دوفصلنامه علمی ترویجی علوم و فنون زنبورعسل
جلد ۱۰، شماره ۱۹، سال ۱۳۹۸، (۴-۱۲)

بررسی میزان شیوع ویروس فلجی حاد زنبورعسل در زنبورستان های استان کردستان

محمدخضری[1]، صالح صالحی[2]، مجتبی محرمی[1]، حسین مدیرروستا[1]

۱- بخش تحقیقات زنبورعسل، کرم ابریشم و حیوانات وحشی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۲- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ماه ۹۸ / **تاریخ پذیرش**: شهریور ماه ۹۸
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/hbsj.2019.126531.1074
رایانامه: khezri1836@gmail.com

چکیده:

در زنبورعسل (*Apis mellifera L.*) حداقل ۲۳ ویروس گزارش‌شده است. برخی از این ویروس‌ها بیماری‌های شدیدی در زنبورعسل ایجاد می‌کنند لذا در پرورش زنبورعسل اهمیت زیادی دارند. ازجمله این ویروس‌ها می‌توان به ویروس فلجی حاد زنبورعسل (ABPV) اشاره کرد. اطلاعات زیادی در خصوص وضعیت آلودگی زنبورستان های کشور به این ویروس در دست نیست. هدف از این مطالعه بررسی میزان شیوع این ویروس در زنبورستان های استان کردستان بود. در این مطالعه ۵۰ زنبورستان (در دوره ۱۳۹۷-۱۳۹۶) بدون هیچ‌گونه علائمی از بیماری با استفاده از روش RT-PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌ها از شهرستان‌های مختلف استان کردستان جمع‌آوری‌شده بود. آزمایش نمونه با روش RT-PCR نشان داد که از ۵۰ زنبورستان موردمطالعه، ۱۳ (۲۶٪) زنبورستان به ویروس ABPV آلوده بودند. اثبات وجود این ویروس در زنبورستان های استان مستلزم اتخاذ تدابیر مدیریتی لازم جهت جلوگیری از توسعه آن است.

واژه های کلیدی: زنبورعسل، ویروس فلجی حاد زنبورعسل، آپیس ملیفرا، RT-PCR

مقدمه

زنبورعسل اروپایی به‌عنوان حشره‌ای که نقش مهمی در گرده‌افشانی محصولات کشاورزی دارد موردتوجه محققین است (Teixeira *et al*., 2008). زنبورعسل اروپایی نقش حیاتی در اقتصاد و تولید محصولات کشاورزی با کمک به گرده‌افشانی و تولید عسل، موم، گرده، پروپولیس، ژله شاهانه و سایر محصولات خود در جهان بازی می‌کند. به‌طوری‌که تخمین زده می‌شود که تولید یک‌سوم محصولات کشاورزی جهان، وابسته به گرده‌افشانی زنبورعسل است به‌نحوی‌که در سال ۲۰۰۵ برآورد گردید که ارزش گرده‌افشانی زنبورعسل در تولید محصولات کشاورزی حدود ۲۱۲ میلیارد دلار بوده است (Gallai *et al*., 2009).

بااین‌حال، تحقیقات موجود از سال ۱۹۴۰ نشان می‌دهد حیات و فعالیت زنبورعسل توسط انواع مختلفی از عوامل بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا تحت تأثیر قرارگرفته است به‌طوری‌که در حال حاضر این عوامل به‌عنوان یک تهدید برای تولیدات کشاورزی در سطح جهان مطرح هستند (Chen, 2011)، این عوامل را می‌توان در گروه پارازیت‌ها {واروا (Sam-mataro *et al*., 2000)، نوزما (Chen *et al*., 2012)} و پاتوژن ها {ویروس‌ها (Runckel *et al*., 2011)، باکتری‌ها و قارچ‌ها (Aronstein *et al*., 2010)}، سموم کشاورزی (Desneux *et al*., 2007)، کمبود مواد غذایی و تغذیه نامناسب (Crail-sheim *et al*., 2013)، کاهش تنوع ژنتیکی (Mattila *et al*., 2007) و شیوه‌های مدیریتی (Vanengelsdorp *et al*., 2012) دسته‌بندی نمود. با این اوصاف در حال حاضر ویروس‌ها یکی از عوامل عمده تهدیدکننده سلامتی زنبوران عسل می‌باشند که نگرانی‌های بسیاری را ایجاد کرده‌اند (Tantillo *et al*., 2015).

در سال ۱۹۷۱، تعداد ویروس‌های بیماری‌زای شناخته‌شده زنبورعسل ۳ مورد بود (Bailey, 1971)، اما ۵ سال بعد تعداد آن‌ها به ۶ مورد افزایش یافت (Bailey, 1976) و در حال حاضر که لیست بیماری‌های ویروسی زنبورعسل بررسی می شود، حدود ۲۳ ویروس گزارش‌شده است و بسیاری از این ویروس‌ها با ایجاد عفونت‌های مخفی و بدون علامت، تأثیرات زیادی در زنبور و کلنی دارند و زمینه‌ساز بروز بیماری‌های دیگر در زنبور و کلنی شده‌اند (McMenamin *et al*., 2015). وجود عوامل استرس‌زا ازجمله واروا باعث می‌شود تأثیرات این ویروس‌ها آشکارشده و علائم بیماری مشاهده گردد (Martin *et al*., 2012; McMahon *et al*., 2015). علائم بیماری‌های ویروسی از یک ویروس به ویروس دیگر متفاوت است، ازجمله این علائم می‌توان به بال تغییر شکل یافته، تغییر رنگ، ریزش مو، نفخ شکم، فلجی، کاهش حرکت، مرگ‌ومیر نوزادان و بالغین اشاره کرد (McMenamin *et al*., 2015; Singh *et al*., 2010). برخی از این بیماری‌ها به‌راحتی از طریق مشاهده رفتار و ظاهر زنبورعسل آلوده قابل‌تشخیص می‌باشند درحالی‌که برخی دیگر از آن‌ها تنها از طریق مشاهدات دقیق و پیوسته یا با روش‌های مولکولی تشخیص داده می‌شوند (Wang *et al*., 2016). ABPV برای اولین بار در حین انجام آزمایش‌های آزمایشگاهی به‌عنوان عامل یک عفونت بدون علامت در زنبوران بالغ کشف شد (Benjeddou *et al*., 2001).

این ویروس آلوده‌کننده زنبورعسل درکلنی های ظاهراً سالم از کشورهای مختلفی گزارش‌شده است (Allen *et al*., 1996; Bakonyi *et al*., 2002a; Benjeddou *et al*., 2001; Berényi *et al*., 2006; Ellis *et al*., 2005; Sanpa *et al*., 2009; Tentcheva *et al*., 2004). این عفونت با تأثیر عوامل استرس‌زایی مانند آلودگی به مایت واروا، عفونت‌های باکتریایی، استفاده از مواد شیمیایی درکلنی و حشره‌کش‌های شیمیایی کشاورزی تشدید و آشکار می‌شود (Bakonyi *et al*., 2002a; Bakonyi *et al*., 2002b). عفونت شدید ABPV با مرگ سریع بزرگ‌سالان مشخص می‌شود؛ علائم عفونت پنهان این ویروس عبارت از فلجی پیش‌رونده که با لرزش، عدم توانایی پرواز، تیره شدن تدریجی رنگ بدن و از دست دادن موهای قفسه سینه و شکم همراه است (Bailey *et al*., 1963; de Miranda *et al*., 2010a; Maori *et al*., 2007; Ribière *et al*., 2008). ABPV قادر به آلوده نمودن تمام مراحل رشد و دگردیسی زنبورعسل است اما شفیرگی مناسب‌ترین مرحله برای رشد ویروس است (Chen *et al*., 2006; Sanpa *et al*., 2009).

در شفیره، ویروس در دو بخش مغز و به‌ویژه در غدد بزاقی تحت‌فکی انباشته می‌شود (de Miranda *et al*., 2010a) و در مدفوع نیز قابل‌شناسایی است (de Miranda *et al*., 2010a; Hung, 2000; Ribière *et al*., 2008)، به‌طوری‌که این موارد، انتقال ویروس از طریق مواد غذایی و همچنین از طریق ترشحات غدد بزاقی زنبوران بالغ به لاروهای جوان و اختلاط ویروس با گرده ذخیره‌شده درکلنی را تائید می‌کند (Benjed-dou *et al*., 2001). لاروها در صورت دریافت مقادیر زیادی از ذرات ویروس، قبل از ورود به مرحله شفیرگی می‌میرند و در

صورت زنده ماندن، به‌عنوان زنبوری آلوده مرحله شفیرگی را پشت سر خواهند گذاشت (Bailey *et al*., 1991). شناسایی توالی مولکولی ABPV در منی زنبوران نر به‌ظاهر سالم (Yue *et al*., 2006)، احتمال انتقال جنسی این ویروس را مطرح نموده است، هرچند برای تائید این موضوع مطالعه بر روی تخم و جداسازی ویروس از آن ضروری است (Tantillo Ga-mil *et al*., 2015). ABPV به‌عنوان عامل اصلی مرگ‌ومیر زنبوران عسل آلوده به مایت واروا دستراکتور گزارش‌شده است (Antúnez *et al*., 2005; Bakonyi *et al*., 2002b; Nord-ström, 2000) در ضمن این ویروس به‌عنوان عامل مرگ‌ومیر کلنی‌های ضعیف در کشورهای آلمان (Siede *et al*., 2008)، یوگسلاوی (Bakonyi *et al*., 2002b)، فرانسه (Tentcheva *et al*., 2004) و لهستان (Forgách *et al*., 2008) معرفی‌شده است.

به‌علاوه در مطالعات متعددی حضور این ویروس در مایت واروا ثابت‌شده است (Allen *et al*., 1986; Bakonyi *et al*., 2002a; Bakonyi *et al*., 2002b; Chantawannakul *et al*., 2006; Tentcheva *et al*., 2004). اصطلاح سندروم مایت انگلی زنبورعسل برای کلنی‌های آلوده ویروسی که به مایت واروا نیز آلوده‌شده باشند اطلاق می‌گردد که از مشخصات آن‌ها، مرگ‌ومیر زیاد این کلنی‌ها است (Hung *et al*., 1995; Shimanuki *et al*., 1994). طی دهه گذشته با توجه به گسترش سریع مایت واروا در اروپا، ABPV نیز گسترش زیادی پیداکرده است (Berényi *et al*., 2006). مایت واروا در توسعه این ویروس دارای نقش دوگانه است به‌طوری‌که از یک‌سو به‌عنوان عامل مکانیکی انتقال ویروس مطرح است و از دیگر سو به دلیل ایجاد استرس در زنبور باعث رشد سریع ویروس و توسعه بیماری درکلنی می‌شود (Bakonyi *et al*., 2002a; Bakonyi *et al*., 2002b; Berényi *et al*., 2006).

مطالعات انجام‌شده در خصوص بیماری‌های ویروسی زنبورعسل در ایران بسیار محدود است و گزارش‌های معدودی از بعضی از نقاط کشور وجود دارد. لذا با توجه به گسترش روزافزون زنبورداری در استان کردستان، بررسی این بیماری ویروسی خطرناک زنبورعسل در اولویت قرار گرفت تا نمایی از وضعیت این بیماری در زنبورستان های استان مشخص گردد.

مواد و روش ها

نمونه‌برداری:

برای انتخاب نمونه ها از روش تصادفی ساده استفاده شد. در این روش با استفاده از فرمول $n = \frac{Z^2pq}{d^2}$ و ضریب اصلاحی SPC، ۵۰ زنبورستان مورد نمونه برداری قرار گرفت. برابر دستورالعمل سازمان دامپزشکی کشور، در مراجعه به هر زنبورستان از ۵ درصد کلنی های موجود در زنبورستان نمونه برداری به عمل آمد (Bokaie *et al*., 2010). قبل از نمونه برداری وضعیت سلامت کلنی ها بررسی گردید به‌طوری‌که کلنی های مورد نمونه برداری فاقد هرگونه علائمی از بیماری بودند لیکن در بخش زیادی از آن‌ها آلودگی به وارو دستراکتور وجود داشت. زنبوران بالغ جمع‌آوری‌شده هر زنبورستان مخلوط و تحت یک نمونه پس از ثبت مشخصات، تا ان انجام آزمایش‌ها در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج: RNA زنبورهای عسل در هاون سرامیکی استریل با استفاده از آب استریل دی اتیل پیروکربنات تریتد له‌شده و یک محلول هموژن تهیه گردید. محلول هموژن در ۲۰/۰۰۰ g به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ شد، سپس ۱۴۰ میکرو لیتر محلول سوپرناتانت برای استخراج RNA به آن اضافه شد (Berényi *et al*., 2006) و با استفاده از کیت Jena Bioscience (Biotech-nology Company in Jena, Germany) و دستورالعمل آن نسبت به استخراج RNA اقدام و محصول نهایی برای انجام مراحل بعد در منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

پرایمر: برای شناسایی ویروس دفرمه شدن بال قطعه bp۴۶۰ از ژن ۱۶S rRNA انتخاب شد (Benjeddou *et al*., 2001).

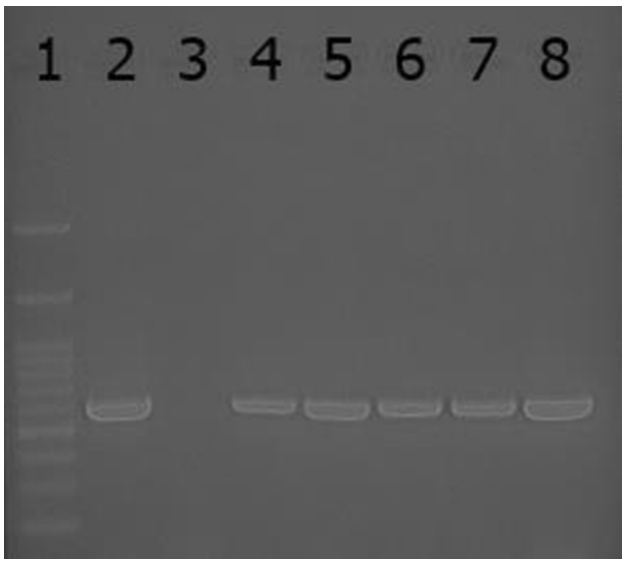
ABPV-F 5'- ttatgtgtccagagactgtatcca-3'

ABPV-R 5'- gctcctattgctcggtttttcggt-3'

آزمایش واکنش زنجیره ای پلیمراز: این مرحله با استفاده از کیت Rocket Script RT-PCR از شرکت Bioneer ((Daedeok-gu, Daejeon 306-220, Republic of Korea و طبق دستورالعمل کیت انجام شد. برنامه استفاده‌شده شامل یک سیکل ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه، یک سیکل ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و ۴۰ سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و یک سیکل ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه بود (Berényi *et al*., 2006). الکتروفورز: وزن مولکولی محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۲ درصد که به آن اتیدیوم بروماید اضافه‌شده بود تعیین شد و از مارکر bpDNA-1000 استفاده گردید و بر روی دستگاه UV-Trans illuminator باندها مشاهده و سپس از ژل عکس گرفته شد.

نتایج

کلیه نمونه های جمع‌آوری‌شده از ۵۰ زنبورستان استان با روش RT-PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که از ۵۰ زنبورستان موردبررسی، ۱۳ (۲۶٪) زنبورستان به ABPV آلوده بودند.



شکل ۱) الکتروفورز محصولات حاصل از RT-PCR نمونه‌های حاوی ویروس ABPV، چاهک ۱: مارکر، چاهک ۲: کنترل مثبت، چاهک ۳: کنترل منفی، چاهک های ۴-۸: جدایه های مثبت

بحث و نتیجه‌گیری:

عفونت‌های ویروسی می‌توانند برای مدت‌های مدید درکلنی ها به‌صورت خفته و غیرقابل تشخیص وجود داشته باشند (Chen *et al*., 2007; De Miranda *et al*., 2010). مطالعات متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد عوامل استرس‌زایی که موجب تضعیف سیستم ایمنی زنبورعسل می‌شوند می‌توانند عفونت‌های خفته ویروسی پنهان درکلنی های را فعال نمایند (Locke *et al*., 2012; Yang *et al*., 2005). این عوامل شامل حشره‌کش‌ها (Di Prisco *et al*., 2013)، تنش‌های زیست‌محیطی، عفونت‌ها و آلودگی با سایر عوامل بیماری‌زا می‌باشند (Nazzi *et al*., 2012; Yang *et al*., 2005). بیشتر ویروس‌های زنبورعسل بدون دارا بودن علائمی از بیماری درکلنی های زنبورعسل گسترش وسیعی دارند (Allen *et al*., 1996; Bailey, 1976)، بااین‌حال کلنی‌های به‌ظاهر سالم ممکن است به‌طور هم‌زمان به چندین ویروس آلوده باشند (Chen *et al*., 2004). مطالعات متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد عوامل استرس‌زایی که موجب تضعیف سیستم ایمنی زنبورعسل می‌شوند می‌توانند عفونت‌های خفته ویروسی پنهان درکلنی ها را فعال نمایند (Locke *et al*., 2012; Yang *et al*., 2005). این عوامل شامل حشره‌کش‌ها (Di Prisco *et al*., 2013)، تنش‌های زیست‌محیطی، عفونت‌ها و آلودگی با سایر عوامل بیماری‌زا می‌باشند (Nazzi *et al*., 2012; Yang *et al*., 2005). کنه وارو در حال حاضر علاوه بر ایجاد آسیب‌های مستقیم به زنبورعسل، به‌عنوان یک عامل منتقل‌کننده ویروس ABPV شناسایی‌شده است (Tentcheva *et al*., 2004). ABPV در سال ۲۰۱۳ از آمریکای جنوبی گزارش‌شده است (Reynaldi *et al*., 2013) درحالی‌که در سال ۲۰۰۶ از استرالیا وجود این ویروس در زنبورستان ها گزارش‌شده است (Berényi *et al*., 2006). وجود این ویروس در سال ۲۰۰۱ در آفریقای جنوبی مورد تائید قرارگرفته است (Benjeddou *et al*., 2001). در سال ۲۰۱۸ بررسی ۱۶ منطقه پرورش زنبورعسل در یمن نشان داد که ۲ منطقه آلوده ABPV بودند (Haddad *et al*., 2018). در سال ۲۰۰۸ بررسی هفت منطقه در کشور اردن جهت تعیین میزان آلودگی کلنی‌ها به ABPV با روش مولکولی، میزان آلودگی را ۱۶ درصد نشان داد (Haddad *et al*., 2008). در بررسی ۹۰ زنبورستان در سال ۲۰۱۴ در استان هاکاری ترکیه، فقط از ۲ زنبورستان

ABPV جاسازی شد (Rustemoglu *et al*., 2016) درحالی‌که مطالعه ۱۱ زنبورستان در کشور صربستان نشان داد که تعداد ۱۰ زنبورستان به ABPV آلوده بودند (Simeunović *et al*., 2014). قرآنی و همکاران در سال ۲۰۱۷ وجود این ویروس را در ایران گزارش کردند (Ghorani *et al*., 2017). با توجه به عدم وجود دارو جهت کنترل بیماری‌های ویروسی، استفاده از راهکارهای مدیریتی تنها روش کنترل و کاهش این بیماری‌ها در زنبورستان ها است. برای کنترل و کاهش بیماری‌های ویروسی و تیتر ویروس در یک کلنی انجام یک مدیریت فعال و جلوگیری از مواجهه کلنی با منابع آلودگی و سایر عوامل استرس‌زا ضروری است. به این منظور بازرسی مستقیم کلنی‌ها توسط فرد کاملاً مطلع ضروری است. مشاهده شان های دارای سلول‌های خالی پراکنده در سطح آن‌که نشان‌دهنده از بین رفتن شفیره و خارج کردن آن توسط زنبوران پرستار است از علائم مهم بیماری‌های ویروسی است. برای محافظت بیشتر کلنی‌ها انجام این موارد ضروری است: انجام اقدامات بهداشتی، استفاده از شان تازه، جایگزینی تجهیزات آلوده، تغذیه‌های کمکی و مناسب، تغذیه با گرده پاک و سالم، جلوگیری از مواجهه کلنی با هر نوع استرس از جمله آلودگی با واروا دستراکتور، سموم شیمیایی، گرسنگی، کوران باد و سرما که منجر به تضعیف سیستم ایمنی زنبور می‌شود. تعویض ملکه و شان‌های کلنی از بهترین روش‌های کنترل بیماری‌های ویروسی در زنبورعسل است و در آینده سایر راه‌های کنترل آلودگی های ویروسی، پرورش گونه‌های خاص زنبورعسل است که قادر به تشخیص آلودگی زنبوران، شفیره یا لاروها بوده و نسبت به حذف این عوامل از کلنی اقدام خواهند کرد (Sarwar, 2016).

منبع ها:

Allen, M., & Ball, B. 1996. The incidence and world distribution of honey bee viruses. Bee world, 77(3): 141-162.

Allen, M., Ball, B., White, R., & Antoniw, J. 1986. The detection of acute paralysis virus in *Varroa jacobsoni* by the use of a simple indirect ELISA. Journal of Apicultural Research, 25(2): 100-105.

Antúnez, K., D'Alessandro, B., Corbella, E., & Zunino, P. 2005. Detection of chronic bee paralysis virus and acute bee paralysis virus in Uruguayan honeybees. Journal of Invertebrate Pathology, 90(1):69-72.

Aronstein, K., & Murray, K. 2010. Chalkbrood disease in honey bees. Journal of Invertebrate Pathology, 103: S20-S29.

Bailey, L. 1971. Honey-bee viruses. Science Progress: 309-323.

Bailey, L. 1976. Viruses attacking the honey bee. Advances in Virus Research, 20: 271-304.

Bailey, L., & Ball, B. V. 1991. Honeybee Pathology (2 ed.). sidcup, Kent, UK: Harcourt Brace Jovanovich.

Bailey, L., Gibbs, A., & Woods, R. 1963. Two viruses from adult honey bees (*Apis mellifera* Linnaeus). Virology, 21(3): 390-395.

Bakonyi, T., Farkas, R., Szendröi, A., Dobos-Kovács, M., & Rusvai, M. 2002. Detection of acute bee paralysis virus by RT-PCR in honey bee and *Varroa destructor* field samples: rapid screening of representative Hungarian apiaries. Apidologie, 33(1): 63-74.

Bakonyi, T., Grabensteiner, E., Kolodziejek, J., Rusvai, M., Topolska, G., Ritter, W., & Nowotny, N. 2002. Phylogenetic analysis of acute bee paralysis virus strains. Applied and Environmental Microbiology, 68(12): 6446-6450.

Benjeddou, M., Leat, N., Allsopp, M., & Davison, S. 2001. Detection of acute bee paralysis virus and black queen cell virus from honeybees by reverse transcriptase PCR. Applied and Environmental Microbiology, 67(5): 2384-2387.

Berényi, O., Bakonyi, T., Derakhshifar, I., Köglberger, H., & Nowotny, N. 2006. Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries. Applied and Environmental Microbiology, 72(4): 2414-2420.

Bokaie, S., Mehrabadi, M., & Sharifi, L. 2010. Epidemiological study of *varroosis* in honey bee in Golestan Province, Iran. Paper presented at the 9th Annual Congress of Society for Veterinary Epidemiology and Preventive

Medicine, Southern African.

Chantawannakul, P., Ward, L., Boonham, N., & Brown, M. 2006. A scientific note on the detection of honeybee viruses using real-time PCR (TaqMan) in *Varroa* mites collected from a Thai honeybee (*Apis mellifera*) apiary. Journal of Invertebrate Pathology, 91(1): 69-73.

Chen, Y.-W., Chung, W.-P., Wang, C.-H., Solter, L. F., & Huang, W.-F. 2012. *Nosema ceranae* infection intensity highly correlates with temperature. Journal of Invertebrate Pathology, 111(3): 264-267.

Chen, Y. 2011. Viruses and viral diseases of the honey bee, *Apis mellifera*. Recent Advances in Entomological Research (pp. 105-120): Springer.

Chen, Y., Evans, J., & Feldlaufer, M. 2006. Horizontal and vertical transmission of viruses in the honey bee, *Apis mellifera*. Journal of Invertebrate Pathology, 92(3): 152-159.

Chen, Y., Zhao, Y., Hammond, J., Hsu, H.-t., Evans, J., & Feldlaufer, M. 2004. Multiple virus infections in the honey bee and genome divergence of honey bee viruses. Journal of Invertebrate Pathology, 87 (2): 84-93.

Chen, Y. P., & Siede, R. 2007. Honey bee viruses. Advances in Virus Research, 70: 33-80.

Crailsheim, K., Brodschneider, R., Aupinel, P., Behrens, D., Genersch, E., Vollmann, J., & Riessberger-Gallé, U. 2013. Standard methods for artificial rearing of *Apis mellifera* larvae. Journal of Apicultural Research, 52 (1): 1-16.

de Miranda, J. R., Cordoni, G., & Budge, G. 2010. The acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex. Journal of Invertebrate Pathology, 103: S30-S47.

De Miranda, J. R., & Genersch, E. 2010. Deformed wing virus. Journal of Invertebrate Pathology, 103: S48-S61.

Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J.-M. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annual Review of Entomology, 52: 81-106.

Di Prisco, G., Cavaliere, V., Annoscia, D., Varricchio, P., Caprio, E., Nazzi, F., . . ., & Pennacchio, F. 2013. Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. Proceedings of the National Academy of Sciences, 110 (46): 18466-18471.

Ellis, J. D., & Munn, P. A. 2005. The worldwide health status of honeybees. Bee World, 86: 88.

Forgách, P., Bakonyi, T., Tapaszti, Z., Nowotny, N., & Rusvai, M. 2008. Prevalence of pathogenic bee viruses in Hungarian apiaries: situation before joining the European Union. Journal of Invertebrate Pathology, 98 (2): 235-238.

Gallai, N., Salles, J. M., Settele, J., & Vaissiere, B. E. 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. Ecological Economics, 68: 810-821.

Ghorani, M. R., Madadgar, O., Ghalyanchi Langeroudi, A., Rezapanah, M. R., Nabian, S., Akbarein, H., & . . . Forsi, M. 2017. The first comprehensive molecular detection of six honey bee viruses in Iran in 2015-2016. Archives Virology: 1-5.

Haddad, N., Al-Gharaibeh, M., Nasher, A., Anaswah, E., Alammari, Y., & Horth, L. 2018. Scientific note: molecular detection of pathogens in unhealthy colonies of *Apis mellifera* jemenitica. Apidologie, 49(1): 84-88.

Haddad, N., Brake, M., Migdadi, H., & de Miranda, J. R. 2008. First detection of honey bee viruses in Jordan by RT-PCR. Jordan Journal of Agricultural Sciences, 4 (3): 242-247.

Hung, A. 2000. PCR detection of Kashmir bee virus in honey bee excreta. Journal of Apicultural Research, 39 (3-4): 103-106.

Hung, A. C., Adams, J. R., & Shimanuki, H. 1995. Bee parasitic mite syndrome.(II). The role of *Varroa* mite and viruses. American Bee Journal, 135 (10): 731-732.

Locke, B., Forsgren, E., Fries, I., & de Miranda, J. R. 2012. Acaricide treatment affects viral dynamics in *Varroa destructor*-infested honey bee colonies via both host physiology and mite control. Applied and Environmental Microbiology, 78 (1): 227-235.

Maori, E., Lavi, S., Mozes-Koch, R., Gantman, Y., Peretz, Y., Edelbaum, O., . . . , & Sela, I. 2007. Isolation and

characterization of Israeli acute paralysis virus, a dicistrovirus affecting honey bees in Israel: evidence for diversity due to intra- and inter-species recombination. Journal of General Virology, 88: 3428-3438.

Martin, S. J., Highfield, A. C., Brettell, L., Villalobos, E. M., Budge, G. E., Powell, M., . . ., & Schroeder, D. C. 2012. Global honey bee viral landscape altered by a parasitic mite. Science, 336 (6086): 1304-1306.

Mattila, H. R., & Seeley, T. D. 2007. Genetic diversity in honey bee colonies enhances productivity and fitness. Science, 317 (5836): 362-364.

McMahon, D. P., Fürst, M. A., Caspar, J., Theodorou, P., Brown, M. J., & Paxton, R. J. 2015. A sting in the spit: widespread cross infection of multiple RNA viruses across wild and managed bees. Journal of Animal Ecology, 84 (3): 615-624.

McMenamin, A. J., & Genersch, E. 2015. Honey bee colony losses and associated viruses. Current Opinion in Insect Science, 8: 121-129.

Nazzi, F., Brown, S. P., Annoscia, D., Del Piccolo, F., Di Prisco, G., Varricchio, P., . . ., & Pennacchio, F. 2012. Synergistic parasite-pathogen interactions mediated by host immunity can drive the collapse of honeybee colonies. PLoS Pathogens, 8 (6): e1002735.

Nordström, S. 2000. Virus infections and *Varroa* mite infestations in honey bee colonies. (PhD Thesis), Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.

Reynaldi, F. J., Sguazza, G. H., Albicoro, F. J., Pecoraro, M. R., & Galosi, C. M. 2013. First molecular detection of co-infection of honey bee viruses in asymptomatic Bombus atratus in South America. Brazilian Journal of Biology, 73 (4): 797-800.

Ribière, M., Ball, B., & Aubert, M. 2008. Natural history and geographical distribution of honey bee viruses. Virology and the Honey Bee: 15-84.

Runckel, C., Flenniken, M. L., Engel, J. C., Ruby, J. G., Ganem, D., Andino, R., & DeRisi, J. L. 2011. Temporal analysis of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, Nosema, and Crithidia. PloS One, 6 (6): e20656.

Rustemoglu, M., & Sipahioglu, H. M. 2016. Occurrence and Molecular Characterization of Acute Bee Paralysis Virus (ABPV) in Honeybee (*Apis mellifera*) Colonies in Hakkari Province. Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences, 26 (2): 174-182.

Sammataro, D., Gerson, U., & Needham, G. 2000. Parasitic mites of honey bees: life history, implications, and impact. Annual Review of Entomology, 45 (1): 519-548.

Sanpa, S., & Chantawannakul, P. 2009. Survey of six bee viruses using RT-PCR in Northern Thailand. Journal of Invertebrate Pathology, 100 (2): 116-119.

Sarwar, M. 2016. Prevalence of multiple viral diseases associated with honey bees colony collapse and control of disorders. International Journal of Zoology Studies, 1(2): 29-34.

Shimanuki, H., Calderone, N., & Knox, D. 1994. Parasitic mite syndrome: the symptoms. American Bee Journal, 134 (12): 827-828.

Siede, R., König, M., Büchler, R., Failing, K., & Thiel, H.-J. 2008. A real-time PCR based survey on acute bee paralysis virus in German bee colonies. Apidologie, 39 (6): 650-661.

Simeunović, P., Stevanović, J., Vidanović, D., Nišavić, J., Radović, D., Stanišić, L., & Stanimirović, Z. 2014. A survey of deformed wing virus and acute bee paralysis virus in honey bee colonies from serbia using real-time RT-PCR. Acta Veterinaria, 64(1): 81.

Singh, R., Levitt, A. L., Rajotte, E. G., Holmes, E. C., Ostiguy, N., Lipkin, W. I., . . ., & Cox-Foster, D. L. 2010. RNA viruses in hymenopteran pollinators: evidence of inter-taxa virus transmission via pollen and potential impact on non-*Apis* hymenopteran species. PloS One, 5 (12): e14357.

Tantillo, G., Bottaro, M., Di Pinto, A., Martella, V., Di Pinto, P., & Terio, V. 2015. Virus Infections of Honeybees

Apis mellifera. Italian Journal of Food Safety, 4 (3): 5364.

Teixeira, E. W., Chen, Y., Message, D., Pettis, J., & Evans, J. D. 2008. Virus infections in Brazilian honey bees. Journal of Invertebrate Pathology, 99 (1): 117-119.

Tentcheva, D., Gauthier, L., Zappulla, N., Dainat, B., Cousserans, F., Colin, M. E., & Bergoin, M. 2004. Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. Applied and Environmental Microbiology, 70 (12): 7185-7191.

Vanengelsdorp, D., Caron, D., Hayes, J., Underwood, R., Henson, M., Rennich, K., . . ., & Lee, K. 2012. A national survey of managed honey bee 2010–11 winter colony losses in the USA: results from the Bee Informed Partnership. Journal of Apicultural Research, 51(1): 115-124.

Wang, H., Meeus, I., & Smagghe, G. 2016. Israeli acute paralysis virus associated paralysis symptoms, viral tissue distribution and Dicer-2 induction in bumblebee workers (*Bombus terrestris*). Journal of General Virology, 97(8): 1981-1989.

Yang, X., & Cox-Foster, D. L. 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102(21): 7470-7475.

Yue, C., Schröder, M., Bienefeld, K., & Genersch, E. 2006. Detection of viral sequences in semen of honeybees (*Apis mellifera*): evidence for vertical transmission of viruses through drones. Journal of Invertebrate Pathology, 92(2): 105-108.

The prevalence of *acute bee paralysis virus* (ABPV) in Kurdistan apiaries

M. Khezri[1], S. Salahi[2], M. Moharrami[1], H. Modirrousta[1]

1- Department of Honey Bee, Silk Worm and Wildlife Research Diseases, Razi Vaccine and Serum Research Institute, AREEO, Karaj, Iran

2- Animal Science Department, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Sanandaj, Iran

DOI: 10.22092/hbsj.2019.126531.1074

Abstract

At least 23 viruses have been reported in the honey bee (*Apis mellifera* L.). However, severe diseases in honey bees are mainly caused by many viruses, and these are the most important in beekeeping. These viruses include deformed wing virus (DWV), acute bee paralysis virus (ABPV), Kashmir bee virus (KBV), and Israeli bee paralysis virus (IBPV). In this study, we evaluated 50 Iranian honey bee apiaries (during the period 2015-2016) without symptoms of the disease, by employing reverse transcription-PCR (RT-PCR). Samples were collected from ten counties of Kurdistan province. Of the 50 apiaries examined, 13 (26%) were infected by ABPV. To maintain the health of honey bee colonies, bee viruses should be controlled and monitored. The present study evaluated the presence of the ABPV in bee colonies without the symptom of infections of the viruses in the Kurdistan province of Iran.

Key words: ABPV, RT-PCR, *Apis mellifera*, Honey bee

Corresponding Author: M. khezri

Email: khezri1836@gmail.com