مقاله تحقیقی | مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۸، دوره ۷۴، شماره ۱، ۱۱-۱۸ | Original Article
DOI: 10.22059/jvr.2017.235690.2649

شیوع فروپاشی کلنی زنبورعسل و ارتباط آن با آلودگی به گونه‌های نوزما و اقلیم در زنبورستان‌های ایران

بهارک محمدیان[۱]، سعید بکایی[۲]، مجتبی محرمی[۳]، صدیقه نبیان[۴]، محمد فرسی[۵]

[۱]دانش آموخته اپیدمیولوژی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران و بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران

[۲]گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

[۳]بخش تشخیص بیماری‌های زنبورعسل و کرم ابریشم، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

[۴]گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

[۵]دامپزشک، کارشناس ارشد دفتر بهداشت و مدیریت بیماری‌های طیور، زنبورعسل و کرم ابریشم، سازمان دامپزشکی کشور

(دریافت مقاله: ۹ مرداد ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۷ آبان ماه ۱۳۹۷)

چکیده

زمینه مطالعه: فروپاشی کلنی‌های زنبورعسل (Colony Collapse Disorder) پدیده مرموزی است بطوری‌که زنبوران کارگر به‌صورت ناگهانی از کندوها ناپدید می‌شوند.

هدف: این مطالعه با هدف بررسی شیوع CCD و ارتباط آن با آلودگی زنبوران به گونه‌های نوزما و اقلیم‌های متفاوت انجام شد.

روش کار: مطالعه حاضر به‌صورت مقطعی در فاصله زمانی فروردین تا مهر ۱۳۹۵ به‌مدت ۶ ماه انجام شـد. تعداد ۱۸۳ زنبورسـتان واقع در استانهای مختلف کشور به روش نمونه‌گیری خوشه‌ای انتخاب و از ۵ درصد کلنی‌های هر زنبورستان به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری و نمونه‌های زنبور بالغ برای تعیین آلودگی به گونه‌های نوزما با روش PCR آزمایش شـدند. داده‌های حاصل با آزمون آماری مربع کای با اسـتفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ آنالیز و در تمامی آنالیزها ($P\leq ۰/۰۵$) به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج: بر اساس نتایج، شیوع CCD در زنبورستان‌های مورد مطالعه ۲۶/۸ درصد بود. شیوع این پدیده در اقلیم مرطوب (۲۰/۵ درصد)، نیمه مرطوب (۱۶/۱ درصد)، خیلی مرطوب (۲۲/۷ درصد)، خشک (۳۸/۲ درصد)، نیمه خشک (۴۳/۸ درصد) و مدیترانه‌ای (۱۶ درصد) بوده و شیوع آن در اقلیم‌های مذکور از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشت ($P<۰/۰۵$). نوزما سرانه با شیوع ۴۶/۴ درصد تنها گونه نوزما در زنبورستان‌های مورد مطالعه بود؛ در حالی‌که نوزما آپیس نه به‌صورت آلودگی خالص و نه به‌صورت آلودگی همراه با نوزما سرانه وجود نداشت. بر اساس یافته‌ها کلنی‌های دارای علائم و بدون علائم CCDاز لحاظ وجود یا عدم نوزما سرانه تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری نهایی: یافته‌های این مطالعه نشان دهنده تأثیر اقلیم بر شیوع پدیده فروپاشی کلنی‌ها می‌باشد که می‌تواند ناشی از تأثیر اقلیم بر منابع چرای زنبور بوده باشد. با وجود یافته اخیر، نوزما سرانه با این پدیده ارتباطی نداشته و به‌نظر می‌رسد این انگل به تنهایی نمی‌تواند مسبب CCD باشد. با این وجود مطالعه‌های دیگر به منظور بررسی اثرات متقابل اقلیم و سایر عوامل احتمالی مسبب پدیده فروپاشی کلنی‌ها لازم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: فروپاشی کلنی ، نوزما سرانه، نوزما آپیس، زنبورعسل، زنبورستان

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله تحقیقات دامپزشکی محفوظ است.

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۱۷۰۴۵ نمابر: ۰۲۱-۶۶۹۳۳۲۲۲ Email: sbokaie@ut.ac.ir

How to Cite This Article

Mohammadian, B., Bokaie, S., Moharrami, M., Nabian, S., Forsi, M. (2019). Prevalence of Honeybee Colony Collapse Disorder and its Relation to *Nosema* Spp. and Climate in Apiaries of Iran. J Vet Res, 74(1), 11-18. doi: 10.22059/jvr.2017.235690.2649

مقدمه

در سال‌های اخیر جمعیت بسیاری از گونه‌های گرده‌افشان کاهش داشته است، تعدادی از گونه‌ها منقرض و گونه‌های بیشتری در معرض آسیب هستند (۱۱). کاهش جمعیت گرده‌افشان‌ها به‌ویژه زنبورعسل علاوه بر این‌که منجر به کاهش تولیدات کشاورزی می‌شود (۳)، تهدیدی جدی برای گونه‌های گیاهی و تنوع زیستی در بسیاری از مناطق جهان نیز هست (۲۴). بنابراین کاهش جمعیت کلنی‌های زنبورعسل که اغلب گسترده و قابل توجه هستند، پژوهش روی سلامت زنبوران را سرعت بخشیده است (۱۷).

کاهش کلنی‌های زنبورعسل در مقیاس وسیع برای صنعت زنبورداری جدید نیست، از سال ۱۸۶۹ میلادی گزارش‌های بین‌المللی تلفات غیر معمول موجود است؛ در برخی از آن‌ها توصیف کاهش کلنی مشابه مواردی است که در چندسال اخیر گزارش شده است. کاهش قابل توجه زنبورعسل در گذشته با نام بیماری می(May Disease)، ناپدید شدن (Disappearing Disease) و بیماری سقوط (Fall dwindle Disease) گزارش شده است، برای مثال در بیماری می‌که در سال‌های ۱۸۹۱ و ۱۸۹۶ میلادی در ایالت کلرادو امریکا اتفاق افتاد؛ دسته‌هایی از زنبوران به‌طور کامل ناپدید شدند یا در مدت زمان کوتاهی جمعیت آن‌ها به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت (۲).

در سال‌های اخیر بسیاری از کلنی‌های مفقود شده با عنوان می‌شودناپدید شدهمی‌شود گزارش شدند، این کلنی‌ها دارای تعداد کمی زنبور زنده یا بدون زنبور بودند (۵). این پدیده در آمریکا اختلال فروپاشی کلنی (Colony Collapse Disease) و در اروپا سندرم کاهش کلنی زنبورعسل (Colony Depopulation Syndrome) نامیده شد (۱۳).

آن‌چه امروزه فروپاشی کلنی نامیده می‌شود برای نخستین بار در سال ۲۰۰۶ میلادی توسط یک زنبوردار به‌نام Dave Hackenberg ساکن فلوریدا گزارش شد (۲). پس از آن تا سال ۲۰۰۷ میلادی، بیش از ۲۲ ایالت اختلال فروپاشی کلنی را گزارش کردند و برخی زنبورداران تا ۹۵ درصد کندوهای خویش را از دست دادند. روند افزایش فروپاشی کلنی تا سال ۲۰۰۸ میلادی ادامه داشت؛ به‌طوری که ۳۵ ایالت، این اختلال را گزارش کردند (۲۷).

فروپاشی کلنی‌ها با مجموعه گسترده‌ای از علائم شامل ناپدید شدن ناگهانی زنبوران بالغ به‌ویژه زنبوران کارگر از کندوهایی که ذخیره غذایی کافی و مراحل مختلف نوزاد دارند، نبود زنبوران تلف‌شده در اطراف و داخل کندوها، تأخیر غارت کندوهای تحت تأثیر قرار گرفته توسط آفت‌های ثانویه یا زنبوران دیگر شناسایی می‌شود (۵).

کاهش ناگهانی کلنی‌ها محدود به آمریکا نبوده و از سایر کشورها هم گزارش شده است. نخستین کشور اروپایی درگیر CCD جمهوری ایرلند بود؛ به‌طوری که تا ۵۰ درصد تلفات را در سال ۲۰۰۷ میلادی گزارش کرد و به‌تدریج کشورهای اسپانیا، پرتغال، ایتالیا، دانمارک و آلمان وجود بیماری را گزارش کردند. در آسیا تایوان نخستین کشوری بود که این بیماری را گزارش کرد، اما امروزه ردپای این پدیده در اغلب کشورهای آسیایی مشاهده می‌شود (۱۶). در ایران نیز از سال ۱۳۸۸ گزارش‌های پراکنده‌ای از کاهش ناگهانی جمعیت کلنی‌های زنبورعسل از مناطق مختلف کشور وجود دارد.

از آنجایی که توزیع جغرافیایی، فراوانی و وسعت کاهش ناگهانی زنبوران عسل رو به افزایش است، فرضیه‌های مختلفی برای توجیه این پدیده مطرح شده است (۱۹). اگرچه علت دقیق فروپاشی کلنی‌های زنبورعسل در بسیاری از موارد ناشناخته مانده است، اما عوامل بسیاری به‌عنوان علل آن مطرح می‌باشند، به‌طوری که در سال‌های اخیر مواردی از کاهش جمعیت کلنی به آلودگی با نوزما سرانه نسبت داده شده است (۴،۸،۹،۱۴،۱۸،۱۹). هم‌چنین در برخی مطالعه‌ها اثرات اقلیم بر فروپاشی کلنی‌ها مطرح شده است (۶). بر این اساس، این پژوهش با هدف برآورد شیوع این پدیده در زنبورستان‌ها و بررسی ارتباط آن با آلودگی به گونه‌های نوزما و اقلیم با همکاری دفتر بهداشت و مدیریت بیماری‌های طیور، زنبورعسل و کرم ابریشم سازمان دامپزشکی کشور در تعدادی از زنبورستان‌های کشور انجام شد.

مواد و روش کار

روش نمونه‌برداری: این مطالعه به‌صورت مقطعی از فروردین تا مهر ماه ۱۳۹۵ به مدت ۶ ماه انجام شد. حجم نمونه مورد نیاز برای انجام این مطالعه با احتساب شیوع CCD برابر ۴۴ درصد (بر اساس مطالعه Mahmodi و همکاران در سال ۲۰۱۱)، سطح معنی‌داری ۵ درصد و دقت برابر ۲۰ درصد شیوع، ۱۲۲ زنبورستان بدست آمد. بر اساس نمونه‌گیری خوشه‌ای هر استان یک خوشه و زنبورستان‌ها بعنوان عناصر خوشه در نظر گرفته شدند. ضریب اثر طرح خوشه‌ای(۱/۵) در حجم نمونه فوق (۱۲۲) ضرب و تعداد کل نمونه‌ها ۱۸۳ زنبورستان برآورد شد. تعداد نمونه‌ها به نسبت زنبورستان‌های هر استان به آن اختصاص یافت. از زنبورستان‌های استان-های آذربایجان‌غربی، خراسان‌شمالی، اردبیل، چهارمحال‌وبختیاری، گلستان، خراسان‌جنوبی، سمنان، فارس، خراسان‌رضوی، قزوین، قم، کردستان، لرستان، کرمان‌جنوب، گیلان، مازندران و یزد نمونه‌گیری شد (جدول ۱). با استفاده از داده‌های سیستم اطلاعات جغرافیایی (داده‌های سازمان دامپزشکی) پراکنش زنبورستان‌های مورد مطالعه تعیین و اقلیم زنبورستان‌های نمونه‌گیری شده بر اساس نقشه طبقه‌بندی اقلیمی دومارتن (۲۰) مشخص شد. به منظور نمونه‌گیری، ضمن بازدید کلنی‌های زنبورستان مورد مطالعه توسط کارشناس بیماری‌های زنبورعسل اداره‌های دامپزشکی استان‌ها، اطلاعات مربوط به زنبورستان و مشاهده یا عدم مشاهده علائم CCD در فرم مربوط به هر زنبورستان ثبت شد. سپس بر اساس

دستورالعمل سازمان دامپزشکی، به‌صورت تصادفی از ۵ درصد کلنی‌های هر زنبورستان نمونه زنبور بالغ اخذ (۲۹) و اطلاعات مربوط به نمونه روی ظروف نمونه‌گیری ثبت شد. نمونه‌ها تحت شرایط سرد برای تشخیص آلودگی به گونه‌های نوزما (نوزما آپیس و سرانه) به آزمایشگاه تشخیص بیماری‌های زنبورعسل مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی منتقل شدند.

آزمایش مولکولی تشخیص اسپور نوزما (آماده‌سازی نمونه‌ها): ابتدا تعداد ۲۰ عدد زنبورعسل از نمونه هر زنبورستان شمارش و جدا شد. سپس قسمت شکمی زنبوران جدا و در ۱۰ mm آب مقطر کاملاً له شد، سوسپانسیون حاصل فیلتر و در ۸۰۰ دور به‌مدت ۶ دقیقه سانتریفیوژ شد.

استخراج DNA: با استفاده از کیت استخراج DNA ساخت شرکت تکاپوزیست مطابق دستورالعمل کارخانه سازنده DNA استخراج شد.

PCR: غنی‌سازی با استفاده از کیت PCR شرکت سیناکلون بر اساس دستورالعمل OIE (۲۲) در ترموسایکلر ساخت کارخانه اپندورف آلمان انجام شد. سپس محصولات PCR با الکتروفورز بر روی ژل آگاروز ۱ درصد جدا، رنگ‌آمیزی و با اشعه ماوراءبنفش مشاهده شد. در این روش از پرایمر اختصاصی ۱۶S rRNA برای شناسایی نوزما آپیس و نوزما سرانه استفاده شد (جدول ۲). کنترل‌های مثبت برای نوزما آپیس و نوزما سرانه در مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تهیه شدند.

جمع‌آوری و آنالیز داده‌ها: اطلاعات نمونه‌های اخذ شده و نتایج آزمایش مولکولی نمونه‌ها ثبت و داده‌ها با استفاده از آزمون غیر پارامتریک مربع کای تحلیل شدند. تمامی آنالیزهای آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. در تمام آنالیزها ($P\leq ۰/۰۵$) به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

در این مطالعه از تعداد ۱۸۳ زنبورستان نمونه‌برداری شده، ۴۹ زنبورستان (۲۶/۸ درصد، فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۳۳/۳-۲۰/۳) دارای علائم CCD بودند. میزان شیوع فروپاشی کلنی‌های زنبور عسل در اقلیم‌های متفاوت کشور در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. در مقایسه میزان شیوع CCD با استفاده از آزمون مربع کای، شیوع آلودگی به CCD در مناطق اقلیمی کشور تفاوت آماری معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$).

بر اساس نتایج آزمایش مولکولی آلودگی با نوزما سرانه در همه اقلیم‌های مورد مطالعه وجود داشت (جدول ۴) در حالی‌که آلودگی با نوزما آپیس در هیچ‌یک از نمونه‌ها مشاهده نشد. شیوع نوزما سرانه در مناطق اقلیمی کشور از نظر آماری تفاوت معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$).

همان‌طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، بین آلودگی با نوزما سرانه و شیوع CCD ارتباط آماری معنی‌داری دیده نشد ($P>۰/۰۵$) به‌طوری که آلودگی با این انگل شانس ابتلا به پدیده CCD را تغییر نداده است.

جدول ۱. فراوانی مطلق و نسبی زنبورستان‌های مورد مطالعه در استان‌های مختلف کشور.

نام استان	تعداد زنبورستان‌های فعال در زمان نمونه‌گیری	فراوانی مطلق زنبورستان‌های مورد مطالعه	فراوانی نسبی زنبورستان‌های مورد مطالعه (درصد)
خراسان رضوی	۱۰۷۸	۸	۴درصد
خراسان شمالی	۱۴۰۰	۴	۲درصد
خراسان جنوبی	۳۳۷	۲	۱درصد
قم	۱۸۷	۲	۱درصد
یزد	۶۶۸	۹	۵درصد
کرمان جنوب	۱۹۴	۲	۱درصد
لرستان	۱۸۰۸	۱۳	۷درصد
چهارمحال و بختیاری	۱۲۶۸	۷	۴درصد
فارس	۲۶۸۸	۱۴	۸درصد
آذربایجان غربی	۳۸۸۲	۲۶	۱۴درصد
کردستان	۳۶۰۶	۲۲	۱۲درصد
اردبیل	۷۰۵	۴	۳درصد
گیلان	۲۵۷۹	۱۷	۹درصد
گلستان	۱۸۲۴	۱۳	۷درصد
مازندران	۳۱۶۰	۲۱	۱۲درصد
قزوین	۱۳۴۴	۱۰	۵درصد
سمنان	۲۸۳	۹	۵درصد
جمع	۲۷۰۱۱	۱۸۳	۱۰۰

بحث

بر اساس یافته‌های این مطالعه شیوع CCD در زنبورستان‌های مورد مطالعه ۲۶/۸ درصد بود. در مطالعه Mahmodi و همکاران در سال ۲۰۱۱، شیوع فروپاشی کلنی در زنبورستان‌های ایلام ۴۳/۳ درصد گزارش شده است (۱۸). در این مطالعه با توجه به شیوع بیشتر این پدیده در مناطق نیمه خشک (۴۳/۸ درصد) و خشک (۳۸/۲ درصد) نسبت به سایر مناطق، احتمال تأثیر گرما بر وقوع بیشتر پدیده CCD مطرح است. بر اساس مطالعه‌های انجام شده اقلیم محلی که کندو در آن قرار گرفته بر سلامت کندو تأثیر دارد. تغییرات اقلیمی در سطوح مختلف بر زنبورعسل اثر می‌گذارند، این تغییرات ممکن است بر رفتار و فیزیولوژی زنبور تأثیر مستقیم داشته باشد، کیفیت محیط گیاهان را تغییر دهد، توان تولید کلنی را کاهش یا افزایش دهد، توزیع زنبوران را تعیین کند و باعث افزایش رقابت در بین گونه‌ها و نژادهای زنبور و نیز در بین پارازیت‌ها و پاتوژن‌های آن‌ها شود. بنابراین تغییرات محیطی و استرس‌های مربوط به تغییرات اقلیمی ممکن است در فروپاشی کلنی‌ها تأثیر داشته باشند (۶).

بنابر نظر Conte و همکاران در سال ۲۰۰۸ اقلیم بر توزیع محصولات کشاورزی، رشد گل‌ها و تولید شهد و گرده گیاهان اثر می‌گذارد و این‌ها بر فعالیت چرای زنبورها تأثیر می‌گذارند. تغییرات اقلیم می‌تواند روی گسترش و حدت آفت‌ها و پاتوژن‌ها اثر بگذارد. هم‌چنین حساسیت زنبور عسل به

جدول۲. مشخصات پرایمرهای استفاده شده برای تشخیص گونه‌های نوزما با استفاده از آزمایش PCR.

نام پرایمر	توالی پرایمر (´۳-´۵)	اندازه محصول (bp)	منبع
N.Ceranae	FWD ۵´- CGGCGCGACGATGTGATATGAAAATATTAA- ۳´	۲۱۹-۲۱۸	۱۹
	REV ۵´- CCCGGTCATTCTCAAAAAACCG- ۳´		
N.Apis	FWD ۵´- GGGGGCATGTCTTTGACGTACTATGTA- ۳´	۳۲۱	۱۹
	REV ۵´- GGGGGCGTTTAAAATGTGAAACAACTATG- ۳´		

جدول ۳. شیوع فروپاشی کلنی‌های زنبورعسل(CCD) در نواحی آب و هوایی مختلف.

فاصله اطمینان ۹۵درصد	شیوع (درصد)	تعداد زنبورستان دارای علائم CCD	تعداد نمونه	نام اقلیم (بر اساس طبقه‌بندی دومارتن)
(۱۴/۶-۲۶/۴)	۲۰/۵	۸	۳۹	مرطوب
(۱۰/۸-۲۱/۴)	۱۶/۱	۵	۳۱	نیمه مرطوب
(۱۶/۶-۲۸/۷)	۲۲/۷	۵	۲۲	خیلی مرطوب
(۱۰/۷-۲۱/۳)	۱۶	۴	۲۵	مدیترانه‌ای
(۳۱/۲-۴۵/۲)	۳۸/۲	۱۳	۳۴	خشک
(۳۶/۶-۵۱)	۴۳/۸	۱۴	۳۲	نیمه خشک
(۲۰/۳-۳۳/۳)	۲۶/۸	۴۹	۱۸۳	کل

جدول ۴. شیوع نوزما سرانه در نواحی آب و هوایی مختلف.

نتایج آزمون مولکولی		تعداد نمونه	نوع اقلیم (بر اساس طبقه‌بندی دومارتن)
شیوع (فاصله اطمینان ۹۵ درصد)	تعداد نمونه‌های مثبت		
۵۳/۸ (۴۶/۶-۶۱)	۲۱	۳۹	مرطوب
۷۱ (۵۳/۷-۷۷/۵)	۲۲	۳۱	نیمه مرطوب
۶۸/۱ (۶۱/۴-۷۴/۸)	۱۵	۲۲	خیلی مرطوب
۲۴ (۱۷/۹-۳۰)	۶	۲۵	مدیترانه‌ای
۲۹/۴(۲۲/۷-۳۶/۱)	۱۰	۳۴	خشک
۳۴/۳ (۲۷/۴-۴۱/۲)	۱۱	۳۲	نیمه خشک
۴۶/۴ (۴۲/۷-۵۰/۱)	۸۵	۱۸۳	کل

جدول ۵. ارتباط و شاخص‌های ارتباط بین فروپاشی کلنی‌های زنبورعسل و آلودگی به نوزما سرانه.

آلودگی به نوزما سرانه	علائم فروپاشی کلنی		نسبت شانس (فاصله اطمینان ۹۵ درصد)	*P*-value
	بلی	خیر		
مثبت	۲۱ (۲۴/۷)	۶۴ (۷۵/۳)	۰/۸۲ (۰/۴۲-۱/۵۹)	۰/۵۶
منفی	۲۸ (۲۸/۶)	۷۰ (۷۱/۴)		
کل	۴۹ (۲۶/۸)	۱۳۴ (۷۳/۲)		

پاتوژن‌ها و پارازیت‌ها تحت تأثیر هوا قرار می‌گیرد؛ مثلاً در زمستان‌های گرم مانند سال‌های ۲۰۱۲-۲۰۱۱ کاهش کلنی‌ها در آمریکا به‌طور قابل ملاحظه‌ای کمتر بوده است (۶).

یافته‌های این مطالعه نشان دهنده گسترش نوزما سرانه در ۸۵ نمونه از ۱۸۳ نمونه مطالعه شده (۴۶/۴ درصد) و عدم حضور نوزما آپیس است. نوزما سرانه نخستین بار در ایران در سال ۲۰۱۱ میلادی توسط Nabian و همکاران گزارش شد (۲۱). به دنبال آن آلودگی با این انگل توسط مطالعه‌های دیگری تأیید شد. به‌طوری که بر اساس یافته‌های Razmaraii و همکاران در سال ۲۰۱۱، نوزما سرانه تنها گونه جدا شده در آذربایجان شرقی بود (۲۶). هم‌چنین بر اساس گزارش Modirrousta و همکاران در سال ۲۰۱۴، نمونه‌های جمع آوری شده ۵ استان در فواصل زمانی ۲۰۱۳-۲۰۰۴ از نظر آلودگی به نوزما سرانه مثبت بودند (۲۰). هم‌چنین در مطالعه Aroee و همکاران در سال ۲۰۱۷، آلودگی نمونه‌های زنبورعسل استان‌های اصفهان، چهارمحال و بختیاری و فارس با نوزما سرانه گزارش شده است (۱).

در این مطالعه بیشتر بودن شیوع نوزما سرانه در مناطق نیمه مرطوب (۷۱ درصد)، خیلی مرطوب (۶۸/۲ درصد) و مرطوب (۵۳/۸ درصد) نسبت به سایر مناطق می‌تواند بر تأثیر رطوبت در گسترش آلودگی تأکید داشته باشد. نتایج مطالعه انجام شده در ترکیه نیز نشان می‌دهد نوزما سرانه در مناطقی که رطوبت بالایی دارند، گسترش بیشتری دارد و میزان رطوبت به‌دلیل تأثیر آن بر دما، یک عامل حیاتی برای گونه‌های نوزما توصیف شده است (۲۳).

در این مطالعه نسبت شانس CCD در زنبورستان‌های آلوده به نوزما سرانه (۱/۵۹-۰/۴۲)۰/۸۲ با P=۰/۵۶، نشان می‌دهد آلودگی به نوزما سرانه تأثیر آماری معنی‌داری در شانس ابتلا به CCD ندارد. بنابراین آلودگی با نوزما به‌عنوان یک عامل مؤثر بر CCD مطرح نیست. مشابه یافته اخیر در مطالعه انجام شده در اردن توسط Haddad در سال ۲۰۱۱، ارتباطی بین فروپاشی کلنی و نوزما یافت نشده است (۱۰). هم‌چنین مطابق مطالعات متعددی نوزما به تنهایی علت CCD در ایالات متحده امریکا، آلمان و کانادا نبوده است (۱۵). در مطالعه Cox-Foster و همکاران در سال ۲۰۰۷، CCD با نوزما سرانه ارتباط علیتی نداشته است. در این مطالعه ویروس فلجی حاد اسرائیلی خطر فروپاشی کلنی را افزایش داده (Odds=۶۵) و تأثیر این ویروس در نمونه‌های آلوده با نوزما آپیس افزایش داشته در حالی‌که نوزما سرانه تأثیر ویروس فلجی حاد اسرائیلی را بر CCD تغییر نداده است (۷).

در برخی مطالعه‌ها تأثیر آلودگی به نوزما بر فروپاشی کلنی‌های زنبورعسل گزارش شده است، به‌طور مثال در مطالعه Mahmodi

و همـکاران در سـال ۲۰۱۱، از ۱۳ زنبورسـتان دارای علائـم CCD، ۹ زنبوررسـتان (۶۹/۲۳ درصد) آلوده به اسپور نوزما بوده، به‌طوری که ارتباط آماری معنی‌داری بین CCD و نوزما وجود داشته است (۱۸).

بر اساس ۳ منبع منتشر شده در مورد کلنی‌های زنبور در اسپانیا، نوزما سرانه در مدت ۱۸ ماه آلودگی کندو، موجب CCD می‌شود (۱۳،۱۹). اگرچه به‌نظر می‌رسد نوزما سرانه نقش کلیدی در فروپاشی کلنی در اسپانیا داشته باشد (۱۲) اما جای تعجب است که با وجود نوزما سرانه در قاره اروپا از سال ۱۹۹۸ میلادی، تلفات بیشـتری از اروپا گزارش نشده است. بر اساس نظر پژوهشگران ممکن است آپیس ملیفرای اسپانیایی نسبت به سایر نژادهای زنبور به نوزما سـرانه حسـاس‌تر باشد یا سویه نوزما سـرانه اسپانیا حدت بیشتری داشته باشد (۲۵).

در مطالعه دیگری در اسـپانیا در ۲ زنبورستان واقع در دو منطقه که از نظر آب و هوایی و شرایط پرورش زنبور از جمله نوع پوشش گیاهی موجود برای زنبوران و روش‌های زنبورداری کاملاً متفاوت بودند، خسارت‌های زیاد کلنی با ناپدید شـدن زنبوران بالغ در زمستان سال ۲۰۰۶ میلادی گزارش شده اسـت. بر اسـاس یافته‌های این مطالعه، تنها پاتوژن موجود در همه نمونه‌های زنبور عسل نوزما سرانه بوده است (۲۳). هم‌چنین مرگ کلنی‌ها درلهستان، اتریش و فرانسه و کاهش چشمگیر کلنی در اروپای شمالی به وجود نوزما سرانه مربوط بوده است (۲۸).

امروزه نوپدید بودن نوزما سرانه برای زنبور آپیس ملیفرا و اثرات آن بر کلنی‌ها مشخص است. این‌که این پاتوژن به تنهایی یا همراه سایر عوامل از جملـه از بین رفتن سـکونت‌گاه‌های زنبور و کمبود منابع گیاهی موجب فروپاشی کلنی‌ها می‌شود؛ هنوز نامشخص است و نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

نتیجه‌گیری: بنا به اطلاعات نویسندگان، این پژوهش نخستین بررسی گسترده کلنی‌های زنبورعسل در کشور است که شواهدی از پدیده‌ای به‌نام CCD را فراهم نموده اسـت. تأثیر اقلیم بر این پدیده در این پژوهش نیز می‌تواند ناشی از اثرات متقابل عوامل دیگر باشد. به هرحال تغییرات اقلیمی در سـال‌های اخیر و تأثیر آن بر منابع چرای در دسترس زنبوران، بر رفتار، عملکرد و بیماری‌های زنبورعسـل مؤثر بوده اسـت. در این مطالعه اگرچه نوزما سرانه در تعدادی از موارد فروپاشی کلنی دیده شد، اما آلودگی با این انگل تأثیر معنی‌داری در شانس ابتلا به CCD نداشت. بنابراین ممکن است نوزما سـرانه همراه با سـایر انگل‌ها و عوامل بیماریزا در فروپاشی کلنی‌ها نقش داشـته باشـد. هم‌چنین عدم مشـاهده نوزما آپیس و پراکنش نوزما سرانه در زنبورستان‌ها می‌تواند نشانه جایگزینی نوزما سرانه با نوزما آپیس باشد. بر اساس این یافته‌ها و با توجه به این‌که بر اساس مطالعه‌های اخیر پژوهشگران تأثیر متقابل عوامل محیطی، مدیریتی، پاتوژن‌ها و پارازیت‌ها در پدیده فروپاشی کلنی محتمل است، بررسی نقش این عوامل در فروپاشی کلنی‌ها در زنبورستان‌های کشور مفید خواهد بود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسـیله ازهمـکاری سـازمان دامپزشـکی کشـور بـرای انجام هماهنگی‌هـای لازم برای نمونه‌گیـری در اسـتان‌های مختلف قدردانی می‌شـود. از تمامی دامپزشـکان کـه در کار فیلدی ایـن مطالعه همکاری نمودنـد و همه زنبوردارانی که از زنبورسـتان‌های آن‌ها نمونه‌گیری شـد، تشکر و قدردانی می‌شود. هم‌چنین از زحمات کارکنان آزمایشگاه تشخیص بیماری‌های زنبورعسل مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به‌دلیل انجام آزمایش‌های مربوط قدردانی می‌شود.

تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Aroee, F., Azizi, H., Shiran, B., Pirali Kheirabadi, K. (2017). Molecular identification of Nosema species in provinces of Fars, Chaharmahal and Bakhtiari and Isfahan (Southwestern Iran). Asian Pac J Trop Biomed, 7, 10-13. https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.11.004
2. Benjamin, A., McCallum, B. (2009). A world without bees. The mysterious decline of the honeybee- and what is means for us. Guardian Books, London, UK.
3. Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P.M., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., Schaffers, A.P., Potts, S.G., Kleukers, R., Thomas, C.D., Settele, J., Kunin, W.E. (2006). Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. Science, 313 (5785), 351-354.
4. Cepero, A., Martín-Hernández, R., Bartolomé, C., Gómez-Moracho, T., Barrios, L., Bernal, J., Teresa Martín, M., Meana, A., Higes, M. (2015). Passive laboratory surveillance in Spain: pathogens as risk factors for honey bee colony collapse. J Apic Res, 54, 525-531.
5. Chensheng, LU., Warchol, KM., Callahan, RA. (2012). In situ replication of honey bee colony collapse disorder. Bull Insectol, 65(1), 99-106.
6. Conte, Y. Le., Navajas, M. (2008). Climate change: impact on honey bee populations and diseases. Rev Sci Tech, 27 (2), 499-510

7. Cox-Foster, D.L., Conlan, S., Holmes, E.C., Palacios, G., Evans, J.D., Moran, N.A., Quan, P.L., Briese, T., Hornig, M., Geiser, D.M. Martinson, V., VanEngelsdorp, D., Kalkstein, A.L., Drysdale, A., Hui, J., Zhai, J., Cui, L., Hutchison, S.K., Simons, J.F., Egholm, M., Pettis, J.S., Lipkin, W.I. (2007). A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. Science, (New York, N.Y.) 318, 283-287. http://dx.doi.org/10.1126/science.1146498
8. Cornman, R.S., Chen, Y.P., Schatz, M.C., Street, C., Zhao, Y., Desany, B., Egholm, M., Hutchison, S., Pettis, J.S., Lipkin, W.L., Evans, J.D. (2009). Genomic analyses of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of honey bees. PLoS Pathogens, 5 (6), 1-14.
9. Gajger, I.T., Vugrek, O., Grilec, D., Petrinec, Z. (2010). Prevalence and distribution of *Nosema ceranae* in Croatian honeybee colonies. Vet Med, 55 (9), 457-462.
10. Haddad, N. (2011). Honey bee viruses, diseases and hive management in the Middle East and their relation to the Colony Collapse Disorder and bee losses. Uludag Bee J, 11 (1), 17-24.
11. Higes, M., Martín-Hernández, R., Meana, A. (2006). Nosema ceranae, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. J Invert Pathol, 92, 93-95.
12. Higes, M., Martín-Hernández, R., Botías, C., Garrido Bailón, E., González-Porto, A.V., Barrios, L., Nozal, M.J.D., Bernal, J.L., Jimenez, J.J., Garcia Palencia, P., Meana, A. (2008). How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. Environ. Microbiol, 10(10), 2659-2669. http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01687.x
13. Higes, M., Martín-Hernández, R., Garrido-Bailón, E., González-Porto, A.V., García-Palencia, P., Meana, A., del Nozal, M.J., Mayo, R., Bernal, J.L. (2009). Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries. Environ Microbiol Rep, 1(2), 110-113. http://dx.doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00014.x
14. Higes, M., Meana, A., Bartolomé, C., Botías, C., Martín-Hernández, R. (2013). *Nosema ceranae* (Microsporidia), a controversial 21st century honey bee pathogen. Environ Microbiol Rep, 5, 17-29. https://doi.org/10.1111/1758-2229.12024
15. Huang, Z. (2010). Honey Bee Nutrition. Am. Bee J, 150, 773-776.
16. Jacobsen, R. (2010). Fruitless fall: The Collapse of the Honey Bee and the Coming Agricultural Crisis. Bloomsbury Publishing. New York, USA. p. 66-80.
17. Kluser, S., Peduzzi, P. (2007). Global Pollinator Decline: A Literature Review. UNEP/GRID-Europ, Switzerland. p. 1-12.
18. Mahmodi, M., Basami, Sh., Nabian, S., Bahonar, A.R. (2011). Study on some possible factors in occurrence of colony collaps disorder in Ilam. HBSJ, 5 (5), 4-9.
19. Martín-Hernández, R., Meana, A., Prieto, L., Salvador, A.M., Garrido-Bailón, E., Higes, M., (2007). Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. Appl Environ Microbiol, 73, 6331-6338.
20. Masodian, A., Kaviani, M. (2007). Climatology of Iran. University of Isfahan press. Isfahan, Iran. p.179.
21. Modirrousta, H., Moharrami, M., Mansouri, M.A. (2014). Retrospective study of the *Nosema ceranae* infection of honey bee colonies in Iran (2004-2013). Arch Razi Inst, 69, 197-200. http://dx.doi.org/10.7508/ARI.2014.02.012
22. Nabian, S., Ahmadi, K., Shirazi, M.N., Sadeghian, A.G. (2011). First detection of *Nosema ceranae*, a microsporidian protozoa of European honeybees (Apis mellifera) in Iran. Iran J Parasitol, 6, 89. PMID: 22347302
23. Office International Des Epizooties (2008). Nosemosis of Honeybees. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.
24. Özgör, E., Güzerin, E., Keskin, N. (2015). Determination and comparison of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* in terms of geographic and climatic factors. Hacettepe J Biol Chem, 43(1): 9-15.
25. Partap, U., Partap, T., Yoghua, H. (2001). Pollination failure in apple crop and farmers management strategies in Hengduan, China. Acta Hortic,

561, 225-230.
26. Paxton, R.J. (2010). Does infection by Nosema ceranae cause. Colony Collapse Disorder. in honey bees (*Apis mellifera*)? J Apic Res, 49(1), 80-84.
27. Razmaraii, N., Sadegh-Eteghad, S., Babaei, H., Paykari, H., Esmaeilnia, K., Froghy, L. (2013). Molecular identification of *Nosema* species in East Azerbaijan province, Iran. Arch Razi Inst, 68 (1), 23-27.
28. Schacker, M. (2008). A spring without Bees: How Colony Collapse Disorder Has Endangered Our Food Supply. Schacker, M. (2008). A spring without Bees: How Colony Collapse Disorder Has Endangered Our Food Supply. Guilford, Conn. Lyons Press, USA. p.19.
29. Tehrani, F., Rajab, A., Tabatabaaei, SM., Forci, M., Ghafouri, S.A., Amirhajlo, S., Khosravi, D., Hashemi, A., Khoshnevisan, Sh., Charkhkar, S., Fallah, M.H., Moghadas, E. (2014). Executive plan of survey and control of Poultry and Bee Diseases. Veterinary Organization Executive plan, p. 684-693.
30. Topolska, G., Gajda, A., Hartwig, A. (2008). Polish honey bee colony-loss during the winter of 2007/2008, J Apic Sci, 52 (2), 95-104.
31. VanEngelsdorp, D., Underwood, R., Caron, D., Hayes, J. (2007). An estimate of managed colony losses in the winter of 2006-2007: a report commissioned by the apiary inspectors of America. Am Bee J, 147(7), 599-603.

Prevalence of Honeybee Colony Collapse Disorder and its Relation to *Nosema* Spp. and Climate in Apiaries of Iran

Baharak Mohammadian[1], Saied Bokaie[2], Mojtaba Moharrami[3], Sedigheh Nabian[4], Mohammad Forsi[5]

[1]Graduated From the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran, Department of Animal Sciences, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Sanandaj, Iran

[2]Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

[3]Department of Honey Bee, Silk Worm and Wildlife, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

[4]Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

[5]DVM, Expert of Directorate of Health and Control of Bird, Honey Bee and Silk Worm, Iran Veterinary Organization, Tehran, Iran

(Received 31 July 2018, Accepted 29 October 2018)

Abstract:

BACKGROUND: Colony Collapse Disorder is a mysterious phenomenon in which worker bees abruptly disappear from a beehive.

OBJECTIVES: The aim of this study was to estimate the prevalence of CCD and its relation to climate and *Nosema* spp infections.

METHODS: This Cross sectional study was done from April to September 2016. With respect to different climatic zones of the country, a total of 183 apiaries were selected. In each apiary, 5 percent of the colonies were randomly sampled. Adult bee samples were then examined for the presence of Nosema infections using PCR. Data were analyzed by Chi-square using SPSS version 21.0.

RESULTS: The results showed the prevalence of colony collapse disorder in the studied apiaries at 26.8%. The CCD prevalence was 20.5% in humid, 16.1% in semi humid, 22.7% in very humid, 38.2% in arid, 43.8% in semi-arid and 16% in Mediterranean conditions. Comparing CCD phenomenon in different climatic regions, there were significant differences ($P<0.05$). The prevalence of *Nosema ceranae* infection was 85 (46.4%), however, infection with *Nosema apis* was not observed in the samples either in pure form or as associated infection. There was no statistical significant difference between symptomatic and asymptomatic apiaries with colony collapse disorder in terms of presence or absence of *N.ceranea* ($P>0.05$). **CONCLUSIONS:** The results suggest that climate could influence the prevalence of Colony Collapse Disorder. It may be due to different foraging resources in under studied area. According to findings of this study it seems that *N.ceranea* alone cannot be the cause for CCD. Further studies are needed to clarify the interactions between climate and other possible causes.

Keywords:

Colony Collapse Disorder, *Nosema ceranea*, *Nosema apis*, Honeybee, Apiary

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Frequency of understudy apiaries in different provinces.

Table 2. The sequence of specific primers used for identification of Nosema species in PCR.

Table 3. The prevalence of Colony Collapse Disorder in climatic regions of the country in 2016.

Table 4. The prevalence of *Nosema ceranea* in climatic regions of the country in 2016.

Table 5. The relation between Colony Collapse Disorder and *Nosema ceranea* in Apiaries of the country in 2016.

***Corresponding author's email: sbokaie@ut.ac.ir, Tel: 021-6117045, Fax: 021-66933222**