DOI: 10.22055/ivj.2023.406057.2594

اثر کنه واروآ، (*Varroa destructor*)، روی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و تغذیه‌ای زنبور عسل نژاد ایرانی (*Apis mellifera meda*)

مهدی طوسی[۱]، آرش راسخ[۲*]، معصومه ضیایی[۳]، پرویز شیشه‌بر[۲] و غلامحسین طهماسبی[۴]

[۱] دانشجوی دکتری گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۲] استاد گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۳] دانشیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۴] استاد مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، رییس جامعه زنبورعسل ایران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۵

چکیده

زنبور عسل در بقا و گرده‌افشانی بسیاری از گیاهان نقش مهمی را ایفا می‌کند. یکی از مهم‌ترین آفاتی که زنبور عسل را مورد حمله قرار می‌دهد، کنه واروآ می‌باشد. این کنه به عنوان انگل خارجی، عمدتاً از خون لاروها، شفیره‌ها و حشرات کامل زنبور عسل تغذیه می‌کند. در این تحقیق، تأثیر آلودگی زنبور عسل نژاد ایرانی به تراکم‌های مختلف کنه در مرحله شفیرگی، روی ویژگی‌های زیستی و ریخت‌شناختی حشرات کامل زنبور کارگر مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور کنه‌های ماده از کندوهای آلوده جدا شده و سپس بسته به تراکم مورد نظر کنه، درون هر سلول حاوی پیش‌شفیره یک، دو و سه کنه قرار گرفت. پس از ظهور، ویژگی‌های تغذیه‌ای حشرات کامل زنبور هر سه روز یک بار و به مدت ۱۲ روز بررسی گردید و پس از آن زنبورها جهت بررسی مساحت آسینی‌های غدد هیپوفارینژال تشریح شدند. نتایج مربوط به ویژگی‌های زیستی و ریخت‌شناختی نشان داد که افزایش تراکم کنه تأثیری در طول دوره شفیرگی زنبورها نداشت، اما به طور معنی‌داری باعث کاهش وزن، طول بدن، مساحت بال‌های جلو، عقب و ساق پای عقب زنبورهای کارگر شد. از طرفی زنبورهای کاملی که در دوران شفیرگی حامل سه کنه بودند، بیش‌ترین مرگ و میر را داشتند و به همین دلیل نیز امکان بررسی ویژگی‌های تغذیه‌ای آن‌ها وجود نداشت. نتایج مربوط به ویژگی‌های تغذیه‌ای نشان داد که با افزایش تراکم کنه از میزان مصرف شربت و آب زنبورها کاسته شد، اما در میزان مصرف گرده اختلافی را نشان نداد. از سویی شاخص مصرف مواد غذایی زنبورهای فاقد کنه و زنبورهای حامل دو کنه در دوره شفیرگی نسبت به زنبورهای دارای یک کنه بیش‌تر بود، اما نرخ رشد و مساحت آسینی‌های تیمارها تفاوتی نشان نداد. امید می‌رود که نتایج مطالعه حاضر با ارایه اطلاعات بیش‌تر در خصوص چگونگی تأثیر کنه واروآ روی زنبورها، زمینه‌ای را برای کنترل این کنه فراهم سازد.

کلمات کلیدی: تراکم کنه واروآ، شاخص مصرف، نرخ رشد، ویژگی‌های مرفولوژیکی

مقدمه

گیاهانی که به کمک جانوران گرده‌افشانی می‌شوند در مقایسه با گیاهانی که گرده‌افشانی آن‌ها با باد انجام می‌شود، از تنوع بیش‌تری برخوردارند، به طوری که حدود ۲۴۰۰۰۰ گونه گیاه گل‌دار برای گرده‌افشانی به ۱۰۰۰۰۰ گونه حشره

* نویسنده مسئول: آرش راسخ، استاد گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
E-mail: a.rasekh@scu.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

و جانور وابسته هستند (Dafni, 1992). همچنین محصولات غذایی مورد استفاده بشر مانند گوشت قرمز و لبنیات که قسمت مهمی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند، در نتیجه مصرف گیاهانی مانند یونجه، شبدر و دانه‌های روغنی است که عمده گرده‌افشانی آن‌ها توسط حشرات صورت می‌گیرد (Dafni, 1992). با توجه به توضیحات بالا و بررسی گزارش‌های موجود، بین ۳۰ تا ۵۰ درصد کل رژیم غذایی بشر به طور مستقیم و غیرمستقیم وابسته به حشرات گرده‌افشان است (Dafni, 1992; Sigel et al, 2012). اهمیت دیگر گرده‌افشانی به خاطر تأثیر آن روی کیفیت و کارایی تولید محصول است، به طوری که گرده‌افشانی ناکافی نه تنها منجر به کاهش تولید محصول می‌شود، بلکه دیررس شدن محصول و همچنین کاهش مرغوبیت میوه را نیز به همراه خواهد داشت (Pimentel et al, 1997). از دیدگاه اقتصادی نیز حدود یک سوم اقتصاد جهانی تولیدات کشاورزی وابسته به گرده‌افشانی گیاهان توسط حشرات گرده افشان است (Nabhan, 1996)، به طوری که کمبود حشرات گرده‌افشان در اکوسیستم‌های کشاورزی منجر به کاهش امنیت غذایی و اقتصادی خواهد شد (Braulio et al, 1999).

در میان حشرات گرده‌افشان، زنبورعسل معمولی یا اروپایی، *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)، بیش‌ترین سهم را در بین جانداران گرده‌افشان به عهده دارد به طوری که این گونه مسئول گرده افشانی ۸۵ درصد محصولات جهانی می‌باشد (Sigel et al, 2012). در یک کلنی زنبور عسل فعالیت‌های مختلف توسط زنبورهای کارگر و به اقتضای سن آن‌ها انجام می‌شود و زنبورهای کارگر از ۲۰ روزگی به بعد، وظیفه چرا و گرده‌افشانی را به عهده دارند (Ebadi and Ahmadi, 2004). زنبور عسل نژاد ایرانی، *Apis mellifera meda* Skorikov، یکی از ۴۲ نژاد زنبور عسل موجود در دنیاست که علاوه بر ایران، در شمال عراق و جنوب شرقی ترکیه و حتی در شمال سوریه نیز وجود دارد. نژاد ایرانی از نظر زیستی دارای ویژگی‌هایی نظیر قدرت باروری زیاد، قدرت زمستان‌گذرانی و تابستان‌گذرانی خوب و جمع‌آوری زیاد بره موم می‌باشد که در مجموع باعث تمایز این نژاد از سایر نژادها می‌شود. زنبورهای این نژاد دارای رفتار تهاجمی بالا و عملکرد نسبتاً پایین بوده، ولی با توجه به ویژگی‌های ارایه شده، پرورش این نژاد برای زنبوردارن اقتصادی است (Tahmasbi et al, 2013). گرده‌افشانی و تولید محصولات کندو ممکن است به وسیله عوامل بیماری‌زا و انگل‌ها تحت تأثیر قرار گیرند (Tu et al, 2010). یکی از مهم‌ترین چالش‌های زنبورداری امروز، کنه واروآ، *Varroa destructor* Anderson & Trueman (Parasitiformes: Varroidae) می‌باشد و یافتن راه حل‌هایی برای کنترل این انگل از اهمیت زیادی برخوردار است (Coby, 2009). کنه واروآ، انگل خارجی نوزادان و حشرات کامل زنبورعسل است و با چشم غیر مسلح به خوبی دیده می‌شود. کنه ماده بالغ، تخم مرغی شکل و مسطح، به طول ۱/۱ تا ۱/۲ میلی‌متر و به عرض ۱/۵ تا ۱/۷ میلی‌متر بوده و به رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز می‌باشد که پس از ورود به حجره نوزادان، با بسته شدن درب آن‌ها شروع به تخم‌ریزی می‌کند. کنه‌های نر از کنه-های ماده کوچک‌تر بوده (به طول ۰/۷۶ میلی‌متر و به عرض ۰/۷۱ میلی‌متر) و به رنگ زرد روشن تا خاکستری روشن می‌باشند. کنه در انتهای پنجه پاهای خود دارای اندام بادکش‌مانند (Sucker-like) بوده و قادر است به موهای بدن حشرات کامل زنبور چسبیده، به طوری که زنبور به سختی قادر به جدا کردن آن از بدن خود می‌باشد (Mossadegh and Komeili-Birjandi, 1991). کنه واروآ جهت تغذیه از بالغین زنبورعسل، محل اتصال حلقه‌های بدن به خصوص سر و حلقه اول سینه و همچنین محل اتصال سینه به شکم را انتخاب کرده و با فرو کردن قطعات دهانی خود به مقدار کم و به دفعات زیاد از همولنف و چربی میزبان تغذیه می‌کند. میزان رشد جمعیت یک کلنی زنبور عسل علاوه بر شرایط محیطی و نژاد زنبورعسل، به میزان قابل توجهی به میزان آلودگی کندو به کنه واروآ بستگی دارد (DeGrandi-Hofman and Curry, 2004; Frey and Rosenkranz, 2014). کنه واروآ با تغذیه مستقیم از

همولنف باعث کاهش میزان آب و پروتیین زنبورها شده که این امر باعث کاهش طول عمر و میزان فعالیت آن‌ها می‌گردد (Annoscia et al, 2012; Bowen-Walker and Gunn, 2001). از طرف دیگر، افزایش تراکم کنه در حجره نوزادان منجر به تشدید تغذیه از همولنف نوزادان شده و ضمن افزایش احتمال مرگ آن‌ها، کاهش اندازه و وزن، تغییر شکل یا از بین رفتن بال‌ها، عدم توسعه شکم و غدد هیپوفارینژال را در حشرات کامل زنده مانده به دنبال خواهد داشت (Boecking and Spivak, 1999; Bowen-Walker et al, 1999; De Jong et al, 1982; Mondet et al, 2014; Yang et al, 2005). علاوه بر این، کنه واروآ برای فراهم نمودن شرایط مطلوب‌تر برای خود از جمله افزایش رشد و تولیدمثل، برخی تغییرات رفتاری را در زنبور میزبان موجب می‌شود، به عنوان مثال تغییر در رفتار جستجوگری زنبورهای عسل آلوده به کنه واروآ مشاهده شده است (Kralj and Fosch, 2006). این تغییر رفتار زنبور می‌تواند روی اکوسیستم محیط و زنجیره‌های غذایی تأثیر به‌سزایی بر جای گذارد (Otterstatter et al, 2005). زنبور عسل در برابر کنه واروآ بی‌دفاع نبوده و از مکانیزم‌های مقاومتی مختلفی بهره می‌برد که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به رفتار بهداشتی (Hygienic behavior) و رفتار تیمارگری (Grooming behavior) اشاره کرد. رفتار بهداشتی خود فرآیندی دو مرحله‌ای شامل درپوش‌برداری و تخلیه شفیره‌های آلوده می‌باشد. در طی درپوش‌برداری، زنبورهای پرستار (Nurse bees) اقدام به شناسایی سلول‌های سربسته حاوی شفیره آلوده به کنه نموده و در مرحله بعد در طی فرآیند تخلیه اقدام به خارج کردن شفیره‌ها از این حجره‌ها می‌نمایند (Perez-Sato et al, 2009). رفتار تیمارگری فرآیند دیگری جهت مقاومت به کنه واروآ است که در طی این رفتار زنبورهای کارگر توسط آرواره‌های خود، کنه‌های واروآ چسبیده به بدن خود (رفتار خود تیمارگری) یا کنه‌های بدن سایر زنبورهای درون کلنی (رفتار دگرتیماری) را جدا کرده، جویده و به کف کندو می‌اندازند (Pritchard, 2016). هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر آلودگی به تراکم‌های مختلف کنه واروآ در مرحله شفیرگی زنبورعسل کارگر نژاد ایرانی روی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و زیستی حشرات کامل زنبور کارگر است. نتایج مطالعه حاضر می‌تواند به عنوان یک شاخص برای تعیین آستانه‌ای از تراکم کنه که منجر به خسارت جدی روی زنبور عسل می‌گردد، باشد و زمینه کنترل به موقع جمعیت آفت را فراهم آورد.

مواد و روش کار

جهت انجام آزمایش‌ها، از کندوهای مستقر در مزرعه تحقیقاتی گروه گیاه‌پزشکی واقع در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز استفاده شد. این کلنی‌ها شامل زنبورعسل نژاد ایرانی بودند. با نمونه‌برداری اولیه در فروردین ماه ۱۴۰۱، آلودگی یک کندو به کنه واروآ مشخص شد و از روی زنبورهای کارگر این کندو، کنه‌های واروآی بالغ زنده جمع‌آوری شد. برای جمع‌آوری کنه از گاز کربن‌دی‌اکسید استفاده شد، بدین صورت که در هر بازدید، ۱۰۰ الی ۲۰۰ عدد حشره کامل زنبور کارگر مستقر در یک یا دو قاب، در داخل وسیله مخصوص جمع‌آوری کنه ریخته شد. این وسیله شامل دو ظرف است که یکی در داخل دیگری قرار می‌گیرد. تمام دیواره‌ها و درب ظرف داخلی (به ابعاد ۵×۱۰×۱۵ سانتی‌متر) از جنس توری فلزی (۱۰ مش) بود. زنبورها در ظرف داخلی ریخته شده و سپس درب آن گذاشته شد. این ظرف به همراه زنبورها داخل ظرف بزرگ‌تر دیگری (به ابعاد ۱۰×۲۵×۳۰ سانتی‌متر) که تمام دیواره‌ها و درب آن از جنس پلاستیک است، قرار گرفته و سپس درب این ظرف بسته شد. در قسمت کناری ظرف خارجی سوراخی تعبیه شده که لوله گاز به داخل آن وارد شود. برای گازدهی از کپسول استوانه‌ای ۴ لیتری گاز کربن‌دی‌اکسید استفاده شد. زنبورها به مدت پنج دقیقه تحت تأثیر گاز قرار می‌گرفتند و پس از این مدت زنبورها و کنه‌های روی آن‌ها بیهوش می‌شدند. سپس اتصال ظرف خارجی با کپسول گاز قطع شده و با تکان دادن شدید ظرف و در نتیجه برخورد زنبورها به هم و دیواره ظرف داخلی،

کنه‌های بیهوش شده از توری ظرف داخلی عبور کرده و در کف ظرف خارجی می‌افتادند. در انتها، درب این ظرف باز شده و به وسیله آسپیراتور، کنه‌های بالغ بیهوش شده برای استفاده در آزمایش‌ها جمع‌آوری می‌شدند. علاوه بر این در یک کندوی سالم و عاری از کنه، یک قاب حاوی نوزادان کارگر تا زمان بسته شدن درب حجره‌ها و رفتن به مرحله پیش شفیرگی، تحت نظر قرار گرفتند. سپس این قاب به آزمایشگاه و درون ژرمیناتور تاریک با شرایط دمایی (۱±) ۳۴/۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی (۵±) ۷۵ درصد منتقل گردید. ۱۵ ساعت پس از بسته شدن درب حجره‌ها، قاب از ژرمیناتور خارج و درپوش حجره‌ها برداشته شد و روی هر حجره حاوی پیش شفیره یک کپسول خوراکی ژلاتینی (به حجم ۱/۵ میلی‌لیتر) قرار گرفت و سپس این قاب به مدت ۲ الی ۵ ساعت به صورت افقی، به گونه‌ای درون ژرمیناتور قرار گرفت که پیش شفیره‌ها به مرور زمان و توسط نیروی جاذبه به داخل کپسول‌ها سُر بخورند. سپس بسته به تراکم مورد نظر کنه، درون هر کپسول حاوی پیش شفیره، یک، دو یا سه کنه ماده قرار گرفت و درب کپسول‌ها که حاوی سه سوراخ ریز جهت تهویه بود، بسته شد. کپسول‌ها جهت طی شدن مرحله شفیرگی زنبور در ژرمیناتور قرار گرفتند. در تیمار شاهد (بدون آلودگی)، در داخل کپسول تنها شفیره زنبور قرار داده شد. با گذشت ۱۱ الی ۱۲ روز و همزمان با ظاهر شدن حشرات کامل زنبور کارگر، از این زنبورها در آزمایش‌ها استفاده گردید.

برای ساخت قفس‌های آزمایش از لیوان‌های پلاستیکی یکبار مصرف و شفاف (به ارتفاع ۹ سانتی‌متر، قطر دهانه لیوان در بالا ۶/۵ و در پایین ۴ سانتی‌متر) استفاده شد. دهانه لیوان با تور پارچه‌ای پوشانیده شد و جهت جلوگیری از خروج زنبورها از لیوان، اطراف آن با کش پلاستیکی محکم شد. لیوان‌ها به صورت وارونه قرار داده شدند به طوری که دهانه آن‌ها رو به پایین باشد. جهت تهویه سه سوراخ در بالا و ۱۰ ردیف سوراخ ریز در دیواره لیوان ایجاد گردید. درون هر لیوان یک تکه برگه موم (۲×۷ سانتی‌متر) جهت استقرار و آرامش زنبورها قرار داده شد. جهت تغذیه زنبورهای درون این قفس‌ها از سه میکروتیوب جداگانه (۱/۵ میلی‌لیتری) مملو از شربت شکر (۱:۱)، گرده گل و آب استفاده شد. این میکروتیوب‌ها از طریق ایجاد سه شکاف جداگانه در دیواره لیوان‌ها به درون آن‌ها وارد شدند. قسمت انتهایی میکروتیوب‌ها نیز جهت دسترسی زنبورها به مواد غذایی دارای یک شیار عریض به طول پنج سانتی‌متر بود. مواد غذایی (شربت شکر و گرده گل)، هر دو روز یکبار با مواد غذایی تازه جایگزین شدند.

آزمایش تأثیر آلودگی به تراکم‌های مختلف کنه واروآ روی ویژگی‌های ظاهری و زیستی حشرات کامل زنبور کارگر، شامل چهار تیمار (**n**=۱۲)، بر حسب میزان آلودگی شفیره‌های زنبور به تراکم‌های مختلف کنه بود. حشرات کامل تیمارهای مختلف در طول دوره شفیرگی خود حامل یک، دو و یا سه کنه ماده و نتایج آن‌ها بودند. در تیمار چهارم (شاهد) نیز از حشراتی که در طول دوره نوزادی عاری از کنه بودند، استفاده شد.

همراه با ظهور حشرات کامل در هر یک از تیمارها، طول دوره رشدی (مرحله شفیرگی) یکایک آن‌ها به دست آمد. در ادامه این آزمایش‌ها حشرات کامل توسط بخار الکل (۹۶ درصد) کشته و وزن تر، وزن خشک، طول بدن، مساحت ساق پای عقب، و مساحت بال‌های جلو و عقب یکایک زنبورها تعیین شد. برای تعیین وزن خشک، زنبورهای مرده به مدت ۹۰ دقیقه در آون با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. برای توزین زنبورها از ترازوی بسیار دقیق (A&D® Analytical Balance, Model GR-202) (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) استفاده شد. برای اندازه‌گیری شاخص‌های ریخت‌شناختی، از هر یک از اندام‌ها با استفاده از استریومیکروسکوپ مجهز به دوربین دیجیتال (با بزرگ‌نمایی ۱۶ برابر) عکس‌برداری شد. این عکس‌ها به کامپیوتر منتقل شده و اندازه این شاخص‌ها توسط نرم‌افزار ImageJ (با دقت ۰/۰۰۳) تعیین گردید.

انجام آزمایش جهت بررسی تأثیر آلودگی به تراکم‌های مختلف کنه واروآ، روی ویژگی‌های تغذیه‌ای حشرات کامل

زنبورعسل شامل سه تیمار (n=۱۲)، بر حسب میزان آلودگی شفیره‌های زنبورعسل به تراکم های مختلف کنه بود. حشرات کامل تیمارهای مختلف در طول دوره شفیرگی خود حامل یک و یا دو کنه ماده و نتاج آن‌ها بودند. در تیمار چهارم (شاهد) نیز از حشراتی که در طول دوره نوزادی عاری از کنه بودند، استفاده شد. با توجه به این که، مطابق با نتایج آزمایش قبلی، تراکم سه کنه ماده و نتاج آن‌ها، منجر به مرگ اکثر زنبورها شده و تعداد اندک حشرات کامل ظاهر شده نیز حشراتی ناقص بودند، این تیمار از این آزمایش حذف شد.

با ظهور زنبورها در هر یک از تیمارهای بالا به منظور بررسی ویژگی‌های تغذیه‌ای، حشرات به طور جداگانه به قفس‌های آزمایش منتقل شدند تا میزان تغذیه از شربت شکر، گرده، آب و همچنین تغییرات وزن تر، در روزهای سوم، ششم، نهم و دوازدهم پس از انتقال به قفس‌ها، تعیین شود. این قفس‌ها به ژرمیناتور تاریک با شرایط دمایی (±۱) ۳۴/۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی (±۵) ۷۵ درصد منتقل شدند. قبل از اندازه‌گیری وزن تر با توجه به لزوم ثابت بودن زنبورها روی ترازو، زنبورها به مدت یک دقیقه در دمای ۲- تا ۵- درجه سلسیوس قرار گرفتند. بر اساس یک پیش‌آزمایش، مشخص شد که زنبورها طی این مدت در شرایط دمایی پایین دچار آسیب نمی‌شوند. همچنین میزان تغذیه از مواد غذایی مذکور و شاخص مصرف مواد غذایی و نرخ رشد زنبور در هر قفس به مدت ۱۲ روز و هر ۳ روز یکبار بررسی شد. در ادامه شاخص مصرف (وزن غذای خورده شده تقسیم بر وزن تر زنبور) و نرخ رشد (افزایش وزن تر زنبور تقسیم بر وزن غذای خورده شده) در روزهای نمونه‌برداری به روش Rasekh و Osawa (۲۰۲۰) تعیین شد.

در پایان آزمایش‌ها، زنبورهای ۱۲ روزه توسط بخار الکل کشته و در زیر استریومیکروسکوپ جهت تعیین مساحت آسینی‌های غدد هیپوفارینژال تشریح شدند. برای اندازه‌گیری مساحت آسینی‌ها در هر زنبور، تعداد ده آسینی به طور تصادفی انتخاب و در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ عکس‌برداری صورت گرفت. سپس این عکس‌ها به کامپیوتر منتقل شده و مساحت هر غده توسط نرم‌افزار Digimizer محاسبه گردید.

قبل از آنالیز داده‌ها، نرمال بودن آنها از طریق آزمون گولموگروف- اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) بررسی گردید. جهت مقایسه میانگین داده‌های مربوط به ویژگی‌های ظاهری و زیستی حشرات کامل از آزمون آماری تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و تعیین اختلاف بین گروه‌ها، از آزمون تکمیلی توکی (Tukey's post-hoc) (در سطح ۰/۰۵) استفاده شد. برای بررسی تأثیر تراکم کنه روی میزان مرگ و میر شفیره‌ها از آزمون مربع کای پیرسون (Pearson's chi-square test) (χ^2) استفاده شد. جهت آنالیز داده‌های مربوط به تغییرات وزن و تغییرات میزان مصرف مواد غذایی و همچنین نرخ رشد، نظر به وجود دو متغیر مستقل، یعنی تراکم کنه واروآ در مرحله شفیرگی (شفیره‌های حاوی صفر، یک و دو کنه) و سن زنبور (زنبورهای سه، شش، نه و دوازده روزه)، از آزمون آماری تجزیه واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) استفاده شد. با توجه به این که برهم‌کنش این دو متغیر مستقل معنی‌دار نبود، داده‌های مربوط به سنین مختلف زنبور در هم جمع شده و تیمارهای مربوط به سطوح مختلف آلودگی شفیره به کنه، دوباره آنالیز شد. همچنین جهت آنالیز داده‌های مربوط به تغییرات وزن و تغییرات میزان مصرف مواد غذایی در طی سنین مختلف زنبور، از آزمون آماری تجزیه واریانس یک طرفه سنجش تکراری (One-way ANOVA Repeated Measures) و آزمون تکمیلی بون فرونی (Bonferroni's post-hoc) استفاده شد. تمامی نتایج توسط نرم افزار SPSS V.24 آنالیز شدند (SPSS, 1998).

نتایج

بررسی تأثیر آلودگی به تراکم‌های مختلف کنه واروآ، روی ویژگی‌های ظاهری و زیستی حشرات کامل زنبورعسل

بر اساس نتایج این آزمایش، همراه با افزایش تعداد کنه در حجره شفیرگی، مرگ و میر شفیره‌ها به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد، به طوری که شفیره‌هایی که حاوی سه کنه بودند بیش‌ترین مرگ و میر را داشتند (P= ۰/۰۰۵ , $\chi^2_{3,11}$=۱۲/۷) و همچنین کاهش معنی‌دار طول بدن، مساحت بال‌های جلو و عقب و همچنین مساحت ساق پای عقب زنبورهای کارگر بین سطوح مختلف آلودگی به کنه مشاهده شد (Table 1). حشرات کاملی که در دوران شفیرگی حامل سه کنه مادر بودند، به دلیل وجود بال‌های ناقص، توانایی پرواز نداشتند. این در حالی است که طول دوره شفیرگی در حجره‌ها (به ترتیب برای سه تیمار و شاهد: ۲۸۲/۴۱، ۲۸۲/۱، ۲۸۲/۳۳ و ۲۸۳/۶ ساعت) دستخوش تغییر نشد ($F_{3,29}$= ۱/۱۸ ; P = ۰/۱۶).

از طرفی وزن تر و خشک زنبورهای کامل نیز تحت تاثیر تراکم کنه قرار گرفت و با افزایش تراکم کنه از وزن زنبورهای کامل کاسته شد (Table 2).

بررسی تأثیر آلودگی به تراکم‌های مختلف کنه واروآ روی ویژگی‌های تغذیه‌ای حشرات کامل زنبورعسل

اثرات اصلی مربوط به تراکم کنه (صفر، ۱ و ۲ کنه) و سن زنبور (روزهای ۳، ۶ ، ۹ و ۱۲) و اثرات متقابل آن‌ها روی میزان مصرف آب و مواد غذایی در Table 3 آورده شده است.

بر اساس نتایج به دست آمده، میزان مصرف شربت شکر زنبورها در سنین مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان داد، این در حالی بود که این میزان در هر تیمار در طی روزهای مختلف دستخوش تغییر معنی‌داری نشد (Table 4).

Table 1: Mean (± SE) of morphological characteristics of *Apis mellifera meda* worker bees infected with different densities of *Varroa destructor* in the pupal stage. In each row, Means followed by same letter are not significantly different from each other (Tukey's post-hoc, P>0.05)

	Different densities of infection				
	No mite	One mite	Two mites	Three mites	
Body length (mm)	12.08 ± 0.2 a	12 ± 0.2 a	9.33 ± 0.3 b	9 ± 0.3 b	$F_{3,29}$ =32.03, P<0.001
Forewing area (mm^2)	16.05 ± 0.07a	16.01 ± 0.06 a	13.45 ± 0.29 b	2.21 ± 0.18 c	$F_{3,29}$ =1755.61, P<0.001
Hind wing area (mm^2)	6.77 ± 0.07 a	6.52 ± 0.06 a	5.93 ± 0.06 b	1.15 ± 0.06 c	$F_{3,29}$ =876.52, P<0.001
Hind tibia area (mm^2)	2.4 ± 0.004 a	2.39 ± 0.006 a	2.24 ± 0.02 b	2 ± 0.03 c	$F_{3,29}$ =133.42, P<0.001

Table 2: Mean (± SE) of wet and dry weight (mg) of *Apis mellifera meda* worker bees infected with different densities of *Varroa destructor* in the pupal stage. In each row, Means followed by same letter are not significantly different from each other (Tukey's post-hoc, P>0.05)

	Different densities of infection				
	No mite	One mite	Two mites	Three mites	
Wet weight	129 ± 1 a	127 ± 1 a	78 ± 1 b	77 ± 2 b	$F_{3,29}$ =347.46, P<0.001
Dry weight	18 ± 0.1 a	17 ± 0.2 a	16 ± 0.2 b	16 ± 0.2 b	$F_{3,29}$ =21.73, P<0.001

Table 3: Mean (± SE) of sugar syrup consumption (ml) by *Apis mellifera meda* adult workers on the 3rd, 6th, 9th, and 12th days old, that were infected with different densities of *Varroa destructor* in the pupal stage. Means within each row (Bonferroni's post-hoc) bearing the same upper case letter, and means within each column (Tukey's post-hoc) bearing the same lower case letter, are not significantly different (P>0.05)

	The age of adult bees				
	3rd day	6th day	9th day	12th day	
No mite	0.436 ± 0.03 Aa	0.355 ± 0.02 Aa	0.445 ± 0.02 Aa	0.418 ± 0.03 Aa	$F_{2.21,22.14}$ =2.41, P=0.1
One mite	0.32 ± 0.03 Aab	0.27 ± 0.02 Ab	0.31 ± 0.01 Ab	0.32 ± 0.02 Aab	$F_{2.44,21.96}$ =0.75, P=0.5
Two mites	0.28 ± 0.03 Ab	0.24 ± 0.02 Ab	0.28 ± 0.02 Ab	0.28 ± 0.02 Ab	$F_{2.21,8.85}$=0.47, P=0.65
	$F_{2,23}$ =4.78, P=0.01	$F_{2,23}$ =6.85, P=0.005	$F_{2,23}$ =15.13, P<0.001	$F_{2,23}$ =5.37, P=0.01	

Table 4: Two-way ANOVA of effects of *Varroa destructor* density (0, 1, and 2 mites) and bee age (3, 6, 9, and 12 days old) and their interaction, on food consumption *of* *Apis mellifera meda* adult workers

Source of variation	Sugar syrup			Pollen			Water		
	df	*F*	*P*	df	*F*	*P*	df	*F*	*P*
Varroa mite density	2	20.6	<0.001	2	1.25	0.3	2	8.6	<0.001
Bee age	3	0.87	0.46	3	3.38	0.02	3	2.58	0.06
Interaction between two factors	6	0.87	0.52	6	1.1	0.37	6	0.75	0.6
Residual d.f.	92			92			92		

مطابق با Table 5، افزایش تراکم کنه در زمان شفیرگی منجر به افزایش مصرف گرده در حشرات کامل نشد. در خصوص مصرف آب نیز تنها در روزهای نهم و دوازدهم بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (Table 6).

Table 5: Mean (± SE) of water consumption (ml) by *Apis mellifera meda* adult workers on the 3rd, 6th, 9th, and 12th days old, that were infected with different densities of *Varroa destructor* in the pupal stage. Means within each row (Bonferroni's post-hoc) bearing the same upper case letter, and means within each column (Tukey's post-hoc) bearing the same lower case letter, are not significantly different (P>0.05)

	The age of adult bees				
	3rd day	6th day	9th day	12th day	
No mites	0.14 ± 0.03 Aa	0.22 ± 0.02 Aa	0.2 ± 0.02 Aa	0.15 ± 0.02 Aa	$F_{2.3,23.08}$ =2.23, P=0.12
One mite	0.15 ± 0.01 Aa	0.17 ± 0.04 Aa	0.1 ± 0.03 Aab	0.11 ± 0.04 Aab	$F_{2.69,24.23}$ =1.25, P=0.31
Two mites	0.08 ± 0.02 Aa	0.12 ± 0.03 Aa	0.08 ± 0.02 Ab	0.02 ± 0.02 Ab	$F_{1.99,7.98}$=2.42, P=0.15
	$F_{2,23}$ =1.52, P=0.23	$F_{2,23}$ =1.82, P=0.18	$F_{2,23}$ =5.04, P=0.01	$F_{2,23}$ =3.19, P=0.04	

Table 6: Mean (± SE) of pollen consumption (ml) by *Apis mellifera meda* adult workers on the 3rd, 6th, 9th, and 12th days old, that were infected with different densities of *Varroa destructor* in the pupal stage. Means within each row (Bonferroni's post- hoc) bearing the same upper case letter, and means within each column (Tukey's post-hoc) bearing the same lower case letter, are not significantly different (P>0.05)

	The age of adult bees				
	3rd day	6th day	9th day	12th day	
No mite	0.023 ± 0.001 Aa	0.022 ± 0.001 Aa	0.024 ± 0.001Aa	0.027 ± 0.001Aa	$F_{1.73,17.30}$ =2.54, P=0.11
One mite	0.024 ± 0.001 Aa	0.024 ± 0.001 Aa	0.023 ± 0.0008Aa	0.028 ± 0.001Aa	$F_{1.81,16.35}$ =2.98, P=0.08
Two mites	0.021 ± 0.001 Aa	0.023 ± 0.001 Aa	0.024 ± 0.001Aa	0.023 ± 0.001Aa	$F_{1.63,6.55}$=0.46, P=0.61
	$F_{2,23}$ =0.72, P=0.49	$F_{2,23}$ =0.67, P=0.52	$F_{2,23}$ =0.38, P=0.68	$F_{2,23}$ =2.2, P=0.13	

با توجه به عدم معنی‌دار بودن اثرات متقابل تراکم کنه و سن زنبور روی میزان مصرف مواد غذایی مذکور و آب، تجزیه واریانس یک طرفه انجام شد، نتایج نشان داد که میزان مصرف شربت شکر و آب تیمارها در مجموع دوازده روز با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشت به طوری که با افزایش تراکم کنه از میزان مصرف شربت و آب کاسته شد در حالی که میزان مصرف گرده تغییری نکرد (Table 7).

اثرات اصلی مربوط به تراکم کنه (صفر، ۱ و ۲ کنه) و سن زنبور (روزهای ۳، ۶ ، ۹ و ۱۲) و اثرات متقابل آن‌ها روی وزن، شاخص مصرف و نرخ رشد مواد غذایی در Table 8 آورده شده است. وزن تر تیمارهای مختلف در تمامی روزها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشت و در هر تیمار نیز در طی دوازده روز سیر صعودی قابل توجهی را نشان داد (Table 9).

شاخص مصرف مواد غذایی (Table 10) و نرخ رشد (Table 11) نیز در روز ششم و نهم بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین تنها در زنبورهای کامل فاقد کنه، شاخص مصرف و نرخ رشد با گذشت زمان تفاوت معنی‌داری را نشان داد.

Table 7: Mean (± SE) of sugar syrup (ml), water (ml) and pollen (g) consumption by *Apis mellifera meda* adult workers on the all sampling days, which were infected with different densities of *Varroa destructor* in the pupal stage. In each column, Means followed by same letter are not significantly different from each other (Tukey's post-hoc; P>0.05)

	sugar syrup	water	Pollen
No mite	0.41 ± 0.01 a	0.18 ± 0.01 a	0.024 ± 0.0007 a
One mite	0.3 ± 0.01 b	0.13 ± 0.01 ab	0.024 ± 0.0006 a
Two mites	0.3 ± 0.01 b	0.08 ± 0.01 b	0.023 ± 0.0007 a
	$F_{2,101}$ =20.25, P<0.001	$F_{2,101}$ =8.32, P<0.001	$F_{2,101}$ =1.1, P=0.33

Table 8: Two-way ANOVA effects of *Varroa destructor* density (0, 1, and 2 mites) and bee age (3, 6, 9, and 12 days) and their interaction, on weight, consumption index and growth rate *of* *Apis mellifera meda* adult workers

Source of variation	Weight			Consumption index			Growth rate		
	df	*F*	*P*	df	*F*	*P*	df	*F*	*P*
Varroa mite density	2	377.07	<0.001	2	11.46	<0.001	2	3.38	0.04
Bee age	3	51.4	<0.001	3	3.9	0.01	2	5.42	0.006
Interaction between factors	6	0.52	0.79	6	0.9	0.5	4	2.14	0.09
Residual d.f.	92			92			69		

Table 9: Mean (± SE) of wet weight (mg) of *Apis mellifera meda* adult workers on the 3rd, 6th, 9th, and 12th days, which were infected with different densities of *Varroa destructor* in the pupal stage. Means within each row (Bonferroni's post-hoc) bearing the same upper case letter, and means within each column (Tukey's post-hoc) bearing the same lower case letter, are not significantly different (P>0.05).

	The age of adult bees				
	3rd day	6th day	9th day	12th day	
No mite	83.6 ± 0.7 Da	87.4 ± 0.8 Ca	91.8 ± 0.8 Ba	100.2 ± 1 Aa	$F_{1.43,14.35}$ =80.9, P<0.001
One mite	80.7 ± 1 Da	85.8 ± 1 Ca	90.4 ± 1 Ba	96.2 ± 1 Aa	$F_{2.35,21.23}$ =258.34, P<0.001
Two mites	54.7 ± 2 Bb	58.1 ± 2 Bb	62.9 ± 2 Ab	67 ± 3 Ab	$F_{1.92,7.71}$=59.51, P<0.001
	$F_{2,23}$ =103.91 P<0.001	$F_{2,23}$ =100.52 P<0.001	$F_{2,23}$ =107.81 P<0.001	$F_{2,23}$ =78 P<0.001	

Table 10: Mean (± SE) of consumption index (mg/mg) of *Apis mellifera meda* adult workers on the 3rd, 6th, 9th, and 12th days, which were infected with different densities of *Varroa destructor* in the pupal stage. Means within each row (Bonferroni's post-hoc) bearing the same upper case letter, and means within each column (Tukey's post-hoc) bearing the same lower case letter, are not significantly different (P>0.05)

	The age of adult bees				
	3rd day	6th day	9th day	12th day	
No mites	7.25 ± 0.45 AaB	6.92 ± 0.34 AaBb	7.4 ± 0.38 Aa	6 ± 0.43 Ba	$F_{2.73,27.31}$ =3.9, P=0.02
One mite	6.13 ± 0.44 Aa	5.45 ± 0.59 Ab	4.84 ± 0.57 Ab	4.8 ± 0.58 Aa	$F_{2.21,19.92}$ =1.81, P=0.18
Two mites	7.07 ± 1.07 Aa	7.9 ± 0.88 Aa	6.5 ± 0.49 Aab	5.45 ± 0.74 Aa	$F_{2.18,8.73}$=1.48, P=0.28
	$F_{2,23}$ =1.28, P=0.29	$F_{2,23}$ =4.51, P=0.02	$F_{2,23}$ =7.71, P=0.003	$F_{2,23}$ =1.46, P=0.25	

Table 11: Mean (± SE) of growth rate (mg/mg/d) of *Apis mellifera meda* adult workers on the 3rd, 6th, 9th, and 12th days, which were infected with different densities of *Varroa destructor* in the pupal stage. Means within each row (Bonferroni's post-hoc) bearing the same upper case letter, and means within each column (Tukey's post-hoc) bearing the same lower case letter, are not significantly different (P>0.05)

	The age of adult bees			
	6th day	9th day	12th day	
No mite	0.0065 ± 0.0008 Bb	0.0064 ± 0.0007 Bb	0.014 ± 0.0022 Aa	$F_{1.34,13.49}$ =9.71, P=0.005
One mite	0.012 ± 0.0012 Aa	0.012 ± 0.0021 Aab	0.013 ± 0.0014 Aa	$F_{1.58,14.27}$ =0.36, P=0.65
Two mites	0.0072 ± 0.0018 Ab	0.012 ± 0.0013 Aa	0.012 ± 0.0026 Aa	$F_{1.16,4.63}$=1.38, P=0.3
	$F_{2,23}$ =6.88, P=0.005	$F_{2,23}$ =4.15, P=0.03	$F_{2,23}$ =0.33, P=0.71	

نظر به عدم معنی‌داری اثرات متقابل تراکم کنه و سن زنبور روی وزن زنبورها و همچنین شاخص مصرف و نرخ رشد آن‌ها، تجزیه واریانس یک طرفه نشان داد که بین وزن تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود دارد، به طوری که با افزایش تراکم کنه در دوره شفیرگی از وزن حشرات کامل (به ترتیب برای شاهد و دو تیمار: ۹۰/۷، ۸۸/۳، ۶۰/۶ میلی‌گرم) کاسته شد ($F_{۲،۱۰۱}$= ۱۳۵/۳ ; P<۰/۰۰۱). در خصوص شاخص مصرف مواد غذایی نیز تفاوت معنی‌داری دیده شد، به گونه‌ای که شاخص مصرف مواد غذایی زنبورهای فاقد کنه و زنبورهای حامل دو کنه در دوره شفیرگی (به ترتیب ۶/۹۰ و ۶/۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌گرم) نسبت به زنبورهای دارای یک کنه (۵/۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌گرم) به نحو معنی‌داری بیش‌تر بود (P<۰/۰۰۱ ; $F_{۲،۱۰۱}$= ۱۰/۷). این در حالی است که نرخ رشد (به ترتیب برای شاهد و دو تیمار: ۰/۰۰۹، ۰/۰۱۲، ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌گرم بر روز) دستخوش تغییر نشد و تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($F_{۲،۷۵}$= ۲/۷۴ ; P = ۰/۱).

در انتها با تشریح و اندازه‌گیری مساحت آسینی‌های غدد هیپوفارینژال در تیمارهای مختلف مشخص شد که با افزایش تراکم کنه، علی‌رغم سیر نزولی مساحت آسینی‌ها (به ترتیب برای شاهد و دو تیمار: ۴/۸۳۳، ۴/۷۶۰، ۴/۷۰۷ ×۱۰$^{-۳}$ میلی‌متر مربع)، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت ($F_{۲،۲۵۷}$= ۰/۵ ; P = ۰/۶).

بحث

کنه واروآ در کلنی‌های زنبورعسل در حجره‌های شفیرگی زاد و ولد کرده و با تغذیه از همولنف و بافت چربی لاروها، شفیره‌ها و حشرات کامل به ترتیب در دوران مسافری (Phoretic) و تولیدمثلی خود، باعث ایجاد اختلالات فیزیولوژیکی در حشره میزبان می‌شود (Donze et al, 1998)، از طرفی این کنه با انتقال عوامل بیماری‌زای مختلف به خصوص ویروس‌ها، اثرات مخرب قابل توجهی روی زنبورعسل ایجاد می‌کند (De Jong et al, 1982; Baily and Ball, 1991). یکی از مهم‌ترین اثرات مخرب کنه، کاهش وزن حشرات کاملی است که در دوران شفیرگی به کنه واروا آلوده بوده‌اند (De Jong et al, 1982)، این کاهش وزن رابطه مستقیمی با تعداد کنه‌های موجود در حجره و همچنین نرخ تولید مثل آن‌ها دارد (Kotwal and Abrol, 2009). نتایج این پژوهش نیز با این گزارش‌ها همسو بود به طوری که با افزایش تراکم کنه در حجره شفیرگی به طور محسوسی از وزن تر و خشک حشرات کامل کاسته شد. سایر مطالعات انجام شده نشان داد که وجود حتی یک کنه در حجره شفیرگی موجب کاهش ۷ درصدی وزن حشرات کامل ظهور یافته می‌شود (Schatton-Gadelmayer and Engels, 1998). همچنین با افزایش تعداد کنه در هر حجره، کاهش بیش از ۱۰ درصدی وزن زنبورعسل در مرحله شفیرگی و بالغ مشاهده شده است (Gueler and Kaftanoglu, 1999). مطالعات De Jong و همکاران (۱۹۸۲) نشان داد که به ازای هر دو ساعت تغذیه کنه از همولنف شفیره، به میزان ۱ تا ۲ درصد از وزن حشرات کامل ظاهر شده کاسته خواهد شد. همچنین نتایج آن‌ها نشان داد که وزن حشرات کامل زنبورعسل آلوده به کنه واروآ در مقایسه با وزن حشرات سالم ۶/۳ تا ۲۵ درصد کم‌تر بوده است که دلیل آن را می‌توان به کاهش میزان پروتئین موجود در همولنف لاروها نسبت داد. از طرفی، کنه‌های بالغ ماده موجود روی شفیره‌ها و حشرات کامل با تغذیه از همولنف میزبان، باعث کاهش طول عمر زنبورها و افزایش تعداد زنبوران ناقص‌الخلقه و ضعیف می‌شود که در نتیجه پرورش نوزادان در کندو کاهش یافته و کلنی مستعد ابتلا به بیماری‌های عفونی مختلف شده و در نتیجه کلنی ضعیف می‌گردد (De Jong et al, 1982). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزایش تراکم کنه در دوره شفیرگی، موجب مرگ و میر بیش‌تر حشرات کامل ظاهر شده و همچنین به وجود آمدن حشرات کامل کوچک‌تر ناقص‌الخلقه می‌گردد. همسو با این مطالعه، تحقیقات Ghasemi و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که بیش‌تر زنبورهای کاملی که در طی مراحل شفیرگی خود به کنه واروا آلوده بودند، ناهنجاری‌های ریخت‌شناختی مختلفی

مانند فتیله شدن بال‌ها، کوتاه شدن شکم و تیره شدن رنگ بدن را به همراه داشتند. همچنین مشخص شده که با افزایش تراکم کنه در زمان شفیرگی، محتوای آب بدن زنبور کامل ظهور یافته به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد به گونه‌ای که به ازای وجود هر کنه در حجره شفیرگی، به میزان ۳ درصد از آب بدن حشرات کامل ظهور یافته کاسته خواهد شد (Bowen-Walker and Gunn, 2001). این محققین نشان دادند که غلظت پروتیین موجود در سر و شکم و همچنین میزان کربوهیدرات موجود در شکم زنبورهای کامل آلوده به کنه در زمان شفیرگی به میزان قابل توجهی کم‌تر از زنبورهای سالم بود که این امر موجب افزایش مرگ و میر در حشرات کامل آلوده می‌شد. در اثر تغذیه کنه واروآ و تغییرات ظاهری ایجاد شده در حشرات کامل زنبورعسل شامل بال‌های ناقص، شکم کوتاه شده و کاهش وزن بدن دیده شده (De Jong et al, 1982) و در نهایت موجب مرگ کلنی طی ۳ الی ۵ سال پس از شروع آلودگی می‌شود (Korpela et al, 1992). Daly و همکاران (۱۹۸۸) معتقدند که این تغییرات ظاهری به دلیل کاهش فشار هیرواستاتیکی در طی رشد شفیره و کاهش میزان پروتیین‌های لازم جهت رشد طبیعی حشره ایجاد می‌شوند. با افزایش تراکم کنه در کلنی، احتمال ظهور ناهنجاری‌های ظاهری در کلنی افزایش می‌یابد (De Jong et al, 1982). مطالعات Marcangeli و همکاران (۱۹۹۲) نشان داد که حشرات کامل ظهور یافته از شفیره‌های آلوده به تعداد بسیار کم کنه واروآ نیز مانند حشرات کامل ظهور یافته از شفیره‌های شدیدا آلوده، دارای نواقص ظاهری فراوانی هستند. از طرفی آن‌ها در مواردی مشاهده کردند که برخی از حشرات کامل حاصله از شفیره‌های شدیدا آلوده هیچ گونه علایمی از بدشکلی از خود نشان نمی‌دهند. این گزارش‌ها نشان می‌دهد که تنها تعداد کنه موجود در طول دوره شفیرگی زنبورها نمی‌تواند دلیلی برای بدشکلی‌های ظاهری حشرات کامل باشد و باید دلایل احتمالی دیگر مانند مقاومت زنبورها به کنه (Rosenkranz et al, 2010) و همچنین نقش و فعالیت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زایی که توسط کنه‌ها به زنبور عسل منتقل می‌شوند را در نظر گرفت (Liu, 1996; Shabanov, 1984). از دیگر اثرات کنه واروآ بر فیزیولوژی زنبورعسل می‌توان آسیب به اجسام چربی و همچنین کاهش رشد غدد هیپوفارینژال در زنبورهای آلوده اشاره کرد (Schatton-Gadelmayer and Engels, 1998). در مطالعه حاضر نیز با افزایش تراکم کنه در حجره شفیرگی، علی‌رغم وجود روندی کاهشی، اختلاف معنی‌داری در مساحت آسینی‌های حشرات کامل دیده نشد که علت آن ممکن است به دلیل متفاوت بودن نژاد زنبور عسل مورد بررسی باشد.

ارتباط بین تغذیه و رشد در همه موجودات به خصوص زنبورهای عسل، به طرز چشم‌گیری به سلامت زنبورها وابسته است. نتایج مطالعه حاضر در خصوص میزان تغذیه حشرات کامل آلوده به تراکم‌های مختلف کنه واروآ در دوره شفیرگی نشان داد که با افزایش تراکم کنه میزان تغذیه از شربت و آب کاهش پیدا کرد، اما علی‌رغم این که از گرده غنی به عنوان یکی از عوامل مؤثر در مقاومت زنبور در برابر کنه یاد شده (Dolezal et al, 2016)، تفاوت معنی‌داری در مصرف گرده بین تیمارها مشاهده نشد. مطالعات قبلی نشان داده که شفیره‌های آلوده به کنه و حشرات کامل ظاهر شده، دارای سطح پایین‌تری از پروتیین و سطح بالاتری از اسید آمینه آزاد نسبت به شفیره‌ها و حشرات کامل غیرآلوده می‌باشند، چرا که فرآیند تولید پروتیین‌های مورد نیاز جهت هضم غذا و رشد در زنبورهای آلوده کُند و یا به کلی متوقف می‌شود (Aronstein et al, 2012). مطابق با نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد که حشرات کامل برای جبران کمبود پروتیین ناشی از تغذیه کنه در دوره شفیرگی، تغییری در میزان مصرف گرده از خود نشان ندادند. از طرفی ویروس‌هایی که از طریق کنه واروآ به زنبور منتقل می‌شوند نیز می‌توانند در کاهش تغذیه زنبور مؤثر باشند. Chen و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که برخی از این ویروس‌ها از راه روده به میزبان خود نفوذ کرده و موجب اختلال در فیزیولوژی روده، هضم و یا جذب مواد مغذی می‌شوند. با این حال، تا کنون مطالعات نسبتا کمی در خصوص

پیامدهای فیزیولوژیکی عفونت‌های ویروسی در زنبورهای عسل صورت گرفته است و هنوز مکانیسم عمل کنه-ویروس بر کاهش تغذیه زنبور عسل کاملا روشن نشده است (Janmaat and Winston, 2000). اما بررسی مطالعات انجام شده تا امروز حاکی از آن است که بیش‌تر عوامل بیماری‌زا و آفات مهم زنبور عسل می‌توانند تأثیرات منفی بر تغذیه زنبور داشته باشند (Chen et al, 2014). در کل با توجه به نتایج این پژوهش مبنی بر خسارت جبران-ناپذیر کنه واروآ و همچنین از بین رفتن تعداد زیادی از کلنی‌های زنبور عسل ایرانی در اثر آلودگی به کنه واروا در کشور و محدودیت در استفاده از کنه‌کش‌ها، پیشنهاد می‌شود از روش‌های مؤثر پیش‌گیری مانند استفاده از نژاد ایرانی اصلاح شده زنبورهای عسل، مقاوم در برابر کنه واروآ استفاده نمود. از طرفی پیشنهاد می‌شود در مبارزه با این کنه، تغذیه مصنوعی کلنی توسط مکمل‌ها مخصوصا مکمل‌های حاوی گرده طبیعی و ویتامین‌ها که تأثیر به سزایی در افزایش مقاومت زنبور عسل دارند را مد نظر قرار داد. زیرا این مکمل‌ها باعث افزایش تخم‌ریزی ملکه، جمعیت کلنی و همچنین افزایش زنبورهای چراگر می‌شود که در پی آن میزان شهد و گرده طبیعی موجود در کندو افزایش پیدا می‌کند. افزایش این فرآورده‌ها می‌تواند زنبور را از عوامل تنش‌زای محیطی مانند عوامل بیماری‌زا محافظت کند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت آقای مهندس رکنی و آقای عباسی‌مقدم جهت تأمین قسمتی از کندوهای مورد نیاز برای انجام آزمایش‌های این مقاله قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی

این پژوهش با استفاده از اعتبار تحقیقاتی شماره SCU.AP.1401.437 معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد.

منابع

Annoscia, D., Del Piccolo, F., & Nazzi, F. (2012). How does the mite *Varroa destructor* kill the honeybee *Apis mellifera*? Alteration of cuticular hydrocarbons and water loss in infested honeybees. *Journal of Insect Physiology, 58*, 1548-1555.

Aronstein, K. A., Saldivar, E., Vega, R., Westmiller, S., & Douglas, A. E. (2012). How *Varroa* Parasitism Affects the Immunological and Nutritional Status of the Honey Bee, *Apis mellifera*. *Insects, 3*, 601-615.

Bailey, L., & Ball, B. V. (1991). *Honey Bee Pathology*. London, United Kingdom: Academic Press.

Boecking, O., & Spivak, M. (1999). Behavioral defenses of honey bee againt *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apidologie, 30*, 141-158.

Bowen-Walker, P. L., & Gunn, A. (2001). The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. *Entomologia Experimentalis et Applicata, 101*, 207–217.

Bowen-Walker, P. L., Martin, S. J., & Gunn, A. (1999). The Transmission of Deformed Wing Virus between Honeybees (*Apis mellifera* L.) by the Ectoparasitic Mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Journal of Invertebrate Pathology*, *73*, 101-106.

Braulio, S. F., Dias, A., Raw, V., & Imperatri – Fonseca, L. (1999). *The Sãopaulo declaration on pollinators*. Report on the recommendations of the workshop on the conservation and sustainable use of pollinators in agriculture with emphasis on bee. Brazilian Ministry of the Environment.

Chen, Y. P., Pettis, J. S., Corona, M., Chen, W. P., Li, C. J., Spivak, M., Visscher, P. K., DeGrandi-Hoffman, G., Boncristiani, H., Zhao, Y., Delaplane, D., Solter, K., Drummond, L., Kramer, F., Lipkin, M., Palacios, W. I., Hamilton, G., Smith, M. C., Huang, B., Zheng, S. K., Li, H. Q., Zhang, J. L., Zhou, X., Wu, A. F., Zhou, L. Y., Lee, J. Z., Teixeira, M. L., Li, E. W., & Evans, Z. G. (2014). Israeli acute paralysis virus: epidemiology, pathogenesis and implications for honey bee health. *Plos Pathogens*, *10*(7), e1004261.

Coby, S. (2009). The new world carniolan program. *Journal of the Beekeepers Quarterly*, *2*, 1-6.

Dafni, A. (1992). *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford, United Kingdom: Oxford University Press.

Daly, H. V., De Jong, D., & Stone, N. D. (1988). Effect of parasitism by *Varroa jacobsoni* on morphometrics of Africanized worker honeybees. *Journal of Apiculture Research*, *27*(2), 126-130.

De Jong, D., De Jong, P. H., & Goncalves, L. S. (1982). Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa Jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research*, *21*(3), 165-167.

DeGrandi-Hofman, G., & Curry, R. (2004). A mathematical model of Varroa mite (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) and honeybee (*Apis mellifera* L.) population dynamics. *International Journal of Acarology*, *30*, 259-274.

Dolezal, A. G., Carrillo-Tripp, J., Miller, W. A., Bonning, B. C., Toth, A. L. (2016). Intensively cultivated landscape and *Varroa* mite infestation are associated with reduced honey bee nutritional state. *Plos One*. *11*(4), e0153531.

Donze, G., Fluri, P., & Imdorf, A. (1998). A look under the cap: The reproductive behavior of Varroa in the capped brood of the honey bee. *American Bee Journal*, *138*, 528-533.

Ebadi, R., & Ahmadi, A. (2004). *Honey bee culture*. Isfahan, Iran: Arkane Danesh Press.

Frey, E., & Rosenkranz, P. (2014). Autumn invasion rates of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) into honey bee (Hymenoptera:Apidae) colonies and the resulting increase in mite populations. *Journal of Economic Entomology*, *107*, 508-515.

Ghasemi, v., Tahmasbi, G. H., & Khoshnood-Yazdi, A. (2011). Effect of *Varroa destructor* on physical, physiological and biological parameters of european honey bee, *Apis mellifera*. *Iranian Honey Bee Science and Technology*, *2* (5), 16-23.

Gueler, A., & Kaftanoglu, O. (1999). Determination of performances of some important races and ecotypes of Turkish honeybees (*Apis mellifera* L.) under migratory beekeeping conditions. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *23*, 577-581.

Janmaat, A. F., & Winston. M. L. (2000). Removal of *Varroa jacobsoni* infested brood in honey bee colonies with differing pollen stores. *Apidologie*, *31*, 377-385.

Korpela, S., Aarhus, A., Fries, I., & Hansen, H. (1992). *Varroa jacobsoni* Oud. In cold climates: Population growth, winter mortality and influence on the survival of honey bee colonies. *Journal of Apiculture Research*, *31*(3), 157–164.

Kotwal, S., & Abrol, D. P. (2009). Impact of *Varroa destructor* infestation on the body weight of developing honey bee brood and emerging adults. *Pakistan Entomologist*, *31*(1), 67-71.

Kralj, J., & Fosch, S. (2006). Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie*, *37*, 577-587.

Liu, T. P. (1996). Varroa mites as carriers of honeybee chalk brood. *American Bee Journal*, *136*(9), 655.

Marcangeli, J., Monetti, L., & Fernandez, N. (1992). Malformations produced by *Varroa jacobsoni* on *Apis mellifera* in the province of Buenos Aires, Argentina. *Apidologie*, *23*, 399-402.

Mondet, F., de Miranda, J. R., Kretzschmar, A., Le Conte, Y., & Mercer, A. R. (2014). On the front line: Quantitative virus dynamics in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies along a new expansion front of the parasite *Varroa destructor*. *Plos Pathogens*. *10*, e1004323.

Mossadegh, M. S., & Komeili-Birjandi, E. (1991) *Mites of honey bees* (3rd ed.), Ahvaz, Iran: Shahid Chamran University publisher.

Nabhan, G. P. (1996). *Pollinator redbook: Global list of treated vertebrate wildlife species serving as pollinators for crops and wild plants*. Arizona-Sonora desert museum and forgotten pollinators campaign monographs. Tucson, Arizona, *3* (1) 235-242.

Otterstatter, M. C., Gegear, R. J., Colla, S. R., & Thomson, J. D. (2005). Effect of parasitic mite and protozoa on flower constancy and foraging rate of bumble bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. *58*, 383-389.

Perez-Sato, J. A., Chaline, N., Martin, S. J., Hughes, W. H. O., & Ratnieks, F. L.W. (2009). Multi-level selection for hygienic behaviour in honey bees Heredity. *Journal of Heredity*, *102*, 609–615.

Pimentel, D., Wilson, C., McCullum, C., Huang, R., Dwen, P., Flack, J., Tran, Q., Saltman, T., & Cliff, B. (1997). Economics and environmental benefits of biodiversity. *Bioscience*, *47* (11), 747-757.

Pritchard, D. J. (2016). Grooming by honey bees as a component of varroa resistant behavior. *Journal of Apicultural Research*, *55*(1), 38–48.

Rasekh, A., & Osawa, N. (2020). Direct and indirect effect of cannibalism and intraguild predation in the two sibling Harmonia ladybird beetles. *Ecology and Evolution*.*10*(12), 5899-5912.

Rosenkranz, P., Aumeier, P., & Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, *103*, 96-119.

Schatton-Gadelmayer, K., & Engels, W. (1988). Blood proteins and body weights of newly-emerged worker honeybees with different levels of parasitization of brood mites. *Entomologia Generalis*, *14*, 93-101.

Shabanov, M. (1984). Role of *Varroa jacobsoni* Oud. in the bee family as a carrier of microorganisms. *Acta microbiologica Bulgarica*, *15*, 78-82.

Sigel, A. J., Freedman, C., & Page Jr, R. (2012). Ovarian Control of Nectar Collection in the Honey Bee (*Apis mellifera*). *Plos One*, *7*(4), e33465.

SPSS. (1998). *SPSS 8.0 for Windows*. New Jersey, USA: Prentice Hall, Upper Saddle River.

Tahmasbi, Z., Tahmasbi, G. H., Osfoori, R., Ebrahimi, Ma., & Babaei, M. (2013). Foraging and pollen gathering behavior of worker bees in high and low honey production colonies of Iranian honeybee (*Apis mellifera meda*). *Journal of Animal Science Research*, *23*(2), 61-72. (In Persian).

Tu, S., Qiu, X., Cao, L., Han, R., Zhang, Y., & Liu, X. (2010). Expression and characterization of the chitinases from Serratia marcescens GEI strain for the control of *Varroa destructor*, a honey bee parasite. *Journal of Invertebrate Pathology*, *104*(2), 75-82.

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. *Journal of Proceeding National Academy Sciences United States of American*, *102*(11), 7470-7475.

Received: 08.07.2023
Accepted: 26.11.2023

Vol. 20, No. 2, Summer, 2024 **Original Article**
DOI: 10.22055/ivj.2023.406057.2594

The Effect of *Varroa destructor* (Acari.: Varroidae) on morphological and nutritional characteristics of the worker honeybee, *Apis mellifera meda* (Hymenoptera.: Apidae)

Mehdi Toosi[1], Arash Rasekh[2*], Masumeh Ziaee[3], Parviz Shishehbor[2] and Gholamhosein Tahmasbi[4]

[1] Ph.D Student of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[2] Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[3] Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[4] Professor, Department of Animal Science Research Institute of Iran, Head of Iranian Apicultural Society, Karaj, Iran

Received: 08.07.2023 Accepted: 26.11.2023

Abstract

Honey bees play an important role in the survival and pollination of many plants. One of the most important of pests that attack honey bees is *Varroa destructor* mite. This mite is an ectoparasite of honeybees and feeds mainly on larvae and pupae. In this research, *Apis mellifera meda* workers were infected at the pupal stage to different mite densities and then the biological and morphological characteristics of the emerged adult bees were investigated. For this purpose, female mites were collected from infected hives and placed in each prepupal cell according to the desired mite density (0, 1, 2 or 3 mites). After adult bees emerged, nutritional traits were checked every 3 days for 12 days. Then these adult bees were dissected to measure the area of the hypopharyngeal acinus. The biological and morphological results showed that the increase mite density had no effect on the duration of the pupation period of bees, but it significantly decreased the weight, body length, area of the forewings, hind wings and hind tibia of bees. Adult bees that had three mites during their pupation had the highest mortality rate and for this reason, it was not possible to examine their nutritional characteristics. The nutritional characteristics results showed that increasing the mite density caused a decrease in the consumption of syrup and water by the adult bees, but the consumption of pollen did not change. The food consumption index of bees without mite and bees with two mites during the pupation period was higher than bees with one mite, but the growth rate and the area of the acini of the treatments did not show any difference. The results of this study are expected to provide a basis for biological control of this mite by providing further information on how it affects honeybees.

Key words: *Varroa* mite density, Consumption index, Growth rate, Morphological characteristics

[*] **Corresponding Author**: Arash Rasekh, Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
E-mail: a.rasekh@scu.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).