دوفصلنامه علمی ترویجی علوم و فنون زنبورعسل
جلد ۱۲، شماره ۲۳، سال ۱۴۰۰، (۳۴-۴۷)

بررسی وضعیت سلامت کلنی‌های زنبورعسل و ارائه یک رویکرد مدیریتی برای کنترل بیماری‌ها و آفات در زنبورستان‌ها

بهارک محمدیان[1]، عطاالله رحیمی[2]

۱- بخش بیماریهای زنبورعسل، کرم ابریشم و حیات وحش 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 استان کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ماه ۱۴۰۰ / **تاریخ پذیرش**: اسفند ماه ۱۴۰۰
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/hbsj.2022.127239
رایانامه: Ata.rahimi@areeo.ac.ir

چکیده:

زنبورعسل همانند سایر موجودات دارای آفات و بیماری‌های مختلف است که هر ساله منجر به تلفات چشمگیر در جمعیت‌های آن و کاهش کمی و کیفی فرآورده‌های تولیدی کلنی‌ها می‌شوند. دانش و مهارت در زمینه پیشگیری، تشخیص، درمان و کنترل آفات و بیماری‌های زنبورعسل می‌تواند نقش کلیدی در مدیریت زنبورستان و سلامت زنبورهای عسل ایفاء کند. روش‌های استفاده شده در تشخیص آفات و بیماری‌های زنبورعسل با تکنیک‌های رایج در دامپزشکی جهت تشخیص آفات و بیماری دام‌ها متفاوت است و بیشتر تکنیک‌های استفاده شده در دامپزشکی برای تشخیص آفات

و بیماریهای زنبورعسل کاربردی ندارد. کلنی-های زنبورعسل ممکن است تحت تاثیر انواع مختلفی از عوامل زنده و غیر زنده قرار گیرند که این بررسی به مروری بر تشخیص مهمترین آفات و بیماری‌های زنبورعسل و ارائه یک رویکرد مدیریتی برای تشخیص و کنترل آنها در زنبورستان‌ها می‌پردازد.

کلمات کلیدی: زنبورعسل، آفات و بیماری‌ها، تکنیک‌های تشخیصی

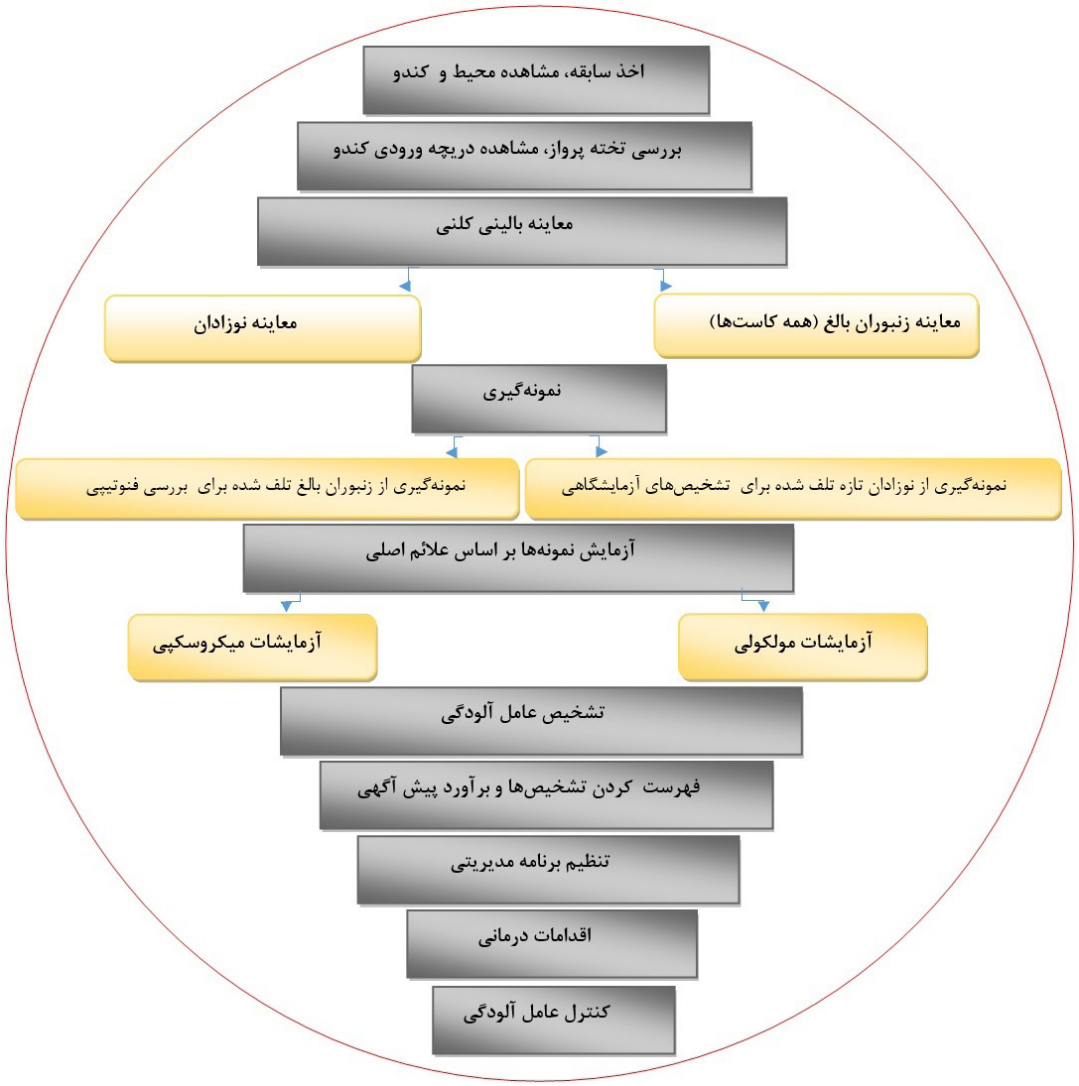
مقدمه

زنبورعسل اروپایی (*Apis mellifera* L.) یک گونه مهم و کارآمد در بحث گرده‌افشانی محصولات کشاورزی و محیط زیست است که حضور آن برای گرده‌افشانی گیاهان به ویژه گونه‌های نادر، کمیاب و در معرض انقراض و حفظ تنوع زیستی در اکوسیستم‌های مدیریت شده و طبیعی ضروری است. در کنار نقش ممتاز و برجسته‌ای در امر گرده‌افشانی، زنبورعسل به‌طور غیر مستقیم در حفظ تغذیه و سلامت انسان و پایداری اقتصاد جهانی نقش موثری دارد (Chauzat *et al*., 2013). زنبورداری صنعتی و مدرن در سراسر جهان با چالش‌های زیادی روبرو است که ناشی از عوامل مختلف از جمله جهانی شدن، روش‌های مختلف مدیریتی، عوامل اقتصادی-اجتماعی، آلودگی‌های شیمیایی و تغییرات زیست محیطی مانند گرم شدن کره زمین می‌باشد. علاوه بر این موارد، بیماریها و آفات مختلف زنبورعسل نیز تهدیدی جدی برای سلامت زنبورهای عسل می‌باشند (Gajger *et al*., 2021). سلامت کلنی‌های زنبورعسل تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارد. بنابراین، تشخیص عوامل ایجادکننده این اختلال در کلنی‌ها بسیار مهم است زیرا عواملی مختلفی مانند محیط، کلنی زنبورعسل، عوامل بیماری‌زا، آفات و خود زنبور هر کدام حلقه‌هایی از این زنجیره هستند که منجر به بروز اختلال در کلنی‌های زنبورعسل می‌شوند.

برخورد با بیماریها و آفات زنبورعسل با روشهای معمول در دامپزشکی تفاوت دارد. اگر چه اصول کلی مشابه است اما تکنیک-هایی که در معاینه گونه‌های مختلف حیوانات از جمله دام‌های اهلی استفاده می‌شود، برای حشرات منجمله زنبورعسل کاربرد ندارد. زنبورعسل زندگی اجتماعی دارد و کلنی‌های آن از هزاران زنبور که در ارتباط متقابل با یکدیگر هستند، تشکیل شده است. بنابراین، در بررسی وضعیت سلامت زنبورستان نیاز به بررسی دقیق کلنی و افراد داخل آن نیز می‌باشد (Heike *et al*., 2020).

انواع مختلفی از عوامل زنده و غیرزنده، سلامت کلنی‌های زنبورعسل را تحت تاثیر قرار می‌دهند که از مهمترین این عوامل می-توان به تغییرات زیستگاه و اقلیم، شرایط آب و هوایی، تراکم زنبورستان‌ها و منابع غذایی، حمل و نقل کلنی‌ها و عوامل خارجی اشاره کرد (Belsky *et al*., 2019). همچنین، زندگی زنبورها به عوامل ذاتی مثل ژنتیک و طول عمر ملکه نیز وابسته است (Mc Menamin *et al*., 2016). کشاورزی متمرکز و تک کشتی منجر به کاهش تنوع گیاهان شده و تهیه غذا را برای زنبورهای عسل تحت تاثیر قرار می‌دهد. در تک کشتی‌های وسیع به عنوان مثال کشت انبوه کلزا و آفتابگردان، برداشت و جمع آوری گرده گل‌های متنوع توسط زنبورها به دلیل انبوهی گلدهی این گیاهان به شدت کاهش یافته و بدین ترتیب، تغذیه مناسب و کافی زنبورها محدود می‌شود. چنین رژیم‌های غذایی به دلیل عدم تنوع کافی در رژیم غذایی پروتئینی، زنبورها را در دفاع در برابر طیف وسیعی از آفات و بیماریها تضعیف می‌کند (De Grandi-Hoffman *et al*., 2010).

تشخیص عامل آلودگی در کلنی‌های زنبورعسل بسیار مهم است زیرا هریک از عوامل ذکر شده تنها حلقه‌ای از زنجیری هستند که منجر به ایجاد آلودگی در کلنی‌های زنبورعسل می‌شوند. در تصویر (۱) طرح دقیقی برای تشخیص بیماری‌ها و آفات زنبورعسل و مدیریت آنها در زنبورستان‌ها ارائه شده است. بر اساس این طرح، بررسی‌ها از مشاهدات مزرعه‌ای شروع شده، سپس بررسی کندو و زنبورها، نمونه‌برداری از کلنی و زنبورها و در نهایت به آزمایشگاه و تشخیص‌های آزمایشگاهی ختم می‌گردد. سرانجام اطلاعات به دست آمده منجر به پیش‌آگاهی، تدوین یک برنامه مدیریتی و اقدامات درمانی جهت کنترل آفات و بیماری‌های زنبورعسل می‌شود.



تصویر شماره ۱ - رویکرد تشخیصی آفات و بیماری‌های زنبورعسل (Dittes *et al*., 2020)

رویکردهای تشخیصی آفات و بیماری‌های زنبورعسل

۱- بررسی سابقه آلودگی، ظاهر کندو و محیط اطراف زنبورستان

در مورد زنبورعسل همانند سایر گونه‌های دیگر، معاینه بالینی با توضیحی دقیق در مورد سابقه آلودگی، ظاهر کندو و محیط اطراف کلنی‌ها آغاز می‌شود. جمع آوری اطلاعات از زنبوردار نمای کلی مشکل را نشان می‌دهد. اگرچه اغلب این اطلاعات سطحی است و ممکن است منجر به تفسیر نادرست شود، اما با این وجود، پرسیدن یکسری سوالات می‌تواند جهت شناسایی و رفع مشکل کمک کننده باشد بطور مثال:

- چه زمانی زنبوردار اولین علائم یا تغییرات را در کلنی‌ها مشاهده کرده است؟
- کندوها در طول فصل چند بار بازدید می‌شوند؟
- چگونه آلودگی کلنی‌ها به کنه واروآ پایش و کنترل می‌شود؟
- آیا زنبوردار کلنی‌ها را کوچ می‌دهد؟

در کنار مطرح کردن این سئوالات، شاید زنبوردار بتواند اطلاعاتی در مورد آب و هوا، محصولات زراعی موجود در منطقه اطراف زنبورستان و تراکم زنبورستان‌های مجاور ارائه‌دهد. این اطلاعات برای ارزیابی اپیدمیولوژیک آلودگی مورد نیاز است. محل قرارگیری کندوها و محیط اطراف آنها ارتباط زیادی با بروز مشکلات سلامتی کلنی دارد. بنابراین باید قبل از استقرار کلنی‌ها در مکان جدید، آب و هوای منطقه، وضعیت جریان باد، آب در دسترس، محصولات موجود در اطراف زنبورستان (به عنوان منبع تامین غذا) با دقت بررسی شوند (De Miranda & Genersch, 2010). نوع کندو، جنس کندو، اندازه کندو و وضعیت کلی آن و حتی فضای بین کندوها نیز در

ارزیابی‌ها باید مورد توجه قرار گیرد (تصویر ۲). در بررسی ظاهر کندو ممکن است لکه‌های مدفوع و همچنین آثار شکارچیان و آفات مشاهده شود که می‌توانند جهت شناسایی عامل آلودگی کمک کننده باشند (Dittes *et al*., 202).

تصویر شماره ۲: بررسی نوع، جنس و اندازه کندو، محل قرارگیری و فضای بین آنها در ارزیابی‌های اولیه (Dittes *et al*., 2020)

۲- بررسی و مشاهده تخته و دریچه پرواز کندو

اولین یافته‌های پاتولوژیک را می‌توان در حین مشاهده تخته پرواز و دریچه پرواز کندو شناسایی کرد. انبوهی زنبورهایی که بسته به دما، آب و هوا، زمان روز و وضعیت کلنی به داخل و خارج کندو پرواز می‌کنند، اولین تصور را در مورد قدرت کلنی ایجاد می‌کند. از آنجایی که ممکن است زنبورهای مرده و همچنین زنبورها و لاروهای تغییر فنوتیپ یافته در جلوی ورودی کندو پیدا شوند، بنابراین محققان و زنبورداران باید با دقت تخته و دریچه پرواز کندو و محیط اطراف آن را مورد بررسی قرار دهند (تصویر ۳). نحوه پرواز زنبورها، شیوه فرود آمدن روی تخته و دریچه پرواز و رفتار زنبورهای نگهبان اطلاعات زیادی را به ما ارائه می‌دهند. رفتار غیر معمول پرواز زنبورها ممکن است یکی از علائم عصبی بیماری‌های ویروسی باشد. علاوه بر این موارد، زمین جلوی کندو باید از نظر ضایعات، مدفوع، زنبورهای تلف شده و لاروهای مومیایی شده بررسی شود. این مشاهدات به همراه ارزیابی محیط خارج کندو اولین ارزیابی را در مورد وضعیت کلنی امکان پذیر می‌سازد (Vidal-Naquet, 2015).

تصویر شماره ۳: بررسی و مشاهده تخته و سوراخ پرواز کندو جهت ارزیابی قدرت و فعالیت زنبورها و بررسی آلودگی‌های کلنی
(Dittes *et al*., 2020)

۳- بررسی بالینی کلنی زنبورعسل و مشاهده زنبورهای زنده

مرحله بعدی آزمایشات شامل معاینه بالینی داخل کلنی زنبورعسل، تک تک قاب‌ها و افراد داخل کلنی به صورت جداگانه است. در این مرحله باید همه زنبوران بالغ (زنبورهای کارگر، زنبورهای نر و ملکه) و مراحل مختلف نوزادی و همچنین مواد به‌کار رفته در ساخت کندو مورد توجه و بررسی قرار گیرد. زنبورعسل جزو حشرات دارای زندگی اجتماعی پیشرفته است که کلنی آنها در طول سال زنده و فعال می‌باشد. عملکرد کلنی وابسته به فعالیت اعضای داخل آن است. در داخل کلنی، هر زنبور با توجه به سن‌اش وظایف خاصی را انجام می‌دهد. معاینه بالینی قاب‌ها و زنبورهای درون کلنی باید همراه با زنبوردار انجام شود که بدین ترتیب، نحوه‌ی کار زنبوردار با کلنی و زنبورها نیز سنجیده می‌شود (Vidal-Naquet, 2015). لازم است پس از بازکردن درب کندو رفتار زنبورها، بو و قدرت کلنی نیز سنجیده شود. به طور معمول، کلنی زنبورعسل بوی موم می‌دهد. اگر بوی بد یا بوی سرکه احساس شود، احتمال بیماری وجود دارد. همچنین، با شمارش تقریبی زنبورهایی که روی شان‌ها قرار دارند، تخمینی از اندازه کلنی بدست می‌آید (Roy, 2011). زنبورها باید با دقت خاصی مورد بررسی قرار گیرند تا ناهنجاری‌های بدن آنها مثل ناهنجاری‌های بال (بال‌های V یا K شکل)، تغییر در رنگ و اندازه بدن، وجود کنه‌واروآ و همچنین علائم اختلالات رفتاری، عصبی و گوارشی آنها تشخیص داده شود. بطور مثال، علائم بیماری فلجی مزمن زنبورعسل (ABPV) شامل زنبورهای بدون مو، سیاه و یا داشتن علائم عصبی مانند لرزش، حلقه زدن یا فلجی است، زنبوران روی زمین افتاده، فلجی و مرگ و میر بالا از نشانه‌های مسمومیت می‌باشد، موقعیت غیرعادی بال و تغییر شکل بال از علایم بیماری‌های CBPV یا DWV هستند و مشاهده کنه‌واروآ (کنه فورتیک) روی زنبورها نشان دهنده میزان آلودگی شدید زنبورها به کنه‌واروآ است (جدول ۱) که تمام این علائم و اختلالات جهت تشخیص عامل آلودگی بایستی مورد توجه قرارگیرد (Kevill *et al*., 2020).

هنگام بررسی زنبورها ضروریست که قاب‌ها و موم داخل کلنی نیز مورد بررسی و ارزیابی قرار گیرد: رنگ و درخشش موم با سن شان‌ها مطابقت دارد. موم‌های قدیمی که چندین سیکل نوزادی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، بسیار تیره‌تر از موم تازه تولید شده است. همچنین، در صورت وجود مشکلات گوارشی قاب‌ها آغشته به لکه‌های مدفوع می‌شوند که بایستی مورد توجه قرار گیرد. جهت بررسی وضعیت تغذیه کلنی لازم است سلول‌های حاوی گرده و عسل مورد ارزیابی قرار گیرند (Horchler *et al*., 2018). هنگام مشاهده بالینی علایم ساکنین کندو باید توجه کرد که علائم در چه تعداد از افراد کلنی دیده می‌شود برخی مواقع علائم در تعداد کمی از زنبورها مشاهده می‌شود و گاهی علائم در همه زنبورهای کلنی دیده شود. حتی ضروریست که دقت کنیم علائم کدام کاست (زنبورهای کارگر، ملکه یا نرها) از ساکنین کندو را تحت تاثیر قرار داده است. همچنین، در هنگام بررسی کلنی لازم است ملکه هم از نظر وجود ناهنجاریها و علائم مشابه زنبورهای کارگر مورد بررسی قرار گیرد. لازم به ذکر است که علائم آلودگی‌های ویروسی ملکه همیشه مشابه علایم سایر افراد کلنی خود نمی‌باشد که در معاینات و ارزیابی که باید مورد توجه قرار گیرد (Kevill *et al*., 2020).

جدول ۱: تغییرات ظاهری زنبورهای عسل و علل احتمالی آن (Kevill *et al*., 2020)

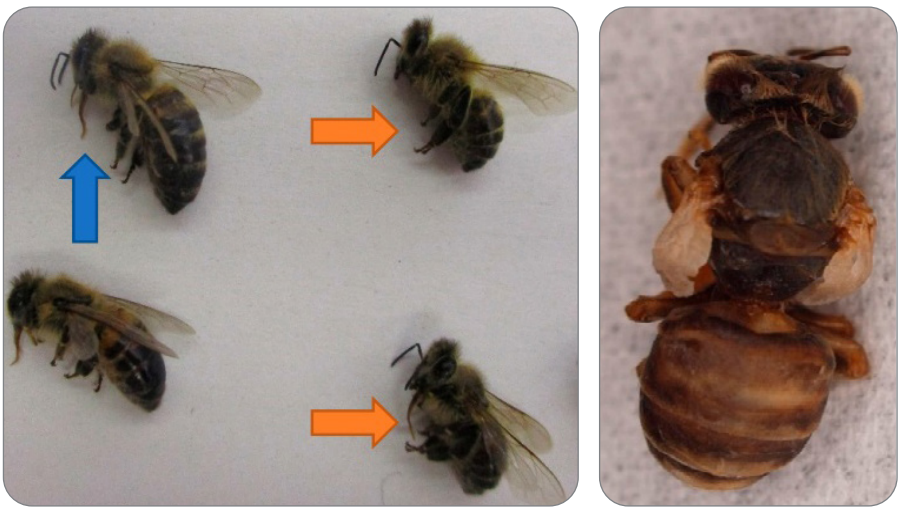
علل احتمالی	ویژگی‌های ظاهری
ویروس تغییر دهنده شکل بال، ویروس فلجی مزمن زنبور و کنه‌واروآ	کوتاه شدن شکم
ویروس فلجی مزمن زنبور، زنبورهای سیاه سارق، ژنتیک و سایر دلایل مکانیکی	شکم سیاه و بدون مو
کنه‌واروآ، ویروس تغییر دهنده شکل بال، مسمومیت و ویروس فلجی مزمن زنبور	بالها، پاها و شاخک‌های فلج
ویروس فلجی مزمن زنبور، بیماری نوزما و بیماری آمیبی زنبورعسل	شکم متورم و اسهال (قهوه‌ای روشن)
بیماری‌های ویروسی، مسمومیت و علل غیراختصاصی	خرطوم دراز، کشیده و بیرون آمده

۴- نمونه‌گیری برای آنالیزهای آزمایشگاهی

برای بررسی دقیق مشخصات ظاهری و تغییرات پاتولوژیک زنبورها و انجام آزمایشات بعدی روی آنها، باید از کلنی‌ها نمونه‌ی زنبورگرفته شود. مناسب‌ترین نمونه‌ها، زنبورهای زنده علائم‌دار هستند. با این حال در صورت مرگ و میر زیاد، زنبورهای تازه تلف شده در جلوی کندو نیز برای نمونه‌گیری مناسب هستند، اما باید در نظر داشت نتایج آزمایشات ویروسی در نمونه‌ی زنبورهای تلف شده می‌تواند منفی کاذب باشد چون RNA در محیط غیر زنده ناپایدار است. برای هر روش تشخیصی تعداد مشخصی زنبور مورد نیاز است، بنابراین هنگام نمونه‌گیری باید به روش آزمایش توجه شود و متناسب با آن روش تعداد مناسب نمونه‌ی زنبور از کلنی‌ها گرفته شود. پس از گرفتن نمونه‌ی زنبور زنده مورد نیاز، جهت کشتن آنها بایستی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز شوند (Aupperle & Genersch, 2016). روش دیگر برای از بین بردن نمونه‌های زنده، استفاده از اتانول ۹۶ درصد، دی‌اکسیدکربن یا گوگرد است. ضروریست نمونه زنبورهای تلف شده تحت شرایط سرما در داخل یک محفظه غیر قابل نفوذ هوا به آزمایشگاه ارسال شوند. به طور کلی بهتر است قبل از ارسال نمونه برای کسب اطلاعات مورد نیاز از جمله تعداد و شرایط ارسال نمونه با آزمایشگاه مرتبط تماس گرفته شود (Dittes *et al.*, 2020).

آزمایش زنبورهای تلف شده

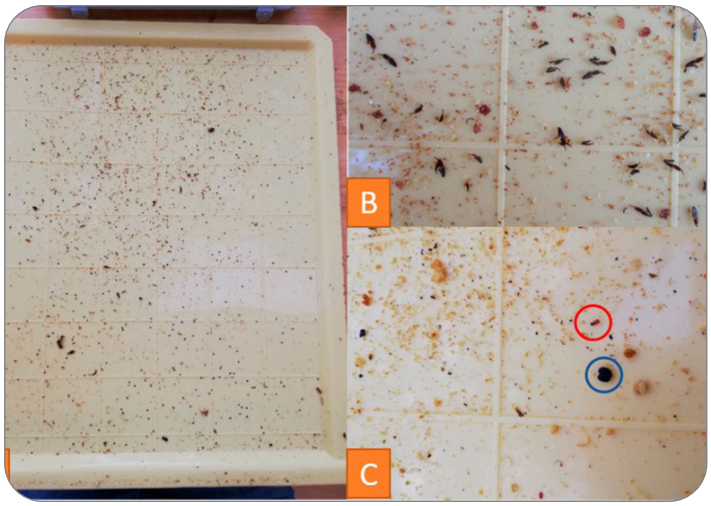
بعد از انجام معاینات و بررسی خصوصیات ظاهری، زنبورهای تلف شده براساس اندازه و علائم‌شان جهت تشخیص عامل آلودگی طبقه‌بندی می‌شوند: بطور مثال، زنبورهای کوچکتر از حالت عادی با شکم کوتاه در گروه زنبورهای آلوده به ویروس تغییر دهنده شکل بال قرار می‌گیرند (شکل ۴؛A). مطالعات نشان داده است زنبورهای تازه تفریخ شده با بالهای فلج در آلودگی‌های شدید کلنی به کنه‌واروآ از نشانه قوی آلودگی زنبورها و کلنی به ویروس تغییر دهنده شکل بال است (Williams *et al.*, 2009) (شکل ۴؛B). در آلودگی زنبورها با ویروس فلجی مزمن، شکم آنها سیاه بدون مو دیده می‌شود، این نشانه ممکن است گاهی به دلیل اختلالات ژنتیکی، تغذیه در دوره جریان عسلک و یا فعالیت‌های فیزیکی نیز دیده شود. به طور مثال، غارت و جنگیدن نیز موجب شکستن و کندن موها و سیاه شدن شکم زنبورها می‌شود در این موارد علائم مذکور در تعداد کمی از زنبورها دیده می‌شود، درحالیکه اختلالات ژنتیکی، تغذیه و ویروس فلجی مزمن همه زنبورهای کندو را تحت تاثیر قرار می‌دهند. اگر شکم تعدادی از زنبورها متورم باشد و با فشار شکم مایع قهوه‌ای روشن از روده آنها خارج شود در چنین مواردی، باید لوله گوارش زنبور را برای بررسی بیشتر، بیرون کشید. اغلب، زنبورهای مرده با خرطوم صاف، کشیده و بیرون آمده از نشانه‌های آلودگی آنها به ویروس فلج مزمن است (Dittes *et al.*, 2020). (شکل ۴؛A).



تصویر شماره ۴: نمونه‌ی زنبورهای مرده یک کلنی زنبورعسل آلوده به ویروس فلج مزمن (اندازه نامساوی زنبورهای کارگر و زنبورهای شکم کوتاه (فلش نارنجی) و خرطوم کشیده و بیرون آمده (فلش آبی))، B – زنبورهای تازه تفریخ شده آلوده به ویروس تغییر دهنده شکل بال (Dittes *et al.*, 2020)

بررسی فضولات کف کندو

بررسی فضولات داخل و کف کندو، اطلاعات مفیدی را در مورد سلامت، وضعیت رشد و قدرت کلنی زنبورعسل ارائه می‌دهد. برای گرفتن نمونه‌ی فضولات کف کندو، یک کشوی پلاستیکی زیر کندو قرار داده می‌شود. بعد از مدتی، روی کشوی پلاستیکی ممکن است موادی مانند فلس‌های موم، درب سلول‌ها، تکه‌های بره‌موم، گرده، شکر، کریستال‌های ملیسیتوز یا قطرات شهد دیده شود (شکل ۵). مقادیر این اجزا می‌تواند به عنوان شاخصی برای تشخیص قدرت کلنی مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این، می‌توان آثار شکارچیان کندو را روی این کشوی پلاستکی مشاهده کرد. وجود قسمت‌هایی از بدن زنبورها روی صفحه پلاستیکی کف کندو، نشانه وجود زنبورهای مهاجم یا موش در کندو می‌باشد. مدفوع به طول ۳-۸ میلی‌متر متعلق به موش‌ها و مدفوع کوچکتر با رنگ قهوه‌ای تیره مربوط به شب‌پره موم‌خوار بزرگ (*Galleria mellonella*) می‌باشد که ممکن است لارو کرمی سفید یا خاکستری رنگ آن هم در کشوی پلاستیکی دیده شود. آزمایش فضولات کف کندو برای کنترل آلودگی کلنی به کنه-واروآ نیز استفاده می‌شود. کنه‌ها با چشم غیرمسلح دیده می‌شوند. پس از اینکه صفحه پلاستیکی برای مدت مشخصی زیر کندو قرار گرفت، می‌توان کنه‌های مرده کف کندو را مشاهده و مورد شمارش قرار داد و بدین ترتیب برای تعیین میزان آلودگی کلنی به کنه‌واروآ مورد استفاده قرار داد. صحت اطلاعاتی که از بررسی فضولات کف کندو بدست می‌آید به هوا، فصل و مدت زمان نصب صفحه پلاستیکی در کف کندو بستگی دارد (Vidal-Naquet, 2015).



تصویر شماره ۵: کشوی پلاستکی نصب شده در کف کندو بعد از سه روز با فضولات حاوی، (A) تعدادی کنه‌واروآ، (B) پاها و بالهای جدا شده زنبورها و (C) دانه های گرده (دایره آبی) و قطعات موم (دایره قرمز) (Dittes *et al.*, 2020)

۵- تشخیص‌های آزمایشگاهی

تشخیص بیماری‌های ویروسی با PCR

بیماری‌های ویروسی زنبورعسل عمدتاً بوسیله واکنش RT-PCR تشخیص داده می‌شوند. تعداد ۵۰ نمونه‌ی زنبور دارای علائم بیماری‌های ویروسی، برای این آزمایش لازم می‌باشد. بعد از استخراج RNA و انجام واکنش RT-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مربوط به هر ویروس منجمله ویروس‌های ABPV، CBPV و dwv، می‌توان نوع آن بیماری ویروسی را در نمونه‌های آلوده تشخیص داد.

بررسی آلودگی کلنی به کنه‌واروآ

کنه‌واروآ یکی از عوامل عمده استرس‌زا و احتمالاً در سطح جهانی بزرگترین تهدید برای کلنی‌های زنبورعسل است. اگر این آفت به طور مرتب در کلنی‌های زنبورعسل کنترل نشود، کلنی‌های با میزان آلودگی بالا به شدت در حال تضعیف بوده تا زمانی که در نهایت کلنی را از بین می‌برد. علاوه براین، کنه‌واروآ به عنوان ناقل مکانیکی و بیولوژیکی ویروس‌های مختلف زنبورعسل از جمله ویروس تغییر دهنده شکل بال عمل کرده و پاسخ ایمنی زنبورعسل را نیز سرکوب می‌کند (Yang & Cox-Foster, 2005; Ramsey *et al.*, 2019). بنابراین،

باید به دقت و به طور مرتب سطح جمعیتی آن در کلنی‌های زنبورعسل مورد پایش و ارزیابی قرار گیرد.

برای ارزیابی میزان آلودگی کلنی‌ها به کنه‌واروآ روش‌های مختلفی مانند بررسی نوزادان، زنبورهای بالغ و فضولات کف کندو وجود دارد. با توجه به مستعدتر بودن نوزادان نر برای کنه‌واروآ می‌توان با برداشتن درب سلول‌های نر و بررسی لارو آنها در تک تک شان‌های کندو، کنه‌ها را در سلول‌های نر مشاهده، مورد شمارش و نرخ آلودگی آنها را مورد ارزیابی قرار داد (شکل ۶؛ A). همچنین، زنبورهای بالغ نیز نقش مهمی را در ارزیابی آلودگی کلنی به کنه‌واروآ ایفا می‌کنند (Yang & Cox-Foster, 2005) (شکل ۶؛ B) که می‌توان برای ارزیابی آلودگی کلنی به کنه وراوآ، تعداد کنه روی آنها را هم مورد شمارش و ارزیابی قرار داد.

تصویر شماره ۶: A) ارزیابی میزان آلودگی کلنی به کنه‌واروآ با بررسی سلول‌های نوزادان نر، B) زنبور بالغ آلوده شده با ویروس تغییر دهنده شکل بال به همراه کنه روی قفسه سینه آن (Dittes *et al*., 2020)

یک روش معمول برای ارزیابی میزان آلودگی کلنی به کنه‌واروآ، بررسی تعداد کنه‌هایی است که هر روز بطور طبیعی در کف کندو می‌ریزند. بدین منظور، یک صفحه پلاستیکی آغشته به مواد چسبناک را به مدت ۵-۲ روز در کف کندو قرار می‌دهند (عکس ۷؛ A) و هر روز صفحه پلاستیکی را در آورده و تعداد کنه‌های روی آن را شمارش می‌کنند (عکس ۷؛ B). کنه‌های واروآ قهوه‌ای رنگ متمایل به قرمز و به اندازه ۱/۷-۱/۲ میلی‌متر هستند که به راحتی می‌توان آنها را در داخل فضولات روی صفحه پلاستیکی نصب شده در کف کندو شناسایی و در نهایت مورد شمارش قرار داد (عکس ۷؛ C).

تصویر شماره ۷: ارزیابی میزان آلودگی کلنی به کنه‌واروآ با بررسی فضولات کف کندو، A) نصب صفحه پلاستیکی چسبناک در کف کندو، B) شمارش تعداد کنه‌ها روی صفحه پلاستیکی، C) نمای نزدیک کنه‌های واروآ روی صفحه پلاستیکی (Dittes *et al*., 2020)

روش غوطه‌ور سازی زنبورها در محلول آب و مواد ضد عفونی کننده و یا استفاده از پودر شکر نیز از روش‌های دیگر بررسی میزان آلودگی کندو به کنه‌واروآ است. بدین منظور، حدود ۳۰۰ نمونه زنبورعسل جوان (معادل ۱۰۰ میلی لیتر) از قاب‌های نوزادی (حاوی تخم و لارو) یک کلنی نمونه‌برداری می‌شود. در روش غوطه‌ور سازی، ۳۰۰ نمونه زنبور را در داخل یک ظرف که حاوی محلول آب و مواد ضد عفونی کننده ریخته و به مدت ۳ دقیقه ظرف را تکان داده و بعد از این زمان، زنبورها مرده و سپس کنه‌های جدا شده از بدن زنبورها را می‌توان به راحتی مورد بررسی و شمارش قرار داد (Bak *et al.*, 2009) (شکل ۸).

تصویر شماره ۸: بررسی میزان آلودگی کلنی به کنه‌واروآ با استفاده از روش غوطه‌ور سازی، A) تکان دادن ظرف حاوی نمونه‌های زنبورعسل و محلول آب و مواد ضدعفونی کننده، B) صاف کردن محلول روی یک سیستم الک‌دار چند لایه، C) شمارش کنه‌ها روی الک ریز تر (Bak *et al.*, 2009)

در روش استفاده از پودر شکر معمولاً زنبورها زنده می‌مانند. حدود ۳۰۰ نمونه زنبور را در داخل یک ظرف که حاوی پودر شکر است، ریخته و ظرف حاوی نمونه را به آرامی دو بار و هر بار به مدت ۲ دقیقه تکان می‌دهند. در این روش، رفتار نظافت‌گری زنبورها تحریک شده و با اعمال بیشتر این رفتار و از طرف دیگر تاثیر تکان دادن ظرف و پودر شکر، کنه‌ها از بدن زنبورها جدا شده و دیگر نمی‌تواند به بدن زنبور بچسبد. بعد از این کار، می‌توان پودر شکر را الک کرد یا آنرا در آب حل کرد که بدین ترتیب کنه‌ها از زنبورها و پودر شکر جدا شده و به راحتی قابل شمارش هستند (شکل ۹). اگر میزان آلودگی کمتر از ۵ درصد باشد کلنی به صورت جزئی تحت تاثیر عوارض کنه قرار می‌گیرد، اما اگر آلودگی بالای ۱۰ درصد باشد باید فوراً کلنی را درمان کرد (Bak *et al.*, 2009; Brunnemann *et al.*, 2011).

تصویر شماره ۹: بررسی میزان آلودگی کلنی به کنه‌واروآ با استفاده از روش پودر شکر، A) تکان دادن ظرف حاوی نمونه‌های زنبور و پودر شکر، B) ریختن زنبورهای آغشته به پودر شکر روی قاب‌های کندو، C) کنه‌های آغشته به پودر شکر روی یک دستمال یا کاغذ سفید رنگ (Dittes *et al.*, 2020)

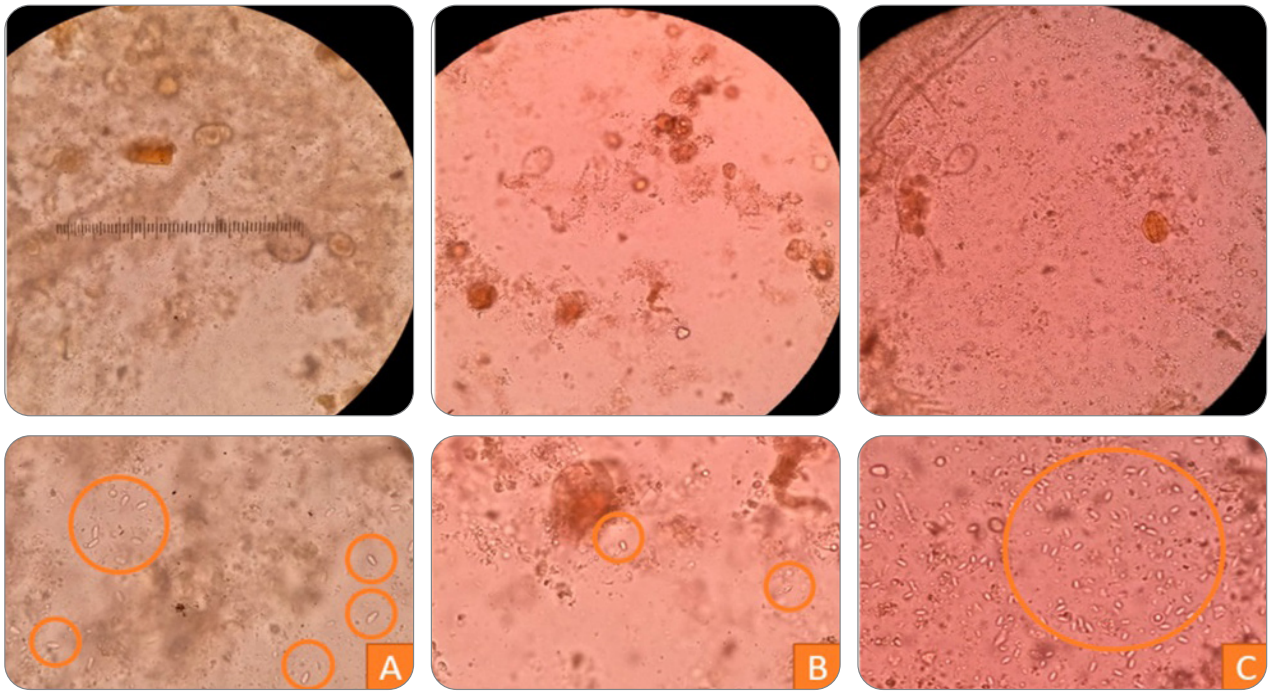
بررسی آلودگی زنبورها به بیماری نوزما

لکه‌های مدفوع آبکی (شبیه اسهال) بر روی درب یا داخل کندو بخصوص روی قاب‌ها می‌تواند نشانه آلودگی زنبورها به بیماری نوزما باشد. پاتوژن‌های مختلفی مثل ویروس فلجی مزمن زنبورعسل، آمیب‌ها، گونه‌های نوزما و حتی استرس می‌توانند موجب اسهال زنبورها شوند. اگرچه آلودگی کلنی‌های زنبورعسل به بیماری نوزما ممکن است بصورت یک عفونت مخفی باشد اما این بیماری می‌تواند به عنوان یک عامل استرس‌زا و تضعیف کننده زنبورهای عسل عمل کند. در اثر بیماری نوزما مسیرهای عفونت به دلیل آسیب به اپیتلیال روده میانی زنبورها باز می‌شود و گاهی منجر به ایجاد بیماریهای دیگر نیز در آنها می‌گردد (Toplak *et al*., 2013; Martín-Hernández *et al*., 2018). برای تشخیص بیماری نوزما به روش میکروسکوپی، شکم ۲۰ عدد زنبور تازه تلف شده مورد نیاز است (ترجیحاً زنبورهای اطراف کلنی).

بدین ترتیب، شکم آنها را جدا کرده و درون هاون ریخته (عکس ۱۰؛ A) و ۵ میکرولیتر آب مقطر به آن اضافه کرده و با دسته هاون آنها را خرد کنید (عکس ۱۰؛ B). سپس، به ازای هر نمونه یک میکرولیتر آب مقطر به آن اضافه کنید. یک قطره از محلول حاصل را روی یک لام ریخته و لامل را بدون ایجاد حباب روی آن گذاشته و سپس اسلاید را در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰۰X جهت تشخیص اسپورهای نوزما مورد مشاهده قرار دهید. اسپورهای نوزما تخم مرغی شکل، حدود ۷-۴ میکرومتر طول و ۴-۲ میکرومتر عرض دارند. لازم به ذکر است گونه‌ی نوزما آپیس از نوزما سرانه با روش میکروسکوپی قابل تفکیک نیست و برای تشخیص آنها از هم باید از روش‌های مولکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز استفاده کرد (Gisder & Genersch, 2013; Kartal *et al*., 2021).

تصویر شماره ۱۰: تشخیص نوزما، A) شکم ۲۰ زنبور آلوده در داخل هاون، B) له کردن شکم زنبورها در آب مقطر با دسته هاون، C) قرار دادن قطره‌ای از نمونه روی اسلاید میکروسکوپی (Dittes *et al*., 2020)

اسپورهای مشاهده شده در زیر میکروسکوپ را می‌توان شمارش و به سه گروه طبقه بندی کرد. کمتر از ۲۰ اسپور در هر میدان دید میکروسکوپ نشان دهنده آلودگی جزئی، بین ۲۰ تا ۱۰۰ اسپور در هر میدان دید میکروسکوپ نشان دهنده آلودگی متوسط و بیشتر از ۱۰۰ اسپور در هر میدان دید میکروسکوپ نشان دهنده آلودگی شدید است (شکل ۱۱) (Ritter, 1996).



تصویر شماره ۸: بررسی میزان آلودگی کلنی به کنه‌واروآ با استفاده از روش غوطه‌ور سازی، A) تکان دادن ظرف حاوی نمونه‌های زنبورعسل و محلول آب و مواد ضدعفونی کننده، B) صاف کردن محلول روی یک سیستم الک‌دار چند لایه، C) شمارش کنه‌ها روی الک ریز تر (Bak *et al*., 2009)

مسمومیت‌های زنبورعسل

هنگامی که تعداد زیادی زنبور تلف شده در جلو کندو یا زنبورهای فلج شده در کلنی دیده شود، زنبوردار اغلب به مسمومیت زنبورها به دلیل قرارگرفتن در معرض سموم گیاهی مشکوک می‌شود. بعد از مشاهده این علائم، یکسری موارد را با مطرح کردن چند تا سئوال باید مورد توجه قرار داد؛ آیا همه کلنی‌های زنبورستان تحت تأثیر قرار گرفته‌اند؟، این علائم فقط در یک یا چند کلنی مشاهده می‌شود؟ آیا زنبورستان در نزدیکی مزارعی با احتمال استفاده از آفتکش‌های گیاهی قرار گرفته است؟، آیا علائم دیگری نیز وجود دارد؟ در موارد مشکوک به مسمومیت، گرده‌ی داخل سبد گرده روی پاهای زنبورهای تلف شده را مورد آزمایش قرار داده و گاهی جهت تشخیص منبع مسمومیت موهای زنبورها به منظور شناسایی گیاهانی که زنبور از آنها تغذیه کرده را مورد بررسی قرار می‌دهند (Heike *et al*., 2020). بعلاوه، در این گونه موارد زنبورها از نظر آلودگی به بیماری نوزما نیز آزمایش می‌شوند، زیرا زنبورهای آلوده به اسپور نوزما نسبت به مسمومیت حساس‌تر هستند. همچنین، در موارد مسمومیت لازم است زنبورها را از نظر آلودگی آنها به حشره‌کش‌ها مورد آزمایش قرار داد. نمونه‌ی مناسب برای بررسی مسمومیت شامل ۱۰۰۰ نمونه‌ی زنبورعسل (معادل ۱۰۰ گرم) است. نمونه‌ها را باید در ۲۴ ساعت اول پس از مشاهده علائم برداشته و بلافاصله تحت شرایط سرد به آزمایشگاه ارسال کرد. بهتر است نمونه‌های گیاهی مشکوک هم به آزمایشگاه جهت بررسی منبع آلودگی فرستاده شود (Pettis *et al*., 2013).

۶- تهیه لیستی از موارد مشکوک، تشخیص‌ها و پیش آگهی

قدم بعدی پس از انجام آزمایشات و بررسی‌ها، تهیه لیستی از موارد مشکوک و تشخیص نهایی می‌باشد. براساس لیست موارد مشکوک، پیش آگهی بدست آمده و برنامه درمانی مشخص می‌شود. تعدادی از بیماری‌ها جزو بیماریهای مهم و قابل گزارش هستند و به محض مشاهده و تشخیص قطعی، باید به مقامات مسئول آن کشور و حتی سازمان جهانی بهداشت حیوانات گزارش شوند (Dittes *et al*., 2020).

۷- تنظیم برنامه مدیریتی

یک کلنی زنبورعسل آلوده باید در طول دوره مدیریت بیماری با دقت و به طور مرتب تحت نظر باشد تا مشکلات آن در اسرع وقت تشخیص داده شود و در صورت بروز عوارض، طی یک برنامه‌ی منظم مدیریت شود. توصیه می‌شود از یک

دفترچه یاداشت برای ثبت اطلاعات دقیق هر کلنی در طول دوره مدیریت بیماری و حتی در طول کل سال استفاده کرد. برنامه مدیریتی براساس محل استقرار کلنی، تعداد کلنی‌ها در زنبورستان، استراتژی‌های زنبورداری و سایر عوامل تاثیرگذار تنظیم و تدوین می‌شود (Gauthier *et al*., 2007; Dittes *et al*., 2020).

۸- اقدامات درمانی

یک بررسی دقیق، پایه و اساس تشخیص است. توصیه می‌شود اطلاعات هر کلنی در طول دوره بیماری و در طول فصل بصورت دقیق ثبت شود تا بر اساس آنها و سایر اقدامات تشخیصی، درمان انجام گیرد. در صورت نیاز به اقدامات درمانی، همه کلنی‌های زنبورستان باید درمان شوند. بنابراین باید کلنی آلوده شناسایی، مشکل آن تشخیص و اقدامات درمانی مناسب و به موقع انجام شود (Berényi *et al*., 2006; Dittes *et al*., 2020).

۹- کنترل بیماری

بعد از تشخیص بیماری و اعمال برنامه‌های مدیریتی و درمانی لازم، درصورت بروز علایم شدید بیماری و وخیم شدن وضعیت کلنی یا کلنی‌های زنبورستان باید با یک روش کنترلی سریع و مطمئن، بیماری را در زنبورستان کنترل و ریشه کن کرد (Dittes *et al*., 2020).

نتیجه‌گیری

یک رویکرد جامع به منظور تشخیص دقیق آفات و بیماری‌های زنبورعسل و نجات کلنی‌ها لازم است. شیوع آفات و بیماری‌ها در زنبورعسل نسبت به سایر گونه‌های جانوری تفاوت دارد و اغلب با فعل و انفعالات پیچیده‌تری همراه است. برای تشخیص دقیق، درمان و کنترل یک بیماری یا آفت، باید شیوه زندگی زنبورعسل در طول کل دوره آزمایش و مدیریت کلنی‌ها مورد توجه قرار گیرد. در زنبورعسل روش‌های تشخیصی و درمانی محدودتر از سایر گونه‌های حیوانات می‌باشد. متاسفانه، تاکنون هیچ واکسنی برای زنبورهای عسل درست نشده و داروهای تایید شده کمی برای درمان بیماری‌ها و آفات آنها در مقایسه با سایر گونه‌های حیوانات موجود است. یک بررسی دقیق پایه و اساس تشخیص است و تصمیمات درمانی بجای یک زنبور واحد باید روی کل کلنی یا گاهی کل کلنی‌های یک زنبورستان انجام شود. تشخیص‌ها و برنامه‌های مدیریتی باید براساس محل استقرار کلنی‌ها، تعداد کلنی‌های زنبورستان، استراتژی‌های زنبورداری، نیازهای کلنی و همچنین سایر عوامل تأثیرگذار تطبیق و تدوین شده و حتی لازم است طول عمر زنبورها و وابستگی آنها به فصل نیز در مدیریت کلنی‌ها مدنظر قرار گیرد.

منبع ها:

Aupperle H., Genersch E. 2016. Diagnostic Colour Atlas of Bee Pathology, 1st ed.; Publisher Verlag Laboklin:Bad Kissingen, Germany, pp. 173.

Bak B., Wilde J., Siuda, M., Kobylinska M. 2009. Comparison of two methods of monitoring honeybee infestation with *Varroa destructor* mite. *Animal Science*. 46: 33–38..

Berényi O., Bakonyi T., Derakhshifar I., Köglberger H., Nowotny N. 2006. Occurrence of Six Honeybee Viruses in Diseased Austrian Apiaries. Appl. Applied and Environmental Microbiology. 72: 2414–2420.

Belsky J., Joshi N.K. 2019. Impact of Biotic and Abiotic Stressors on Managed and Feral Bees. Insects. 10: 233-240.

Brunnemann G., Poker V., Büchler R. 2011. Bienenprobe mit Puderzucker—Die neue bienenschonende Varroa-Befallsmessung. ADIZ. 8: 7–9.

Chauzat M.P., Cauquil L., Roy L., Franco S., Hendrikx P. 2013. Demographics of the European Apicultural Industry. *PloS ONE*. 8(11): e79018.

De Grandi-Hoffman G., Chen Y., Huang E., Huang M.H. 2010. The effect of diet on protein concentration, hypopharyngeal gland development and virus load in worker honey bees (*Apis mellifera* L.). Journal of Invertebrate Pathology. 56: 1184–1191.

De Miranda J.R., Genersch E. 2010. Deformed wing virus. *Journal of Invertebrate Pathology*. 103: 48–61.

Gajger I.T., Mañes A.M., Formato G., Mortarino M., Toporcak J. 2021. Veterinarians and beekeeping: What roles, expectations and future perspectives? -a review paper. Veterinarski Arhiv. 91 (4): 437 – 443.

Gauthier L., Tentcheva D., Tournaire M., Dainat B., Cousserans F., Colin M.E., Bergoin, M. 2007. Viral load estimation in asymptomatic honey bee colonies using the quantitative RT-PCR technique. Apidologie. 38: 426–435.

Gisder S., Genersch E. 2013. Molecular differentiation of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* based on species-specific sequence differences in protein coding gene. Journal of Invertebrate Pathology. 113: 1–6.

Dittes J., Schäfer M.O., Aupperle-Lellbach, H., Mülling C.K.W., Emmerich I.U. 2020. Overt infection with Chronic Bee Paralysis Virus (CBPV) in two honey bee colonies. Veterinary Science. 7: 142-154.

Heike S., Marc,, O., Mülling,, C., Emmerich,, K. W., Ilka,, U. 2020. Veterinary Diagnostic Approach of Common Virus Diseases in Adult Honeybees. *Veterinary Science*. 7: 159-165.

Horchler L., Gisder S., Boecking O. 2018. Genersch, E. Diagnostic value of faecal spots on and in honey bee (*Apis mellifera*) hives. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 132: 41–48.

Kartal S., Tunca R.İ., Özgül O., Karabağ K., Koç H. 2021. Microscopic and molecular detection of Nosema sp. In the Southwest Aegean region (Güneybatı Ege Bölgesinde Nosema Türlerinin Mikroskobik ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi). *Bee Journal*. 21: 8-20.

Kevill H., Jessica L., Lee K., Goblirsch M., McDermott E., Tarpy D., Spivak M., Schroeder K., Declan C. (2020). The Pathogen Profile of a Honey Bee Queen Does Not Reflect That of Her Workers. Insects. 11: 382-391.

Martín-Hernández R., Bartolomé C., Chejanovsky N., Le Conte Y., Dalmon A., Dussaubat C., García-Palencia P., Meana A., Pinto M.A., Soroker V., Higes, M. 2018. *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years postdetection perspective. *Environ Microbiol*. 20 (4):1302-1329.

Mc Menamin A.J., Brutscher L.M., Glenny W., Flenniken M.J. 2016. Abiotic and biotic factors affecting the replication and pathogenicity of bee viruses. *Current Opinion* in *Insect Science*. 16: 14–21.

Pettis J.S., Lichtenberg E.M., Andree M., Stitzinger J., Rose R., Vanengelsdorp D. 2013. Crop pollination exposes honey bees to pesticides which alters their susceptibility to the gut pathogen Nosema ceranae. *PloS One*. 8(7):e70182.

Ramsey S.D., Ochoa R., Bauchan G., Gulbronson C., Mowery J.D., Cohen A. 2019. *Varroa Destructor* Feeds Primarily on Honey Bee Fat Body Tissue and Not Hemolymph. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 116 (5):1792-1801.

Ritter W. 1996. Diagnostik und Bekämpfung der Bienenkrankheiten, 1st ed.; Gustav Fischer Verlag: Jena, Germany, pp: 51.

Roy C. 2011. La s émiologie an apiculture. Journ ées Nationales Gtv—Nantes. Available online: https://www.researchgate.net/publication/343513678 La semiologie en apiculture JOURNEES NATI ONALES GTV-NANTES 2011 (accessed on 20 September 2020).

Toplak I., Ciglene˘cki U.J., Aronstein K., Gregorc A. 2013. Chronic Bee Paralysis Virus and *Nosema ceranae* Experimental Co-Infection of Winter Honey Bee Workers. *Viruses*. 5: 2282–2297.

Vidal-Naquet N. 2015. Honeybee Veterinary Medicine: *Apis mellifera* L., 1st ed.; 5m Publisher: Sheffield, UK, 2015; pp. 71–75.

Williams G.R., Rogers R.E.L., Kalkstein A.L., Taylor, B.A., Shutler, D., Ostiguy, N. 2009. Deformed wing virus in western honey bees (*Apis mellifera*) from Atlantic Canada and the first description of an overtly-infected emerging queen. Journal of Invertebrate Pathology.101: 77–79.

Yang X., Cox-Foster D.L. 2005. Impact of an ectoparasite of 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: 7470–7475.

Assessing the health status of honey bee colonies and presenting a management approach to pests and diseases control in the apiaries

B. Mohammadian[1], A.Rahimi[2]

1. Department of Honey bee, Silkworm and wildlife diseases, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

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

DOI: 10.22092/hbsj.2022.127239

Abstract

Like other organisms, honey bees have various pests and diseases that lead to significant losses in their populations every year and reduce the quantity and quality of colony products. Knowledge and skills in preventing, diagnosing, treating and controlling honey bee pests and diseases can play an important role in apiary management and honey bee health. Diagnostic methods applicable for common pests and diseases of honeybees are fundamentally different from those for livestock. Honeybee colonies may be affected by various biotic and abiotic factors. This study overviews the diagnosis of the most common pests and diseases of honey bees and provides a practical approach to control them in the honey bee apiaries

Key words: Honey bee, Pests and Diseases, Diagnostic Techniques

Corresponding Author: A.Rahimi[2]
Email: Ata.rahimi@areeo.ac.ir