tract development and ileal microbiota profile of broiler chickens. *British Poultry Science*, 50(3): 366-375.
- Dong WB, Ma LT, Wang Y, Li CC, Zheng BL, Feng QQ, Wang GY, Li YJ, Jiao Z, Liu F, Yang WR, Xu BH, 2014. The proposed standard on nutritional needs of *Apis mellifera ligustica* Spinola during the period of spring multiplication, royal jelly production, overwintering and development. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 26(2): 342-347. [董文滨, 马兰婷, 王颖, 李成成, 郑本乐, 冯倩倩, 王改英, 李迎军, 焦震, 刘锋, 杨维仁, 胥保华, 2014. 意大利蜜蜂春繁、产浆、越冬和发育阶段营养需要建议标准. *动物营养学报*, 26(2): 342-347.]
- Fan RQ, Ren JW, Wang ZF, Zhang F, Wang CC, 2018. Effects of brown rice and rice husk on the performance, carcass yield and digestive tract development of geese. *China Feed*, 602(6): 56-60. [樊瑞泉, 任继武, 王志芳, 张峰, 王长春, 2018. 日粮添加糙米和米糠对鹅生长性能, 屠宰率及消化道发育的影响. *中国饲料*, 602(6): 56-60.]
- Fang XT, Wang JM, Lei C, Zhang HQ, Liu YM, Sun G, 1999.

- Studies on growth regularities of the broiler digestive organs. *Sichuan Journal of Zoology*, 18(1): 35–37. [房兴堂, 王景明, 雷丛, 张海琪, 刘玉梅, 孙刚, 1999. 肉鸡消化器官生长规律的研究. 四川动物, 8(1): 35–37.]
- Feng QQ, Xu BH, Li CC, Yang WR, 2011. Effects of vitamin A on bee population, sealed brood quantity and antioxidation of *Apis mellifera ligustica*. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 23(6): 971–975. [冯倩倩, 胥保华, 李成成, 杨维仁, 2011. 维生素 A 对意大利蜜蜂群势, 封盖子量及抗氧化性的影响. 动物营养学报, 23(6): 971–975.]
- Zhao FQ, Xu BH, Zhang G, Wang HF, 2015. The appropriate supplementary level of tryptophan in the diet of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) worker bees. *Journal of Insect Science*, 15(1): 1–6.
- Gao LJ, Liu JL, Luo WH, Yang JL, Cao L, Ji CH, Wang RS, Ren Q, 2019. Effects of different bee pollens on colony reproduction and worker development of *Apis mellifera ligustica*. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 31(10): 4630–4636. [高丽娇, 刘佳霖, 罗文华, 杨金龙, 曹兰, 姬聪慧, 王瑞生, 任勤, 2019. 不同蜂花粉对意大利蜜蜂蜂群繁殖和蜜蜂发育的影响. 动物营养学报, 31(10): 4630–4636.]
- Gao LJ, Liu JL, Cheng S, Dai RG, Luo WH, 2016. Analysis of nutritional components and contents on four kinds of pollens. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 512(10): 175–177. [高丽娇, 刘佳霖, 程尚, 戴荣国, 罗文华, 2016. 四种花粉的营养成分及含量分析. 黑龙江畜牧兽医, 512(10): 175–177.]
- González-Alvarado JM, Jiménez-Moreno E, Lázaro R, Mateos GG, 2007. Effect of type of cereal, heat processing of the cereal, and inclusion of fiber in the diet on productive performance and digestive traits of broilers. *Poultry Science*, 86(8): 1705–1715.
- Klungness LM, Peng YS, 1984. A histochemical study of pollen digestion in the alimentary canal of honeybees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology*, 30(7): 511–521.
- Kwong WK, Moran NA, 2016. Gut microbial communities of social bees. *Nature Reviews Microbiology*, 14(6): 374–384.
- Lei CH, Ma LT, Wang HF, Xu BH, 2016. Appropriate dietary pantothenic acid level for *Apis mellifera ligustica* worker bee larvae. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 28(12): 3846–3855. [雷春红, 马兰婷, 王红芳, 胥保华, 2016. 意大利蜜蜂蜜蜂幼虫饲料中适宜泛酸水平. 动物营养学报, 28(12): 3846–3855.]
- Li CC, Xu BH, Wang YX, Yang WR, 2012. Effects of dietary crude protein levels on development, antioxidant status, and total midgut protease activity of honey bee (*Apis mellifera ligustica*). *Apidologie*, 43(5): 576–586.
- Li CC, Yang WR, Xu BH, Feng QQ, 2011. Optimal protein levels required and their effects on larval antioxidation of *Apis mellifera ligustica* Spinola. *Agr Sci China*, 44(22): 4714–4720. [李成成, 杨维仁, 胥保华, 冯倩倩, 2011. 意大利蜜蜂生长发育适宜蛋白供给水平及其对幼虫抗氧化活性的影响. 中国农业科学, 44(22): 4714–4720.]
- Li GH, Qu MR, Yan XH, Zhu NH, 2005. Study on the growth and development rules of visceral organs of Taihe silky fowls in early stage. *Journal of Economic Animal*, 9(1): 35–38. [黎观红, 瞿明仁, 晏向华, 朱年华, 2005. 泰和鸡早期(0–12 周龄)内脏器官生长发育规律的研究. 经济动物学报, 9(1): 35–38.]
- Li YH, Hu FL, Zhu W, Zheng HQ, 2005. The recent advances in pollen components in China. *Apicultural Science and Technology*, 170(4): 7–16. [李英华, 胡福良, 朱威, 郑火青, 2005. 我国花粉化学成分的研究进展. 养蜂科技, 170(4): 7–16.]
- Liu JF, Wu XB, Zheng YL, Zeng ZJ, 2010. Requirements of vitamins and minerals for *Apis cerana cerana* during overwintering period. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 22(6): 161–165. [刘俊峰, 吴小波, 郑云林, 曾志将, 2010. 中华蜜蜂越冬阶段维生素和矿物质营养需要量. 动物营养学报, 22(6): 161–165.]
- Liu YQ, 2014. Comprehensive experimental course of apiculture Science. Beijing: China Agriculture Press. 9–11. [刘意秋, 2014. 蜂学专业综合实验教程. 北京: 中国农业出版社. 9–11.]
- Ma L, Wang Y, Zhang W, Wang H, Liu Z, Xu B, 2016. Alterations in protein and amino acid metabolism in honeybees (*Apis mellifera*) fed different L-leucine diets during the larval stage. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 19(3): 769–774.
- Ma LT, Wang Y, Hang XB, Wang HF, Yang WR, Xu BH, 2015. Nutritional effect of alpha-linolenic acid on honey bee colony development (*Apis mellifera* L.). *Journal of Apicultural Science*, 59(2): 63–72.
- Qian LY, Geng Y, 2011. Determination of crude fiber in the pollens. *Journal of Bee*, 308(31): 8–9. [钱莉妍, 耿越, 2011. 花粉中粗纤维含量的测定. 蜜蜂杂志, 308(31): 8–9.]
- Shi YH, Zhang SR, Le GW, 1993. Bioassay for metabolizable energy in ducks I. The effect of duration of starvation and excreta collection time on the true metabolizable energy. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 11(3): 377–387. [施用晖, 张慎容, 乐国伟, 1993. 鸭饲料代谢能测定方法的研究 I. 鸭 TME 测定的消化道排空期和排泄物收集期. 四川农业大学学报, 11(3): 377–387.]
- Teng ZC, Li RJ, Lu XJ, Liu TH, Wang FM, Hu GL, Shen ZR, 2011. Effect on vitality of *Flaveria bidentis* seeds after feeding through draining by animals. *Plant Quarantine*, 25(2): 14–17. [滕忠才, 李瑞军, 陆秀君, 刘廷辉, 王付民, 胡国律, 沈佐锐, 2011. 动

- 物过腹对黄顶菊种子活力的影响. 植物检疫, 25(2): 14–17.]
- Wang J, Zang SM, Wang C, Li Q, Xi YJ, Yuan N, Li L, 2010. Comparison on digestive tract clearance speed of Taihang and HY-line layers. *China Poultry*, 32(7): 24–27. [王娟, 臧素敏, 王超, 李庆凯, 郝艳菊, 元娜, 李利, 2010. 太行鸡、海兰灰蛋鸡消化道排空速度的比较研究. 中国家禽, 32(7): 24–27.]
- Wang KF, 1993. Pollen nutrition and utilization of pollen resources. Shanghai: Fudan University Press. 26–113. [王开发, 1993. 花粉营养成分与花粉资源利用. 上海: 复旦大学出版社. 26–113.]
- Wang S, Wang HF, Xu BH, 2017. Appropriate lysine level of *Apis mellifera* worker bee larvae diet. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 29(11): 4236–4244. [王帅, 王红芳, 胥保华, 2017. 意大利蜜蜂蜜蜂幼虫饲料的适宜赖氨酸水平. 动物营养学报, 29(11): 4236–4244.]
- Wang Y, Ma LT, Hang XB, Yang WR, Liu F, Xu BH, 2014. Digestion of protein of two pollen types in China by the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 45(5): 590–600.
- Wang Y, Ma LT, Xu BH, 2015. Diversity in life history of queen and worker honey bees, *Apis mellifera* L. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 18(2): 145–149.
- Wei W, Chi XP, Zhang WX, Liu ZG, Wang HF, Ma LT, Xu BH, 2018. Study on wheat germ as protein source for spring multiplication of *Apis mellifera* L. *Shandong Agricultural Sciences*, 50(5): 124–130. [魏伟, 郝学鹏, 张卫星, 刘振国, 王红芳, 马兰婷, 胥保华, 2018. 小麦胚芽作为意大利蜜蜂春繁期饲料蛋白源的研究. 山东农业科学, 50(5): 124–130.]
- Winston ML, 1987. The Biology of the Honey Bee. Cambridge, MA: Harvard University Press. 90–109.
- Xia ZY, Zhang WX, Xu BH, 2019. Effects of manganese on the physiological function of adult bees. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 31(11): 5168–5177. [夏振宇, 赵晓冬, 张卫星, 胥保华, 2019. 锰对意大利蜜蜂成年蜜蜂生理机能的影响. 动物营养学报, 31(11): 5168–5177.]
- Xiao PX, Xu BH, 2010. Influence of different pollen substitutes on the honey bee population and colony performance. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 47(5): 900–903. [肖培新, 胥保华, 2010. 不同人工代花粉对蜂群群势和生产性能的影响. 应用昆虫学报, 47(5): 900–903.]
- Yan YL, Li MM, Zhang W, Ni XJ, Lin ZP, Ye H, Yang L, Wang WC, 2015. Comparison on growth performance and intestinal digestive physiology among Lionhead goose, Sichuan white goose and Wuzong goose. *Research of Agricultural Modernization*, 36(5): 895–900. [颜莹莉, 李孟孟, 张威, 倪晓君, 林祯平, 叶慧, 杨琳, 王文策, 2015. 狮头鹅、四川白鹅和乌鬃鹅生产性能及消化道生理比较研究. 农业现代化研究, 36(5): 895–900.]
- Yang SM, Yang ZY, 1994. Effect of fasting time on emptying gastrointestinal digesta and measured value of metabolizable energy for goslings. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 6(1): 27–32. [杨曙明, 杨忠源, 1994. 鹅禁食时间对肠食糜排空及代谢能测值的影响. 动物营养学报, 6(1): 27–32.]
- Yu J, Zhang WX, Chen WF, Liu ZG, Xu BH, 2019. Appropriate level of arachidonic acid in worker larvae diet of honey bee, *Apis mellifera ligustica*. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 31(10): 4637–4646. [于静, 张卫星, 陈文凤, 刘振国, 胥保华, 2019. 意大利蜜蜂工蜂幼虫饲料中花生四烯酸的适宜添加水平. 动物营养学报, 31(10): 4637–4646.]
- Zeng ZJ, 2020. Advances in honeybee biology in China over the past 70 years. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(2): 259–264. [曾志将, 2020. 中国 70 年来蜜蜂生物学研究进展. 应用昆虫学报, 57(2): 259–264.]
- Zhang G, Zhang WX, Cui XP, Xu BH, 2015. Zinc nutrition increases the antioxidant defenses of honey bees. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 156(3): 201–210.
- Zheng BL, Li YJ, Yang WR, Xu BH, 2012. Effect of dietary protein level on colony development of honey bees (*Apis mellifera ligustica*) in spring. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(5): 1196–1202. [郑本乐, 李迎军, 杨维仁, 胥保华, 2012. 蜜蜂春季增长阶段饲料适宜蛋白质水平的研究. 应用昆虫学报, 49(5): 1196–1202.]
- Zhou HY, Chen KR, Zhang SR, 1991. A study of condition of Sichuan ducks in the bioassay for true hetabolizable energy. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 9(3): 452–457. [周华英, 陈可容, 张慎荣, 1991. 鸭真代谢能测定条件的研究. 四川农业大学学报, 9(3): 452–457.]