دوفصلنامه علمی ترویجی علوم و فنون زنبورعسل
جلد ۱۱، شماره ۲۰، سال ۱۳۹۹، (۲-۱۰)

مطالعه مولکولی دو ویروس بیماری زای زنبورعسل (KBV,IAPV) در استان کردستان، غرب ایران

محمدخضری[۱]، مجتبی محرمی[۱]، حسین مدیرروستا[۱]، مریم ترکمن[۱]، بهارک محمدیان[۱]، هومن خانبابایی[۱]، بابک رخزاد[۲]، صالح صالحی[۲]

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: آذر ماه ۹۸ / **تاریخ پذیرش**: خرداد ماه ۹۹
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/hbsj.2020.128615.1080
رایانامه: khezri1836@gmail.com

چکیده:

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. بااین‌حال، تحقیقات موجود از سال ۱۹۴۰ نشان می‌دهد حیات و فعالیت زنبورعسل توسط انواع مختلفی از عوامل بیماری‌زا تحت تأثیر قرارگرفته است به‌طوری‌که در حال حاضر این عوامل بیماری‌زا ازجمله ویروس‌ها به‌عنوان یک تهدید برای حیات زنبورعسل و تولیدات کشاورزی در سطح جهان مطرح هستند. برخی از این ویروس‌ها اهمیت و بیماری‌زایی شدیدتری دارند ازجمله ویروس فلج حاد اسرائیل (IAPV)، ویروس فلج زنبورعسل حاد (ABPV)، ویروس زنبورعسل کشمیر (KBV) و ویروس دفرمه شدن بال (DWV)، از ویروس‌هایی هستند که شیوع بیشتری دارند و تلفات سالانه ناشی از آن‌ها در برخی از مناطق اروپا و آسیا نیز

گزارش‌شده است، هرچند تلفات سالانه متفاوت بوده است. 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 ها با روش RT-PCR نشان داد که از ۵۰ زنبورستان موردمطالعه، ۲۷ زنبورستان (۵۴٪) به ویروس IAPV و ۲ زنبورستان (۴٪) به ویروس KBV آلوده بودند. با توجه به اینکه این ویروس‌ها برای اولین بار از استان کردستان گزارش می گردند ضروری است تمهیدات لازم در خصوص جلوگیری از گسترش هر چه بیشتر این ویروس‌ها به عمل آید.

کلمات کلیدی: ویروس فلجی حاد اسرائیلی، ویروس کشمیر زنبورعسل، RT-PCR، آپیس ملیفرا، زنبورعسل

مقدمه

ابتلا به بیماری‌های مختلف از فرم خفیف تا حاد می‌تواند منجر به کاهش تولید عسل، موم و ... یا مرگ لارو و شفیره‌ها شود یا موجب فرار دسته‌جمعی زنبوران و خالی ماندن کندوها گردد (Sarwar, 2016) ویروس‌های زنبورعسل معمولاً لارو یا شفیره را آلوده می‌کنند اما علائم بیماری معمولاً در زنبوران بالغ مشهود است. بسیاری از ویروس‌ها با گرده جمع‌آوری‌شده و ژله تولیدشده توسط زنبوران پرستار با تغذیه لاروها درکلنی توسعه پیدا می‌کنند. ویروس‌های زنبورعسل به دو فرم افقی (از زنبور به زنبور) و عمودی (از زنبور ملکه به فرزند) منتقل می‌شوند (Chen, 2011). چندین ویروس در گرده و عسل شناسایی‌شده‌اند و این ویروس‌ها از طریق گرده و عسل به ملکه منتقل و سپس این ویروس‌های بیماری‌زا از تخم تولیدشده از ملکه به نسل‌های بعد منتقل می‌شوند (Singh *et al*., 2010). انگل خارجی واروا دکستراتور یکی از مهم‌ترین عوامل انتقال‌دهنده ویروس‌های زنبورعسل ازجمله KBV و IAPV است (Nazzi & Le Conte, 2016). ویروس فلجی حاد اسرائیلی (IAPV) سومین عفونت ویروسی رایج درکلنی‌های زنبورعسل بعد از DWV و BQCV است (Chen *et al*., 2014). بررسی توالی ژنتیکی این ویروس نشان داد که IAPV عضو دیگری از خانواده دیکسترووریده است و شباهت زیادی به KBV و ABPV دارد (Maori *et al*., 2007). جدا از رابطه نزدیک ژنتیکی آن‌ها، چند ویژگی بیولوژیکی مشابه ازجمله، حضور در مرحله اولیه زندگی میزبان، حدت کم اما شیوع گسترده بدون علامت در میزبان و در مقابل، دارای حدت بسیار زیاد در آلودگی تجربی در میزبان هستند (de Miranda *et al*., 2010).IAPV درکلیه مراحل رشد زنبورعسل و همچنین در هر دو جنس قادر به فعالیت و ایجاد بیماری است، مطالعات مرتبط با تمایل بافتی ویروس نشان داده است تمرکز ویروس در روده، بافت عصبی و غده بزاقی تحت‌فکی زنبور است لیکن تمرکز بیشتر آن بر روده است لذا انتقال ویروس از طریق مدفوع به قطعیت رسیده است در ضمن تشخیص ویروس در گرده و عسل نیز امکان انتقال از طریق غذا را مسجل کرده است. جداسازی ویروس از غده بزاقی تحت‌فکی و ترشحات ژله رویال امکان انتقال ویروس به لاروها را از طریق زنبوران پرستار ثابت می‌کند (Chen *et al*., 2014). جداسازی ویروس از تخمدان‌های ملکه، کیسه ذخیره اسپرم ملکه، منی زنبور نر و تخم نیز انتقال عمودی ویروس را قطعی کرده است (Chen *et al*., 2014). در آلودگی طبیعی کلنی‌ها به IAPV، علائم ظاهری مشاهده نمی‌شود ولی مداخله عوامل استرس‌زا مانند مایت واروا، کمبود مواد غذایی و استرس فصل زمستان، منجر به ضعف قدرت دفاعی کلنی، مرگ سریع و وسیع زنبوران، فلجی پیش‌رونده، لرزش، ناتوانی در پرواز، تیره شدن تدریجی رنگ بدن و از دست دادن موی قسمت‌های سینه و شکم از دیگر علائم آلودگی کلنی به این ویروس است (de Miranda *et al*., 2010). مطالعات انجام‌شده نشان داده است که فعالیت این ویروس در لاروها نسبت به زنبوران بالغ بیشتر است و کلنی‌های قوی در مقابل بیماری مقاومت نشان می‌دهند لیکن کلنی‌های ضعیف قادر به طی فصل زمستان نیستند، فصل در ظهور بیماری درکلنی‌های قوی تأثیر معنی‌داری ندارد لیکن درکلنی‌های ضعیف فصل تأثیر معنی‌داری دارد به‌طوری‌که شدت بیماری از بهار به سمت زمستان شدت می‌یابد و اوج آن در زمستان است که می‌تواند منجر به مرگ کلنی گردد (Chen *et al*., 2014). ویروس کشمیر (KBV) گسترش بسیار زیادی در استرالیا و آمریکا دارد به‌طوری‌که بومی آن مناطق محسوب می‌شود لیکن مانند بسیاری از دیکسترووریوسهای دیگر موارد معدودی از حضور آن در اروپا گزارش‌شده است (Berényi *et al*., 2006).KBV با تیتر بسیار پایین درکلنی های به‌ظاهر سالم وجود دارد تا زمانی که عوامل استرس‌زا باعث تکثیر سریع این ویروس درکلنی شده و منجر به مرگ کلنی خواهند شد. KBV در تمام مراحل رشد زنبورعسل به‌صورت آشکار بدون هیچ‌گونه علائم بیماری وجود دارد (Shen *et al*., 2005). جداسازی KBV از غذا، عسل، گرده، ژله رویال و مدفوع امکان انتقال از طریق غذا را تائید می‌کند

(de Miranda *et al*., 2010; Shen *et al*., 2005). جداسازی ژنوم KBV از مایت واروا و غده بزاقی آن، نقش این میزبان مکانیکی را در انتقال این ویروس ثابت می‌کند (Shen et al., 2005).

استان کردستان یکی از استان‌های برخوردار ازلحاظ پرورش زنبورعسل است و در رتبه سیزدهم کشوری قرار دارد و بر اساس برنامه‌های در دست اجرا باید تعداد کلنی‌های موجود در استان به ۵۰۰۰۰۰ کلنی افزایش یابد لذا ضرورت دارد که وضعیت بیماری‌های ویروسی در سطح زنبورستان های استان مورد ارزیابی قرار گیرد و هدف از اجرای این تحقیق بررسی میزان شیوع بیماری‌های KBV و IAPV در زنبورستان های استان کردستان به روش RT-PCR بود.

مواد و روش‌ها

با توجه به امکانات در اختیار تعداد ۵۰ زنبورستان در سطح استان به‌صورت تصادفی انتخاب گردید. برابر دستورالعمل سازمان دامپزشکی در مراجعه به هر زنبورستان از ۵ درصد کلنی‌های موجود در زنبورستان نمونه‌برداری به عمل آمد (Bokaie *et al*., 2010). کلیه کلنی‌های مورد نمونه‌برداری فاقد هرگونه علائمی از بیماری بودند لیکن در تاریخچه آنان آلودگی به کنه واروا وجود داشت. نمونه‌های هر زنبورستان مخلوط و تحت یک نمونه پس از ثبت مشخصات تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آماده‌سازی اولیه نمونه:

نمونه‌ها در هاون چینی استریل و با اضافه کردن Diethyl pyrocarbonate (DEPC) - treated Water هموژن شده و در 20000 g به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ شد و از سوپرناتانت برای استخراج RNA استفاده گردید (Berényi *et al*., 2006).

استخراج RNA:

با استفاده از کیت Jena Bioscience (Biotechnology company in Jena, Germany) از سوپرناتانت مرحله قبل، طبق دستورالعمل برای استخراج RNA استفاده شد و RNA استخراج‌شده به دمای ۲۰- یا ۸۰- سانتی‌گراد تا انجام مراحل بعدی منتقل شد.

RT-PCR:

این مرحله با استفاده از کیت Rocket Script RT-PCR از شرکت Bioneer کره جنوبی و طبق دستورالعمل کیت انجام گردید.

برنامه زمانی RT-PCR برای تشخیص IAPV در نمونه‌ها (Reynaldi et al., 2011)

	Tim.	T.	
Reverse transcription	48 °C	30 m	
Initial Denaturation	94 °C	2 m	
Denaturation	94 °C	15 s	*Cycle 40*
Annealing	48 °C	30 s	
Extending	72 °C	30 s	
Final Extending	72 °C	7 m	

برنامه زمانی RT-PCR برای تشخیص KBV در نمونه‌ها (Berényi et al., 2006)

	Tem.	T.	
Reverse transcription	50°C	30 m	
Initial Denaturation	95°C	15 m	
Denaturation	94°C	30 s	Cycle 40
Annealing	55°C	50 s	
Extending	72°C	1 m	
Final Extending	72°C	7 m	

پرایمرهای مورداستفاده برای تشخیص KBV و IAPV در نمونه‌ها

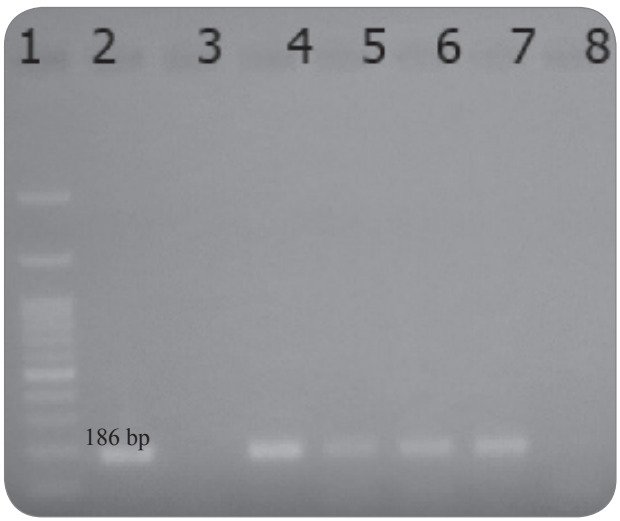
Primer	Sequence (5′-3′)	Product Size (bp)	Genome Position	Reference
KBV f KBV r	GATGAACGTCGACCTATTGA TGTGGGTTGGCTATGAGTCA	394	5406-5425 5781-5800	(Berényi et al., 2006)
IAPV-F IAPV-R	5'- aggtgccctatttagggtgagga-3' 5'- cgaagcgagttccgtattgtgtac-3'	186	6598-6783	(Reynaldi et al., 2011)

نتایج ژل الکتروفورز:

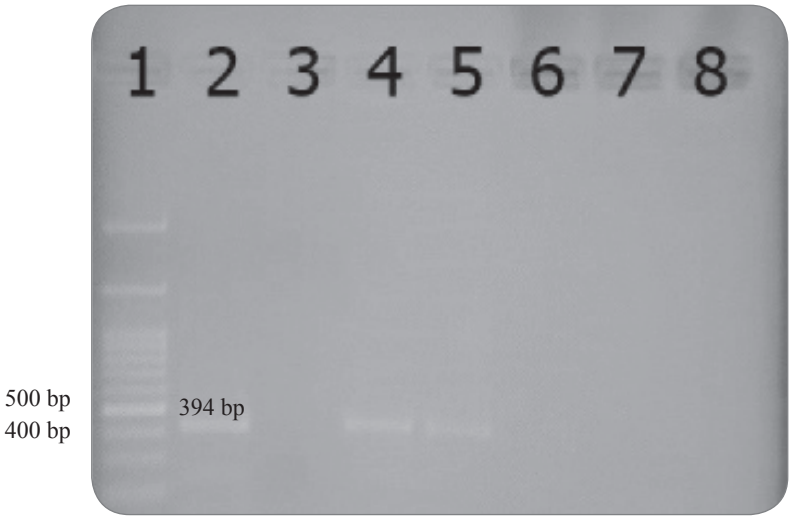
نتایج حاصل از RT-PCR برخی از نمونه‌های مثبت روی ژل آگاروز در تصاویر زیر قابل‌مشاهده می‌باشند. ستون ۱ مربوط به لدر (100bp)، ستون ۲ مربوط به کنترل مثبت، ستون ۳ کنترل منفی و بقیه ستون‌ها نمونه‌های مثبت می‌باشند. کنترل مثبت برای هر ۲ ویروس در بخش زنبورعسل موسسه رازی موجود بوده و از آن‌ها استفاده‌شده است.

نتایج

کلیه نمونه‌های به روش RT-PCR برای یافتن ویروس‌های KBV و IAPV موردبررسی قرارگرفتند. نتایج نشان داد که میزان شیوع ویروسی‌های IAPV،KBV به ترتیب ۵۴ و ۴ درصد بود.



شکل ۱: الکتروفورز محصولات حاصل از RT-PCR نمونه‌های حاوی ویروس IAPV،
چاهک ۱: مارکر، چاهک ۲: کنترل مثبت، چاهک ۳: کنترل منفی، چاهک های ۴،۵،۶،۷: جدایه های مثبت



شکل ۲: الکتروفورز محصولات حاصل از RT-PCR نمونه‌های حاوی ویروس KBV،
چاهک ۱: مارکر، چاهک ۲: کنترل مثبت، چاهک ۳: کنترل منفی، چاهک های ۴-۵: جدایه های مثبت، چاهک های ۶-۸: جدایه های منفی

از IAPV، ۵ نمونه که دارای باند قوی بودند و برای KBV هر دو نمونه مثبت برای تعیین توالی ارسال گردید و نتایج مورد تائید آزمایشگاه مرجع قرار گرفت.

بحث

عفونت‌های ویروسی می‌توانند برای مدت‌های مدید درکلنی ها به‌صورت خفته و غیرقابل تشخیص وجود داشته باشند(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 ها را فعال نمایند (Locke *et al*., 2012). این عوامل شامل حشره‌کش‌ها (Di Prisco *et al*., 2013)، تنش‌های زیست‌محیطی، عفونت‌ها و آلودگی با سایر عوامل بیماری‌زا می‌باشند (Yang *et al*., 2008). بیماری‌های KBV و IAPV اغلب با تلفات کلنی‌ها همراه هستند (Berthoud *et al*., 2010; de Miranda *et al*., 2010). مطالعات در دسترس نشان می‌دهد انتقال IAPV پس از مواجهه زنبورعسل با مایت واروا اتفاق می‌افتد(Diprisco *et al*., 2011) که نشان‌دهنده انتقال افقی بیماری بود در ضمن جداسازی ویروس از دستگاه گوارش و مدفوع ملکه نیز این روش انتقال را تائید می‌کرد لیکن جداسازی ویروس از تخمدان‌های ملکه و اسپرم زنبوران نر انتقال عمودی این ویروس را قطعی نموده است (Chen *et al*., 2014). در سال ۲۰۱۰ از نمونه‌های اخذشده از ۱۰۰ زنبورستان در ۱۰ منطقه اردن، ۱۳ درصد نمونه‌ها آلوده به IAPV بودند(Al-Abbadi *et al*., 2010). در سال ۲۰۱۱ برای اولین بار وجود IAPV را در زنبورستان های ایتالیا گزارش شد (Formato *et al*., 2011). آزمایش RT-PCR بر روی ۷۱ نمونه زنبورعسل از مناطق مختلف ترکیه نشان داد که ۲۱/۱ درصد نمونه‌های آلوده به IAPV بودند(Özkırım & Schiesser, 2013). میزان شیوع IAPV در اسپانیا، فرانسه و آرژانتین به ترتیب ۱۸، ۱۴ و ۴۱ درصد گزارش‌شده است (Blanchard *et al*., 2008; Garrido-Bailón *et al*., 2010; Ribiere *et al*., 2008). در این تحقیق برای اولین بار وجود بیماری IAPV در زنبورستان های استان کردستان در غرب ایران تائید و میزان شیوع آن در زنبورستانهایی که فاقد هرگونه علائمی از بیماری بودند ۵۴ درصد تعیین گردید. در سال 2007 KBV, در زنبورستان های انگلستان گزارش‌شده است (Ward *et al*., 2007) درحالی‌که گزارش وجود این ویروس در ایتالیا به سال ۲۰۱۱ برمی‌گردد (Formato *et al*., 2011). در سال ۲۰۱۸ در جنوب آمریکا KBV شناسایی و گزارش‌شده است(Riveros *et al*.,2018). بررسی زنبورستان های فرانسه در سال ۲۰۰۴ نشان داد که میزان آلودگی به این ویروس ۱۷ درصد بوده است (Tentcheva *et al*., 2004) درحالی‌که میزان آلودگی زنبورستان های دانمارک را ۱ درصد گزارش‌شده است(Nielsen *et al*., 2008). حداد و همکاران (۲۰۰۸) نسبت به گزارش عدم دستیابی در بررسی زنبورستان های اردن به این ویروس اقدام کردند (Haddad *et al*., 2010). تاکنون گزارشی دال بر وجود این ویروس در زنبورستان های کردستان وجود نداشته است و در این گزارش میزان شیوع ویروس KBV

۴٪ بوده است. محرمی و مدیر روستا (۲۰۱۲) نسبت به بررسی شیوع KBV در زنبورستان های ۲۳ استان کشور اقدام کردند و نتایج تحقیق نشان می‌دهد که زنبورستان های ۱۰ استان کشور آلوده به KBV بودند و استان کردستان در بین استان‌های بررسی‌شده قرار نداشت ((Moharrami *et al*., 2012). قرآنی و همکاران (۲۰۱۷) نیز عدم آلودگی زنبورستان های موردبررسی در استان کردستان به این ویروس را گزارش نمودند (Ghorani *et al*., 2017). با توجه به اطلاعات به‌دست‌آمده واضح است که عفونت‌های ویروسی درکلنی‌های موردبررسی وجود داشته است هرچند این نکته قابل‌بیان است با توجه به کمبود امکانات و مشکلات موجود، قطعاً نمونه‌های جمع‌آوری‌شده معرف کل استان نبوده و تعداد نمونه‌ها بر اساس اصول و مبانی اپیدمیولوژیک نبوده است و نتایج به‌دست‌آمده نمی‌تواند گویای وضعیت واقعی استان باشد. جهت جلوگیری از بروز علائم بیماری‌های ویروسی در زنبورستانها پیشنهاد می‌شود از ایجاد استرس و تداخل در شرایط طبیعی زنبورعسل که منجر به بروز علائم بالینی یا افزایش میزان آلودگی می‌شود خودداری شود و همچنین به دیگر عوامل مانند نقل‌وانتقال بی‌رویه، عدم استقرار در محل‌هایی که سم‌پاشی مزارع در آن‌ها انجام می‌شود، عدم استفاده از تجهیزات و وسایل زنبورداری به‌صورت مشترک بین زنبورستان ها، عدم استفاده از عسل یا گرده‌ای (برای ساختن کیک یا مکمل‌های غذایی) که از منابع یا زنبورستان های با منشأ نامشخص ازنظر بیماری تهیه‌شده‌اند توجه بیشتری به عمل آید. کاملاً محتمل است که ابتلا کلنی‌ها به بیماری ویروسی، فاقد علائم قابل‌مشاهده درکلنی باشد لذا تبادل و خریدوفروش کلنی‌های زنبورعسل، جمعیت‌ها، خرید و جابجایی ملکه‌های زنبورعسل، تجهیزات و وسایل زنبورداری از راه های انتقال بیماری‌های ویروسی از نقطه‌ای به نقطه‌ای دیگر است بنابراین برای کنترل این بیماری‌ها باید نسبت به کنترل و نظارت براین امور تلاش و نظارت بیشتری به عمل آید.

منبع ها:

Al-Abbadi, A. A., Hassawi, D. S., Abu-Mallouh, S. A., & Al-Mazra'awi, M. S. 2010. Novel detection of Israel acute paralysis virus and Kashmir bee virus from honeybees Apis mellifera L.(*Hymenoptera*: Apidae) of Jordan using reverse transcriptase PCR technique. Applied Entomology and Zoology, 45(1): 183-190.

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.

Berthoud, H., Imdorf, A., Haueter, M., Radloff, S., & Neumann, P. 2010. Virus infections and winter losses of honey bee colonies *(Apis mellifera)*. Journal of Apicultural Research, 49(1): 60-65.

Blanchard, P., Schurr, F., Celle, O., Cougoule, N., Drajnudel, P., Thiéry, R., . . . Ribière, M. 2008. First detection of Israeli acute paralysis virus (IAPV) in France, a dicistrovirus affecting honeybees *(Apis mellifera)*. Journal of Invertebrate Pathology, 99(3): 348-350.

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.

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

Chen, Y. P., Pettis, J. S., Corona, M., Chen, W. P., Li, C. J., Spivak, M., . . . Zhao, Y. 2014. Israeli acute paralysis virus: epidemiology, pathogenesis and implications for honey bee health. PLoS Pathogens, 10(7): e1004261.

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.

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.

Diprisco, G., Pennachchio, F., Caprio, E., Boncristiani, H. F., Evans, J. D., & Chen, Y. P. 2011. *Varroa destructor* is an effective vector of Israeli acute paralysis virus in the honey bee, Apis mellifera. Journal of General Virology, 92, 151-155.

Formato, G., Giacomelli, A., Olivia, M. a., Aubin, L., Glick, E., Paldi, N., . . . Palazzetti, M. 2011. First detection of Israeli acute paralysis virus (IAPV) in Italy. Journal of Apicultural Research, 50(2): 176-177.

Garrido-Bailón, E., Martín-Hernández, R., Bernal, J., Bernal, J., Martínez-Salvador, A., Barrios, L., . . . Higes, M. 2010. The detection of Israeli Acute Paralysis virus (IAPV), fipronil and imidacloprid in professional apiaries are not related with massive honey bee colony loss in Spain. Spanish Journal of Agricultural Research, 8(3): 658-661.

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., Brake, M., Migdadi, H., & de Miranda, J. R. 2010. First detection of honey bee viruses in Jordan by RT-PCR. Jordan Journal of Agricultural Sciences, 4(3).

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.

Moharrami, M., Modirrousta, H., Moradi, M., & Ahmadi, K. 2012. Molecular detection of three bee viruses in Iran [in Persian]. Journal of Veterinary and Laboratory Research, 89.

Nazzi, F., & Le Conte, Y. 2016. Ecology of Varroa destructor, the major ectoparasite of the western honey bee, Apis mellifera. Annual Review of Entomology, 61, 417-432.

Nielsen, S. L., Nicolaisen, M., & Kryger, P. 2008. Incidence of acute bee paralysis virus, black queen cell virus, chronic bee paralysis virus, deformed wing virus, Kashmir bee virus and sacbrood virus in honey bees (Apis mellifera) in Denmark. Apidologie, 39(3): 310-314.

Özkırım, A., & Schiesser, A. 2013. Israeli acute paralysis virus (IAPV) in Turkish bees. Journal of Apicultural Research, 52(2): 56-57. doi: 10.3896/IBRA.1.52.2.09

Reynaldi, F. J., Sguazza, G. H., Tizzano, M. A., Fuentealba, N., Galosi, C. M., & Pecoraro, M. R. 2011. First report of Israeli acute paralysis virus in asymptomatic hives of Argentina. Revista Argentina de Microbiologia, 43(2).

Ribiere, M., Olivier, V., Blanchard, P., Schurr, F., Celle, O., Drajnudel, P., . . . Chauzat, M. P. 2008. The collapse of bee colonies: the CCD case (“Colony collapse disorder”) and the IAPV virus (Israeli acute paralysis virus). Virologie, 12, 319-322.

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.

Shen, M. Q., Cui, L. W., Ostiguy, N., & Cox-Foster, D. 2005. Intricate transmission routes and interactions between picorna-like viruses (Kashmir bee virus and sacbrood virus) with the honey bee host and the parasitic varroa mite. Journal of General Virology, 86(8): 2281-2289.

Shen, M. Q., Yang, X. L., Cox-Foster, D., & Cui, L. W. 2005. The role of varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees. Virology, 342: 141-149.

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.

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.

Ward, L., Waite, R., Boonham, N., Fisher, T., Pescod, K., Thompson, H., . . . Brown, M. 2007. First detection of Kashmir bee virus in the UK using real-time PCR. Apidologie, 38(2): 181-190.

Yang, E., Chuang, Y., Chen, Y., & Chang, L. 2008. Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honey bee (*Hymenoptera*: Apidae). Journal of economic entomology, 101(6): 1743-1748.

Molecular study of two bee pathogenic viruses (IAPV, KBV) in Kurdistan province, western Iran

M. Khezri[1], M .Moharrami[1], H. Modirrousta[1], M.Torkaman[1], B. Mohammadian[1], H. Khanbabai[1], B. Rokhzad[2], S. Salehi[2]

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

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

DOI: 10.22092/hbsj.2020.128615.1080

Abstract

The European honey bee, *Apis mellifera* L. plays a vital role in the global economy and food supply by assisting in the pollination and by producing honey, beeswax, pollen, propolis, royal jelly, and other hive products. However, honey bees are inevitably subject to infection by a wide variety of pathogens and populations of honey bees have undergone marked declines since the 1940s, threatening global agricultural production. Some of these viruses are important and serious diseases, including the Israeli Acute Paralysis Virus (IAPV), Acute Bee Paralysis Virus (ABPV), Kashmir Bee Virus (KBV), and deformed wing virus (DWV), which are more prevalent. In this study, we evaluated 50 Iranian honey bee apiaries (during the period 2016-2017) without symptoms of the disease, by employing reverse transcription-PCR (RT-PCR). Samples were collected from counties of Kurdistan province. Of the 50 apiaries examined, 27(54%) were infected by IAPV and 2 (4%) infected by KBV. Since these viruses are reported for the first time in the province of Kurdistan, it is necessary to take measures to prevent further spread of these viruses.

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

Corresponding Author: M. khezri

Email: khezri1836@gmail.com