زنبوران عسل بهداشتیِ مقاوم به کنه واروآ

محسن علمی: دانشجوی دکترای علوم دامی دانشگاه تبریز و محقق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آ. شرقی
و سید عباس رافت: دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

چکیده

بـه دلیل اثرات سوء استفاده از کنـه کش ها، نیاز به اصلاح نژاد زنبوران عسل(*Apis mellifera L.*) برای مقاومت به کنه واروآ بیش از گذشته احساس می شود. اخیراً صفت زنبوران عسل بهداشتی مقاوم به کنه واروآ به عنوان موثرترین صفت برای کاهـش جمعیت کنـه واروآ(*Varroa destructor* , Anderson and Trueman) مورد توجه دانشمنـدان و زنبورداران قرار گرفته است. کلنی هـای VSH میـزان جمعیت کنه را از طریق مکانیسـم هایی از جمله کاهش تولید مثل کنه در داخل سلول‌هـا، شناسایی سلول‌های آلوده و درپوش بـرداری و خـارج سازی شفیره های آلوده به کنه کاهش می دهنـد. این صفت با سه روش شامل اندازه گیری میزان ناباروری کنه، اندازه گیری میزان درپـوش بـرداری شان‌های آلوده و سنجش تفاوت میزان آلودگی به کنـه در سلول های شفیرگی قبل و بعد از قرار گرفتن در کلنی های VSH، بسته بـه شرایـط و امکانات، اندازه گیری می شود. برنامه های اصلاح نژادی برای ایـن صفت در آمریکای شمالی آغاز شده و هدف اصلی آنها افزایش قابلیت مقاومـت بـه واروآ در کلنی‌های زنبورعسل می باشد. زنبوران VSH بطـور خالص در زنبورستان های تجاری مورد آزمایش قرار گرفته و هیبرید کردن آنها با زنبوران معمولی بر روی سایر صفات تولیدی اثر منفی نشان نداده است. مطالعاتی در زمینه ی شناسایی ژن‌های کنترل کننده ی VSH و نقشه یابـی جایگاه‌هـای صفت کمی انجام شده و یک QTL عمده و یک QTL احتمالی و یک ژن کاندیدا برای آن شناسایی شده است. ولی در حالت کلی باور بر این است اطلاعات مولکولی موجود هنوز به آن اندازه زیاد و روشن نیست که بتوان در انتخاب کلنی های مقاوم به واروآ صرفاً بر آنها تکیه کرد. مطالعه این صفت در سایر زنبوران عسل دنیا از جمله توده زنبورعسل موجود در ایران برای دستیابی به اطلاعات دقیق تر سودمند خواهد بود. پیشنهاد شـده کـه تا مادامی که نیاز به استفاده از کنه کش ها بطور کامل از بین نرفته، صفت VSH باید همواره به عنوان قسمتی از مدیریت تلفیقی مبارزه با کنه در کلنی های زنبورعسل مد نظر قرار گیرد.

واژه های کلیدی: زنبورعسل، ، مقاومت به واروآ

مقدمه

گرده افشانی به وسیله زنبورعسل (*Apis mellifera L.*) بخش مهمی از کشاورزی مدرن بوده و تولیدات آن همواره مورد توجه مردم به منظور تغذیه و درمان بیماری‌های مختلف بوده است. در سال‌های اخیر نگرانی‌ها در مورد سلامتی زنبوران عسل از طرف عموم، زنبورداران و محققان افزایش یافته است. زنبوران عسل با چالش های متعددی روبرو هستند؛ از جمله آفت کش ها، عوامل بیماریزا و انگل هایی مثل *Varroa destructor*. به نظر می رسد آلودگی به واروآ در زنبوران عسل، بزرگترین تهدید برای صنعت زنبورداری است و این کنه هر ساله باعث از بین رفتن تعداد قابل توجهی از کلنی ها در سراسر جهان می گردد. این انگلِ خارجی لزوماً در کلنی زنبوران عسل زندگی کرده و به زنبوران عسل و کلنیِ آنها زیان های جبران ناپذیری وارد می سازد (لی کونت و همکاران، ۲۰۱۰).

کنه ها برای تولید مثل خود نیاز به زنبوران عسل در حال رشد دارند. کنه‌های ماده ی بارور به سلول‌های لاروی وارد شده و شروع به تخمگذاری می‌کنند، در داخل هر سلول کارگر یک نوزاد نر و تا ۵ نوزاد ماده ی کنه به وجود می‌آید ولی در حالت کلی بطور میانگین ۱/۴۵-۱/۳ عدد کنه بالغ جدید از هر کنه مادر تولید می شود. نوزادان کنه از همولنف شفیره در حال رشدِ زنبور تغذیه کرده و کنه های خواهر با برادر خود جفتگیری می کنند. زمانی که زنبور بالغ متولد می‌شود کنه‌های مادر و فرزندان دختر وی نیز سلول کارگر را ترک کرده و به مرحله جدیدی از زندگی بنام مرحله زندگی بر روی زنبور بالغ (فورتیک) وارد می شوند که در این مرحله با استقرار بر روی بدن زنبور بالغ از همولنف آن تغذیه می نمایند(ساماتارو و همکاران، ۲۰۰۰).

وقتی که کنه ماده به داخل سلول لاروی جدیدی وارد می شود این سیکل تکرار می شود. با تغذیه واروآ از همولنف، به زنبوران آسیب‌های فیزیکی و فیزیولوژیکی وارد می شود، میزان پروتئین بدن آن‌ها کاسته شده و رشد و نمو آنها بطور طبیعی انجام نمی شود. یکی از بدترین اثرات جانبی آلودگی به واروآ این است که کنه ها ناقل بسیاری از ویروس‌های بیماریزای زنبورعسل بوده و بعضی ویروس ها می‌توانند در داخل بدن کنه تکثیر شوند. کلنی های آلوده به کنه اگر درمان نشوند معمولاً بعد از یک تا چهار سال تلف می شوند؛ ولی گزارشاتی هم مبنی بر زنده مانی این نوع کلنی ها تا شش سال ارائه شده است (تسورودا و همکاران، ۲۰۱۲).

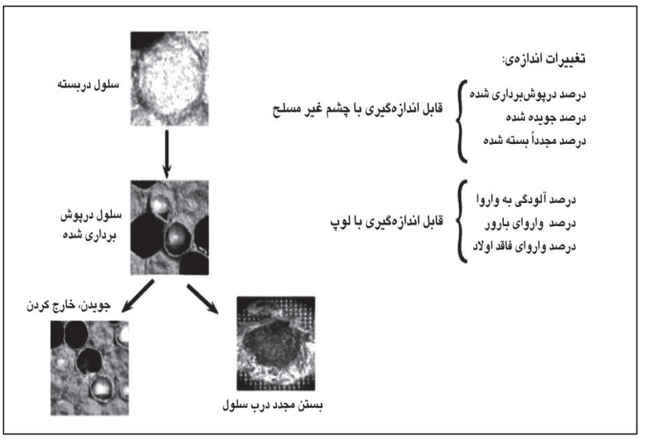
هرچند که با استفاده از کنه کش‌های متعدد، کنه‌ها بطور موثری مورد کنترل قرار گرفته ولی توده هایی از کنه های مقاوم به کنه کش ظاهر شده‌اند. کنه کش ها اثرات سوء زیادی دارند زیرا آنها در موم زنبورعسل قابل جذب بوده و بنابراین بقایای آنها در موم و عسل تجمع می یابد. تجمع مواد شیمیایی در موم و عسل واثرات هم افزایی آنها با همدیگر می‌تواند اثرات منفی بر سلامتی زنبور داشته باشد. بنابراین جهت اجتناب از این مشکلات نیاز به روش‌های امن تری برای مبارزه با کنه وجود دارد و خوشبختانه امروزه صنعت زنبورداری شروع به بهره مندی از کلنی های مقاوم به کنه نموده است(دایتمن و همکاران، ۲۰۱۲).

معلوم شده که زنبوران با بعضی خصوصیات رفتاری خود جمعیت واروآ را کاهش می‌دهند. یکی از این صفات مهم که اخیراً مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است صفت زنبوران عسل بهداشتی مقاوم به کنه (VSH) می‌باشد. در حالت کلی رفتار بهداشتی در زنبوران عسل به فعالیت هایی اطلاق شده که در آن زنبوران بالغ لاروهای مرده، بیمار یا آلوده به انگل را از حجرات نوزادی خارج می نمایند. این رفتار بهداشتی با اصلاح نژاد زنبورانی که لاروهای کشته شده به روش انجماد(FKB)[1] را بطور موثری خارج می‌کنند، بهبود یافته است. زنبوران بهداشتی کنه واروآی بیشتری نسبت به زنبوران غیربهداشتی خارج می سازند. VSH نوعی از رفتارهای بهداشتی است که در آن زنبوران واکنش شدید تری به واروآ از خود نشان می‌دهند؛ زنبورانِ VSH نسبت به زنبوران بهداشتیِ FKB تعداد بیشتری کنه خارج می کنند. افزایش خارج سازی کنه زنبوران VSH را قادر می‌سازد که رشد جمعیت واروآ را در کلنی های خود کاهش دهند. این رفتار بهداشتی در زنبوران (VSH) وراثت پذیر بوده بطوریکه نتایج حاصل از انتخاب و اصلاح نژاد زنبوران برای این صفت در برنامه اصلاح نژادی دپارتمان کشاورزی ایالات متحده[2] مثبت بوده است. نتایج مطالعات نشان داده که زنبوران دارای صفت VSH بطور موفقیت آمیزی آلودگی به کنه را کاهش می دهند و در عین حال صفات عملکردی از جمله تولید عسل را نیز حفظ می کنند (دانکا و همکاران، ۲۰۱۲).

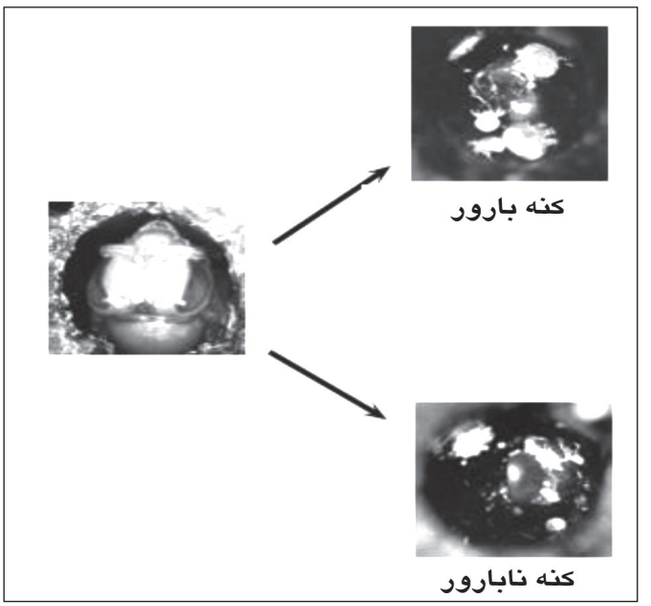
اگر شفیره های آلوده در داخل کلنی های واجد صفت بهداشتی مقاوم به واروآ به مدت یک هفته قرار گیرند از طریق چند مکانیسم آلودگی آنها کاهش می یابد. یکی از این مکانیسم ها کاهش تولید مثل کنه در داخل سلول‌ها می باشد. مکانیسم دیگر شناسایی سلول‌های آلوده توسط زنبوران و درپوش برداری[3] و خارج سازی[4] شفیره های آلوده به کنه و به دنبال آن کشته شدن کنه های نابالغ می باشد. کنه های بالغی هم که به همراه شفیره خارج می شوند در صورت زنده ماندن معمولاً به زنبوری که لارو را خارج کرده می چسبند اما این امکان نیز وجود دارد که بر روی شان سرگردان شوند، در این صورت در معرض رفتار نظافت گری[5] زنبوران قرار گرفته و زنبوران آنها را دیده و با گاز گرفتن به آن صدمه می زنند (تاکور و همکاران، ۱۹۹۷).

همچنین به عقیده برخی محققان کنه های بالغ بیرون آمده در اثر رفتار خارج سازی اگر هم موفق شوند که بلافاصله به سلول جدیدی وارد شوند بسیار احتمال دارد که نتوانند تولید مثل کنند و اگر هم تولید مثل کنند نوزادان آنها قادر به ادامه زندگی نخواهند بود. با این توضیحات معلوم می شود که صفت رفتار بهداشتی مقاوم به واروآ عمدتا با ایجاد اختلال در تولید مثل کنه

1. Freeze-Killed Brood
2. USDA
3. Uncapping
4. Removing
5. Grooming behavior



شـکل ۱- اندازه گیری تغییرات سلولهای نوزادان به روشـهای مختلف. برای مثال درصد شـفیره درپوش برداری شـده در یک دوره زمانـی مشخـص را می توان بـه عنوان معیـار اصلاح برای مقاومـت به کنه بکـار برد. شـفیره درپوش برداری شـده بدون استفـاده از میکروسکـوپ قابل مشاهده است؛ امـا اندازه گیری درصد شفیره های درپوش برداری شده همیشه دلیل انجام رفتار VSH نیست. اندازه گیری درصد کنه های نابارور (آنهایی که قادر به تولید مثل نیستند) شاخص خوبی برای سنجش میزان مقاومت به واروآ می باشد ولی این اندازه گیری با چشم غیر مسلح دشوار است (هریس و دانکا، ۲۰۱۰).



شکـل ۲- اندازه گیری ناباروری کنـه نیازمند ارزیابی تعدادکنه های مـادر و نوزادان آنهـا می باشد. انجام این کار بـا شفیره های ۵-۳ روزه آسان است که در این شکل شفیره ۵ روزه نشان داده شده است. در این مرحلـه از رشد و نمو زنبور، معمولا کنه ماده ۵-۴ اولاد تولید می نماید که از بین آنها معمولا مسن ترین کنه های دختر به همراه تنها کنه بالغ نر به حد بلوغ رسیده و جفتگیری می نمایند (هریس و دانکا، ۲۰۱۰).

و همچنین خارج کردن کنه ها از سلولهای شفیره ایِ (امن) و در معرض خطر قرار دادن آنها، جمعیت کنه را محدود می نماید (کیران و همکاران، ۲۰۱۱)

روش های اندازه گیری VSH

اندازه گیـری این صفت به سه روش امکان پذیر است(شکل ۱) که برای اهـداف تحقیقاتـی نیازمند استفـاده از هر سه روش بطور تـوام هستیم تا نتایـج بهتری به دست آمـده و سرعت پاسخ به انتخاب افزایش یابد ولی در بررسی‌های مزرعه ای می توان از یک یا دو روش، بسته به امکانات و زمان، استفاده نمود. شرح مختصر هر کدام از روشها به صورت زیر می باشد:

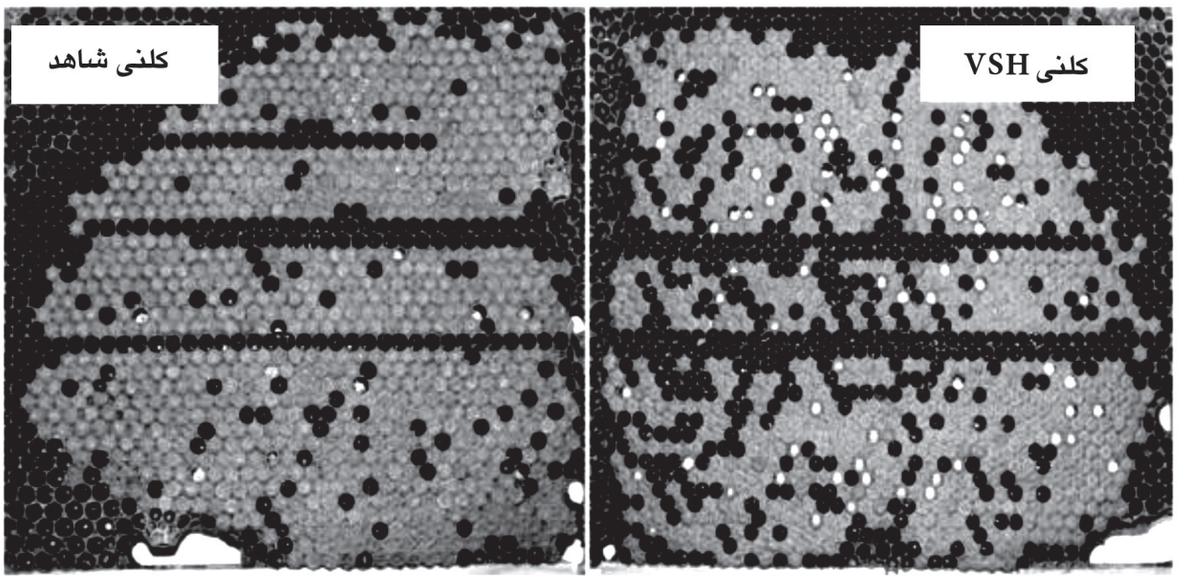
۱-اندازه گیری میزان ناباروری کنه

کارآمد ترین روش برای اندازه گیری VSH این است که میزان ناباروری کنـه اندازه گیری شود. VSH میـزان ناباروری کنه را افزایش می دهد؛ اما مکانیسـم آن هنوز بـه درستی تعیین نشده اسـت. در حالت کلی ۲۵-۱۵ درصـد از کنه ها در کلنی های غیر مقاوم نمـی توانند تخمگذاری نمایند. امـا در کلنی های دارای ملکه های VSH ناباروری کنه به ۱۰۰-۸۰ درصد افزایـش می یابد. جمعیت کنـه در این کلنی ها در نهایـت به دلیل اینکه تعـداد کمی از کنه هـا تخمگذاری می کنند، کاهش مـی یابد (ریندرر و همکاران، ۲۰۱۰).

در شکـل ۲، دو جنبه از موفقیت تولید مثلـی کنه را مشاهده می کنیم کـه می توان آن را با استفـاده از میکروسکوپ اندازه گیری نمود. در زمانی که کل بدن شفیره میزبان به رنگ قهوه ای(Tan) می باشد کنه بارور ۵-۴ نـوزاد تولید نموده است. در حالی که کنـه نابارور هیچ اولادی تولید نکرده اسـت. سایر ساختارهای فامیلی احتمالی دیگری نیز وجود دارند که ممکن اسـت در محاسبات بکار بـرده شوند. مثلاً ممکن است کنه ای وجود داشته باشـد که فقط یک نوزاد نر تولید می کند و کنـه دیگری که ۳-۲ نوزاد نر تولیـد می کند. اما در چنین وضعیتی هیچکدام از نوزادان وقت کافی برای بلـوغ و جفتگیری نخواهد داشت. خوشبختانه نیازی به رکورد گیری تمامی این ساختارهای فامیلی وجود ندارد. تحقیقات نشان داده که فقط تمرکز بر روی درصد کنه های نابارور (اصلاح نژاد برای بالا بودن ناباروری کنه) باعث تولیـد زنبورانی خواهد شد که صفت VSH را تا حد زیادی نشان می‌دهند (هریس و دانکا، ۲۰۱۰).

۲-اندازه گیری میزان درپوش برداری شان‌های آلوده

ایـن روش، سریعترین روش بـرای رصد تغییـرات رخ داده در لاروهای دربسته می باشد. در این روش شفیره های ۳ الی ۵ روزه (ی به شدت آلوده بـه کنه) را در معـرض کلنی ها قرار داده و بعـد از ۳ الی ۴۰ ساعت تعداد شفیره های درپوش برداری شده را اندازه گیری می نمایند. در شکل ۳ یک شـان آلوده به کنه را به دو قسمت تقسیم کرده و هر قسمت در اختیار یک کلنی بـه مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته است. زنبـوران VSH بیش از ۹۰٪



شکل ۳- مقایسه میزان درپوش برداری شفیره های آلوده به کنه در زنبوران VSH و شاهد در مدت ۲۴ ساعت. شفیره های درپوش برداری شده بصورت نقطه های سفید در این شکل دیده می شود (هریس و دانکا، ۲۰۱۰)

شفیره ها را درپوش برداری کردند؛ در حالیکه زنبوران شاهد فقط ۱۵درصد از شفیره ها را درپوش برداری کردند. با بررسی شفیره های درپوش برداری شده در هر دو کلنی معلوم شد که هردو کلنی به میزان ۸۰-۶۵ درصد آلوده به کنه بوده اند. در این آزمایش بسیاری از شفیره های درپوش برداری شده جویـده شدند که نشان مـی دهد که به دنبال درپوش بـرداری شفیره ها، زنبوران شروع به خارج سازی آنها نیز می نمایند. بنابراین پرورش دهندگان ملکه مـی توانند از این مکانیسـم استفاده کرده و میـزان درپوش برداری سلول‌های آلوده به کنه را به عنوان شاخصی برای اندازه گیری این صفت به منظور اصلاح نژاد کلنی های خود در نظر بگیرند(هریس و دانکا، ۲۰۱۰).

۳-سنجش تفاوت میزان آلودگی به کنه در سلول های شـفیرگی قبل و بعد از قرار گرفتن در کلنی های VSH

در این روش با بررسی تعداد حدود ۲۰۰ سلول پیش شفیره از یک شان آلـوده (که بهتر است از کنـدوی دیگری باشد) درصـد آلودگی به کنه در آن را انـدازه گیری کـرده و سپس آن را به مدت یک هفته در اختیار کلنی زنبورعسـل قرار می دهیم. بعد از یک هفته دوباره درصد آلودگی به کنه در این شان با همان روش اندازه گیری می شود. در عرض این یک هفته پیش شفیره ها به تدریج بالغ شده و مراحل مختلف شفیرگی را سپری می کنند. در ایـن مدت کنه نیز تولید مثل می نماید؛ بـه طوری که هر کنه تعدادی تخم می گذارد و تخم‌ها تفریخ شده و تبدیل به نوزاد کنه (پوره[1]) شده و این نـوزادان در طول مدت آزمایش رشد مـی نمایند. منتهی زنبوران VSH با مکانیسم‌های خاص خود که در بالا بحث شد درصد آلودگی را در این شان آلوده کاهش می دهند. زمان یک هفته ای به این دلیل مناسب است که هم فرصت کافی بـه زنبوران برای شناسایی سلولهای الوده داده می شود و هم اینکـه در این مدت هیچکدام از سلولهـای شفیره ای به حد بلوغ نرسیده و امکان بررسی آلودگی آن ها وجود خواهد داشت (ویلا و همکاران، ۲۰۰۹).

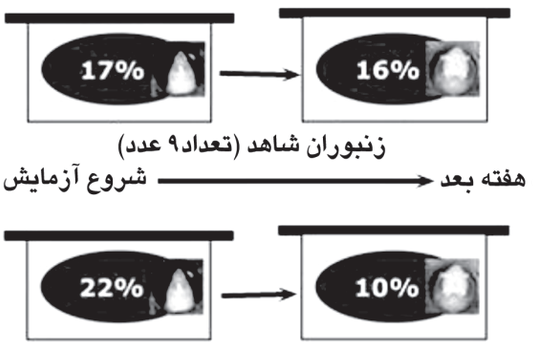
در شکـل ۴ آلودگی نوزاد دربسته در شـروع و پایان یک آزمایش در دو گـروه کلنی بهداشتـی و غیربهداشتی برآورد و مقایسـه گردیده است. اگر میزان آلودگی در حد بسیار پایینی بود به عبارتی در بررسی شفیره ها هیچ کنه ای دیده نشود میزان آلودگی اولیه و ثانویه در هر دو گروه کلنی یکسان خواهـد بود. اگر کلنـی دارای صفت بهداشتی مقاوم بـه واروآ باشد درصد آلودگـی نهایـی به میزان زیادی کاهش خواهد یافـت. به این ترتیب با این انـدازه گیری می توان کلنی هـای VSH را انتخاب و کلنی هایی به دست آورد که مقاوم به کنه می باشند(هریس و دانکا، ۲۰۱۰).

اصلاح نژاد زنبوران عسل برای بهبود VSH

برنامـه های اصلاح نژادی برای ایـن صفت در آمریکای شمالی آغاز شده و آزمایشگـاه زنبورعسل مرکز تحقیقات وزارت کشاورزی ایالات متحده[2] از پیشگامان در این زمینه بوده است. البته قبل از مطرح شدن صفت VSH، در دنیـا اصلاح نـژاد برای مقاومت بـه کنه واروآ با تمرکـز بر روی صفات دیگـری از جمله رفتار بهداشتی، رفتـار نظافت گری، ناباروری کنه، کاهش طـول دوران شفیرگی و غیـره پیگیری می شد و بـا تقویت این صفات در کلنی‌هـای زنبورعسل نقاط مختلف جهان موفقیـت هایی نیز حاصل شده

1. Nymph

2. USDA-ARS Baton Rouge Bee Lab



شکـل ۴ – تغییرات آلودگی به واروآ در شفیره بعد از اینکه شانها در معـرض دو گروه زنبور VSH و شاهد به مدت یک هفته قرار گرفت. در ایـن آزمایش میزان کاهش آلودگی به کنه در زنبوران VSH ۵۵٪ و در زنبوران شاهد فقط ۶٪ بود(هریس و دانکا، ۲۰۱۰)

اسـت. امـا به تدریج دانشمندان بـه این نتیجه رسیدند کـه باید به صفات مستقیـم مقاومت به کنه توجه شود. یکـی از راهکارهای موثر اما پر هزینه این است که تعدادی از کلنی‌ها را بدون مبارزه با کنه واروآ به حال خود رها کرده و در نهایت تعداد اندکی که زنده می‌مانند را به عنوان مقاوم به کنه در برنامه‌هـای پرورش ملکه استفاده نمود. اما همانطور که اشاره شد این روش پر هزینه بوده و منجر به تلف شدن تعداد زیادی کلنی زنبورعسل می‌گردد. بـا گسترش خسارت کنه به زنبـوران عسل استفاده از روش‌های موثر و کم هزینـه تـر مد نظر قـرار گرفت که یکـی از آنها صفت رشـد جمعیت کنه (MPG[1]) در کلنی های زنبورعسل بود. از سال ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۱ این صفت بیشتر مـورد توجه قرار گرفت. با کنترل رشـد جمعیت کنه در کلنی های زنبورعسل به مدت ده هفته، آن دسته از کلنی هایی که رشد جمعیت کنه کمتـری دارند انتخاب شده و برای تشکیل نسـل بعد از این کلنی استفاده می‌شـود. میزان توانایی یک کلنی برای به تعویق انداختن MPG به عنوان معیـار مقاومت آن به واروآ در نظـر گرفته می شود. بررسی‌ها نشان داد که از بیـن مکانیسم‌های مقاومت شناخته شده، فقـط ناباروری کنه با MPG همبستگـی دارد. نابـاروری کنه صفت دارای وراثت پذیـری بالا می‌باشد و کلنی‌هایـی که این صفت را به خوبی نشان می‌دهند دارای مقاومت بالایی نسبت به کنه می‌باشنـد. زنبوران بالغ کلنی‌ها تاثیر زیادی در نابارور کردن کنـه واروآ دارند و از سال ۲۰۰۱ به بعـد نام این صفت به توقف تولید مثل کنه (SMR)[2] تغییر داده شد. با انتخاب لاین‌های SMR، افزایش ناباروری کنـه سرعت بیشتری گرفت. البته هنوز هم عقیده بر این است که علاوه بر زنبـوران بالغ کلنی ها، لاروهای زنبورعسل نیـز در افزایش ناباروری کنه‌ها تاثیـر دارنـد و SMR تمـام عوامل موثـر در ایجاد ناباروری کنـه را در بر می‌گیرد (ریندرر و همکاران، ۲۰۱۰).

در نهایـت به دلیل اینکه اثـر زنبوران بالغ در کاهش ناباروری کنه بیشتر بود، این صفت تحت عنوان زنبوران بهداشتی مقاوم به واروآ (VSH) خوانده شد. زنبوران عسلی که برای این صفت انتخاب می شوند، از نظر مقاومت به کنـه واروآ در سطح مطلوبی قرار دارنـد. قسمت عمده ی برنامه‌های اصلاح نژادی شامل شناسایی و بهبود این صفت در زنبوران عسلی است که قادرند رشـد جمعیت واروآ را در کلنی های خـود محدود نمایند. هدف اصلی این برنامه ها این است که با انتخاب شدید برای صفات مختلف مقاومت به کنه، با بکارگیـری روش‌های اصلاح انتخابی و یا آمیختـه گری این صفات را به زنبوران زنبورستان‌هـای تجاری منتقل نماید تا قابلیت مقاومت به واروآ در آنها افزایش یابد(ریندرر و همکاران، ۲۰۱۰) .

عملکرد زنبوران VSH در شرایط زنبورداری تجاری

بروز VSH زمانی حداکثر است که زنبوران VSH بطور خالص نگهداری شوند؛ ولی در اوایل برنامه اصلاح نژادی مشاهده شد که تعدادی از کلنی‌های حاصـل از جفتگیری زنبوران VSH با زنبوران VSH قادر به پرورش لارو بـه مقـدار کافی نمی باشند. بـا بررسی‌های انجام شده معلـوم شد که این مشکـل مربوط به تشابه آلل هـای جنسی ناشی از همخونی نیست؛ زیرا در اوایل تخم‌ریزی این ملکه ها میزان زنده مانی لاروها بالا(بیش از ۸۵ درصد) بـود و بعـد از چند ماه تخم ریـزی کم بودن میزان پـرورش لارو به چشم می‌خورد (ریندرر و همکاران، ۲۰۱۰).

علـت کاهش پرورش لارو مشخص نبود؛ امـا تمام لاین های VSH این مشکـل را نداشتند و خوشبختانه این مشکل بـه ملکه ها یا لاروهای نسل بعـد منتقل نمی شد به طوری که می توان آن را بطور جداگانه از لاین‌های VSH اصـلاح انتخابی نموده و در عین حال مقاومـت به کنه را نیز حفظ نمـود. برای مثال، در طول سه سـال آزمایش مشخص شد که هیچکدام از ملکه‌های VSH خالص و یا هیبرید مشکل کم بودن پرورش لارو را ندارند. باوجودایـن پیشنهاد شده که تـا زمانی که مشکل بطور کامل برطرف نشده است، بهتر است عرضه تجاری زنبوران VSH به صورت هیبرید انجام شود (به نقل از ریندرر و همکاران، ۲۰۱۰).

زنبوران VSH هیبرید مقاومت به واروآی قابل توجهی داشته و در دوران نگهداری بصورت لاین های آزمایشی، تولید لارو خوبی داشته و اندازه کلنی بزرگـی داشتند. جمعیت کنه در زنبـوران VSH هیبرید به اندازه دو برابر کلنی‌هـای شاهد(کلنی‌های خالص) بود ولی در عوض جمعیت زنبوران بالغ و تعداد لارو بیشتری نسبت به آنها داشتند. در طول یک سال مطالعه میزان آلودگی به کنه ی کلنی های VSH هیبرید به ندرت به سطح آستانه زیان اقتصـادی می رسید؛ اما هنـوز هم تعدادی از آنها کاهش در پرورش لارو را نشان می‌دادند(ریندرر و همکاران، ۲۰۱۰).

عملکـرد کلنی هـای خالص یا هیبریـد VSH با زنبـوران عسل روسیه (RHB)[3] و با یـک گروهی از کلنی‌های شاهد در تعدادی از زنبورستان‌های

1. Mite Population Growth
2. Suppression of Mite Reproduction
3. The Russian Honey Bee

تجاری در آلاباما در یک دوره سه ساله مقایسه شد. در کل زمان مطالعه فقط ۱۲٪ از کلنی های VSH به سطح آستانه زیان اقتصادی رسیدند، در حالیکه در ایـن دوره درصد آلودگی به کنـه در ۲۴٪ از RHB و ۴۰٪ از شاهدها به آستانه رسیدند؛ هرچند که آستانه زیـان اقتصادی برای زنبوران مقاوم هنوز تعییـن نشده و ممکن است با زنبوران معمولی متفاوت باشد. هر سه گروه از نظـر اندازه کلنی، تولید عسل و قدرت زنده مانی ملکه یکسان بودند. استفاده از زنبـوران عسـل VSH می تواند باعـث مقاومت زیاد به کنـه شود بدون اینکه خصوصیـات مطلوب زنبورداری از بین بـرود. گزارشات به دست آمده از زنبـورداران حاکی از خوب بودن کیفیت زنبورداری با هر سه گروه و حتی کلنی‌های VSH خالص می باشد(ریندرر و همکاران، ۲۰۱۰).

انتقال ژرم پلاسم VSH به صنعت زنبورداری

اخیـراً ژرم پلاسم حاوی VSH، توسط شرکت زنبورداری گلن[1] به صنعت زنبـورداری عرضه شده است. ملکـه های اصلاح انتخابی شده ی واجد صفت VSH در بیـن تولیـد کنندگان ملکـه توزیع شد تا دخترانـی از ملکه‌های اصلاح‌گـر[2] تولید کـرده و آنها را با نرهای انتخاب نشـده تلاقی دهند. با این روش کلنی‌هـای هیبریدی بـه دست آمد که یک رگه آن VSH و رگه دیگر آن زنبوران معمولی تجاری بود و هیبریدهای به دست آمده از این طریق هم مقاومت به واروآی قابل توجهی داشتند و هم اینکه میزان پرورش لارو و سایر خصوصیات مطلوب زنبورداری را نیز حفظ نمودند. طی چند سال گذشته در ایـالات متحده، ملکه های اصلاح گر به ۸۰-۵۰ تولید کننده‌ی ملکه فروخته شـده و حتی ۱۵-۱۲ نفر از این تولیـد کنندگان ملکه نیز ملکه‌های هیبرید VSH را به زنبورداران معمولی فروخته اند(ریندرر و همکاران، ۲۰۱۰).

اصـلاح انتخابی زنبوران VSH بیشتر بـر روی مقاومت به واروآ متمرکز بـوده است و کارهایی هـم در مورد انتخاب برای مقاومت به سایر کنه ها از جمله کنه تراشه ای در حال انجام است. \

کاربرد روش‌های مولکولی در صفت VSH

دستیابی به توالی ژنوم زنبورعسل امکان مطالعه تمامی ژن‌های زنبورعسل را فراهـم نموده است. سوال این است کـه آیا می توان در اصلاح نژاد برای VSH و یا هر مکانیسم مقاومت دیگری از روشهای ژنتیک مولکولی کمک گرفت؟ اگر این امکان وجود داشته باشد که ژن‌های کنترل کننده ی صفات مقاومـت شناسایی شوند، می توان با بررسـی مستقیم DNA ی زنبوران، آلل های مطلوب را انتخاب نمود (انتخاب به کمک مارکر یا MAS[3]).

در زنبورعسـل تعیین جایگاه صفات کمی(QTL) برای شناسایی ژنهایی کـه بر رفتارهای نیش زنـی، چراگری و دفاعی، سن چراگـری، واکنش به سوکروز و اتانـول، تخمگذاری کارگر و حتی توان یادگیری بکار رفته است. اگـر توالی قطعات DNAی بکار رفته به عنوان مارکر شناخته شود، امکان شناسایـی ژنهـای کاندیدای صفت مورد نظر وجـود دارد. برای جمع آوری گـرده و نیش زنی مناطق QTL حاوی حدود ۴۰ ژن می‌باشد. در خصوص صفاتـی که بر مقاومت به واروآ تاثیر مـی گذارند، در یک مطالعه ۷ QTL فرضـی موثر بر رفتار بهداشتـی عمومی شناسایی شده امـا توالی مارکرها هنوز ناشناخته مانده و از این رو امکان تطبیق نقشه ژنتیکی با توالی ژنومی و شناسایـی ژن‌هـای کاندیدای صفت مـورد نظر وجود نـدارد(تسورودا و همکاران، ۲۰۱۲ و سولیگناس و همکاران، ۲۰۰۴).

بـرای شناسایی ژن‌های کنترل کننده ی VSH و نقشه یابی جایگاه‌های صفت کمی مطالعه ای توسط تسورودا و همکاران (۲۰۱۲) انجام شده است. ایـن محققان یک QTL عمـده روی کروموزوم شماره ۹ (LOD = ۳,۲۱) و یـک QTL احتمالی روی کروموزوم ۱ (LOD = ۱,۹۵) و همچنین ژنی بنـام No *Receptor Potential* A‘ ، و یـک گیرنـده دوپامین بر روی کروموزوم شمـاره ی ۹ شناسایی نمودند. آزمایشـات بر روی مگس سرکه حاکـی از آن است که NRPA در بویایی و بینایی آن نقش دارد. نتیجه‌ی یک مطالعه نیز نشان داده که دوپامین در یادگیری بوهای آزار دهنده برای زنبورعسـل نقـش دارد و احتمال دارد زنبوران با استفـاده از این مکانیسم کنه‌های داخل سلولهای شفیره را شناسایی می نمایند.

در فرانسـه برای شناسایی ژنهای مقاومت به کنه از ریز آرایه ها[4] استفاده شـده است. ریز آرایه ها، با معرفـی ژنهای کاندیدای صفات مورد نظر، برای تشخیص الگوهای بیان ژن های تاثیر گذار بر صفات رفتاری و فیزیولوژیکی بسیـار سودمند هستند اما بطور محض ژنهای موثر بـر مقاومت به واروآ را شناسایی نمی کنند. این امکان وجود دارد که ژن یا ژنهای مسئول مقاومت در بیـن آنها موجود نباشد؛ زیرا یک ریز آرایـه ممکن است بیان سایر ژنها را نیـز کنتـرل کند یا در زمانهای مختلف بطـور متفاوتی بیان شده و یا در یـک بافت خاصـی بیان شود. مشکل دیگر در مـورد ریزآرایه ها اثرات پس زمینـه ژنتیکی بر بیان ژن است؛ به دلیل اینکه ایجاد لاین های همخون در زنبورعسـل دشوار بوده و لاین های مخالف (مقـاوم و حساس) ایجاد شده ممکن است از نظر سایـر صفات نیز تفاوتهای ژنتیکی زیادی داشته باشند. مطالعـات مربوط به تفـاوت بیان ژن بیشتر در شناسایـی ژنهای دخیل در فرآیندهای فیزیولوژیکـی سودمندتر است. این فرآیندهای فیزیولوژیکی در هنگام آلودگی به کنه واروآ نیز وجود دارند(کفوس و همکاران، ۲۰۰۴).

در حالـت کلی باور دانشمندانی که مطالعـات مولکولی در زمینه صفات مقاومـت به بیماریها انجام مـی دهند بر این است که اطلاعات مولکولی که تاکنون به دست آمده است هنوز به آن اندازه زیاد و روشن نیست که بتوان در انتخـاب کلنی های مقاوم بـه واروآ صرفاً بر آنها تکیه کرد؛ بلکه استفاده از MAS بـه عنـوان قسمتی از برنامه های اصلاح نـژادی باید مدنظر قرار گیرد. با ادامه کاهش هزینه تعیین ژنوتیپ و انجام بررسی های دقیق تر در مورد شناسایی ژنها و QTL ها، این امکان وجود خواهد داشت که بتوان از MAS به عنوان ابزار مفیدی برای گردآوری چندین صفت مقاومتی در یک توده زنبورعسل استفاده نمود.

1. Glenn
2. Beeder
3. Marker Assisted Selection
4. Microarrays

نتیجه گیری

برنامـه هـای اصلاح نژادی بـرای VSH در زنبوران عسل نـژاد کارنیکا آمریکـا شروع شده و نتایج اولیه رضایت بخش و سریع بوده است. محققانی از ایـن کشـور تمایل دارند که این صفت را در زنبـوران عسل ایتالیایی نیز بهبـود دهند زیرا زنبوردارانی وجـود دارند که نگهداری زنبوران ایتالیایی را به زنبوران کارنیکا ترجیح مـی دهند. سایر نژادهای مورد استفاده در نقاط مختلـف دنیـا نیز ممکن اسـت دارای این صفت باشند کـه نیاز به بررسی وجـود دارد. در صـورت انجام بررسـی های گسترده و اصـلاح انتخابی در نقـاط مختلف جهان مـی توان به نتایج مطمئن تـری در این زمینه دست یافـت. نتایج تعدادی از مطالعات در زمینـه مکانیسم های مقاومت به کنه واروآ در ایـران حاکـی از وجود این مکانیسم ها در بسیـاری از کلنی های زنبورعسـل کشور می باشد. تاکنون مطالعـه ای در خصوص صفت VSH در ایـران صورت نگرفته است. امـا آنچه که حائز اهمیت است این است که توده زنبورعسل موجود در کشور دارای تنوع کافی از نظر بسیاری از صفات تولیـدی و مقاومت به بیماریها می باشد. بنابراین ماده خام خوبی در اختیار محققان و مراکز اصلاح نژاد ملکه کشور قرار دارد.

از سوی دیگر علیرغم اینکه وجود صفت VSH در زنبوران عسل می‌تواند رشـد جمعیت کنه را محدود نماید، شاید اتکاء بر این یک مکانیسم عاقلانه نباشد. بهتر است که مقاومت به واروآ را با بهبود مکانیسمهای متعدد افزایش داد. همانطور که این کار در ایالات متحده در حال انجام است. بطور مثال در این کشور مواد شیمیایی محرک برای خارج سازی شفیره‌های آلوده به کنه در دست بررسی می باشد. همچنین مطالعات در مورد شناسایی مارکرهای مولکولـی مرتبط با صفت VSH و امکان استفاده از آنها در اصلاح انتخابی در آینـده در دست انجام است. به نظر می رسد تا مادامی که زنبوران کاملاً مقاوم بـه کنه تولید نشود، صفت VSH باید همـواره به عنوان قسمتی از مدیریت تلفیقی مبارزه با کنه در کلنی‌های زنبورعسل مد نظر قرار گیرد.

منابع مورد استفاده:

1. **Danka R., J., Harris K., Ward & R. Ward (2008)** Status of bees with the trait of *Varroa*-sensitive hygiene (VSH) for *Varroa* resistance, Am. Bee J. 148, 51– 54.
2. **Danka RG, L.I. de Guzman, T.E. Rinderer, H. Allen Sylvester & CM. Wagener (2012)** Functionality of *Varroa*-resistant honey bees (Hymenoptera: Apidae) when used in migratory beekeeping for crop pollination. J. Econ. Entomol. 105: 313–321. doi: 10.1603/ec11286.
3. **Dietemann V, J. Pflugfelder, D. Anderson, J.D. Charrie`re, & N. Chejanovsky (2012)** *Varroa destructor:* research avenues towards sustainable control. J. Apic. Res. 51: 125–132.
4. **Harris J.W. & R.G. Danka (2010)** Selecting for *Varroa* Sensitive Hygiene. An internet article from the site: Extension, America s research based learning network (http://www.extension.org/pages/30984/selecting-for-varroa-sensitive-hygiene#.Uhq5AH-KlwM)
5. **Kefuss J., J. Vanpoucke, J.D. de Lahitte & W. Ritter (2004)** *Varroa* tolerance in France of Intermissa bees from Tunisia and their naturally mated descendants: 1993–2004, Am. Bee J. 144: 563–568
6. **Kirrane M.J., L.I. De Guzman, T.E. Rinderer, A.M. Frake & J. Wagnitz (2011)** Asynchronous development of honey bee host and *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) influences reproductive potential of mites. J Econ Entomol 104: 1146–1152.
7. **Le Conte Y., M. Ellis, & W. Ritter (2010)** *Varroa* mites and honey bee health: can *Varroa* explain part of the colony losses? Apidologie 41: 353–363.
8. **Rinderer T.E., J.W. Harris, G.J. Hunt & L.I. de Guzman (2010)** Breeding for resistance to *Varroa destructor* in North America, Apidologie 41, 409–424.
9. **Sammataro D., U. Gerson, & G. Needham (2000)** Parasitic mites of honey bees: life history, implications, and impact. Ann. Rev. Entom. 45: 519–548.
10. **Solignac M., D. Vautrin, E. Baudry, F. Mougel, A. Loiseau & J.M. Cornuet (2004)** A microsatellite-based linkage map of the honeybee, *Apis mellifera* L., Genetics 167, 253–262.
11. **Thakur R.K., K. Bienefeld & R. Keller (1997)** *Varroa* defense behavior in *A. mellifera carnica.* Am Bee J 137: 143–148.
12. **Tsuruda J.M., J.W. Harris, L. Bourgeois, R.G. Danka & G.J. Hunt 2012.** High-Resolution Linkage Analyses to Identify Genes That Influence *Varroa* Sensitive Hygiene Behavior in Honey Bees. PLOS ONE, Volume 7, Issue 11 , e48276.
13. **Villa J.D., R.G. Danka & J.W. Harris (2009)** Simplified methods of evaluating colonies for levels of *Varroa* sensitive hygiene (VSH), J. Apic. Res. 48, 162–167.