DOI: 10.22092/VJ.2023.362113.2065
شماره ۱۴۲ بهار ۱۴۰۳
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

مقاله کوتاه

تعیین ژنوتیپ مایت واروآ دستراکتور (*Acari:Varroidae*) با استفاده از تکنیک PCR-RFLP در زنبورستان‌های شهرستان ارومیه

• **گزینگ جلفایی**
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
• **فرناز ملکی‌فرد(نویسنده مسئول)**
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
• **موسی توسلی**
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲-۰۲-۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲-۰۳-۱۸
تاریخ بازنگری : ۱۴۰۲-۰۳-۱۸ تاریخ انتشار: ۱۴۰۳-۰۱-۱۹
Emali: f.malekifard@urmia.ac.ir

چکیده

واروازیس بیماری آلوده کننده زنبورهای عسل (*Apis mellifera L.*) است که توسط مایت واروا دستراکتور **ایجاد می‌شود. مایت واروا دارای دو ژنوتیپ K و J می‌باشد. تفاوت در ژنوتیپ مایت واروا در میزان بیماری‌زایی آن موثر می‌باشد. هدف از این مطالعه شناسایی ژنوتیپ‌های مایت** واروآ دستراکتور **آلوده کننده زنبورعسل با استفاده از تکنیک PCR-RFLP و بر اساس ژن cox۱ در زنبورستان‌های شهرستان ارومیه بود. بدین منظورتعداد۲۰۰ مایت از زنبورستان‌های مناطق مختلف شهرستان ارومیه جمع‌آوری گردید. جهت تعیین ژنوتیپ مایت‌ها، دو جفت پرایمر اختصاصی انتخاب شد. قطعه مورد انتظار ۵۷۰ جفت باز با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر گردید. آنزیم‌های محدود کننده XhoI و SacI برای شناسایی ژنوتیپ** واروآ دستراکتور **مورد استفاده قرار گرفت. آنزیم SacI برشی در DNA ایجاد نکرد، در حالی که آنزیم محدود کننده XhoI، موجب دو برش در قطعه DNA به اندازه ۲۷۰ و ۳۰۰ جفت بازشد. این دو باند، اختصاصی برای ژنوتیپ کره‌ای مایت واروآ دستراکتور بود. بنابراین بر اساس نتایج بدست آمده تمام ۲۰۰ نمونه مایت واروآ دستراکتور جمع آوری شده از زنبورستان‌های شهرستان ارومیه متعلق به ژنوتیپ کره‌ای بودند. با توجه به نتایج این مطالعه و ارتباط نوع ژنوتیپ مایت با میزان بیماری‌زایی آن می‌توان روش‌های درمان و کنترل جدیدی در زنبورستان‌های این منطقه مورد استفاده قرار داد.**

کلمات کلیدی: ارومیه، زنبور عسل، ژنوتیپ، واروآ دستراکتور

● Veterinary Research & Biological Products No 142 pp: 89-94

Genotyping of Varroa destructor (Acari: Varroidae) in honey bee colonies of Urmia by *PCR-RFLP*

By: Jolfaie, G., Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. Malekifard, F. (Corresponding Author), Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine,, Urmia University, Urmia,, Iran. Tavassoli, M. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Received: 2023-04-29 **Accepted: 2023-06-08**

Revised: 2023-06-08 **Published: 2024-04-07**

Emali: f.malekifard@urmia.ac.ir

Varroosis is a disease of Apis mellifera L. caused by the mite *Varroa destructor*. *V. destructor* is a complex species and has two distinct Korean (K) and Japanese (J) genotypes. Different Varroa genotypes appear to be important regarding the virulence of mite. The aim of the present study was to identify the haplotypes of the Varroa destructor mite which infects honeybees (Apis mellifera) in honey bee colonies in Urmia, using PCR-RFLP techniques for the mitochondrial Cox1 gene of the mite. For this purpose, 200 mites were collected from apiaries in different regions of Urmia city. In order to confirm the haplotype, two specific primer pairs were selected. A segment of DNA genome comprising 570 bp of nuclotides have been selected and amplified using the primer pair. XhoI and SacI restriction enzymes were used for the amplified products. Although, the SacI restriction enzyme did not cut the DNA, the XhoI restriction enzyme cut the amplified DNA into two fragments (bands), with the sizes of 270 and 300 bp two bands. While comparing the results, these bands were found specific for Korean haplotype of *V. destructor*. In conclusion, all the 200 samples of *V. destructor* examined in this study were identified to be the Korean genotype. According to the results of this study, and the relationship between type of genotype and its pathogenicity, new treatment and control methods can be used in the apiaries of this region.

Keywords: *Genotype, Varroa destructor, honey bee colonies, Urmia*

مقدمه

از گذشته تاکنون ارتباط تنگاتنگی بین حضور زنبور عسل در طبیعت و گرده‌افشانی وجود داشته است. زنبور عسل یکی از مهم‌ترین گرده افشان‌های گیاهان زراعی می‌باشد که به طور غیر مستقیم تولید یک سوم غذای جهان را برعهده دارد(۲۳). واروازیس یکي از بیماري‌هاي زنبورعسل است که در هر شرایطي به تنهايي يا با حضور عوامل بیماري‌زا به سرعت منتشر مي‌شود. از سال ۱۹۶۴، انگل واروآ در اغلب مناطق دنیا شروع به گسترش نموده و باعث تلفات در تعداد زیادي از کلني‌ها شده است. مایت واروآ روي بدن زنبور بالغ به سر مي‌برد و گاها از خون میزبان شامل زنبورهای ملکه، کارگر و ترجیحاً زنبور نر تغذیه نموده تا مجدداً وارد حجره شده و تخم‌گذاري نمایند (۱۶). بیماري‌زايي مایت واروآ در زنبور بالغ و نوزادان بروز می‌نماید (۱۲). مایت واروآ دستراکتور مخرب‌ترین عامل مرگ ومیر زنبورعسل در جهان بوده است که علاوه بر خسارت خود یعنی ضعف عمومی بدن زنبور ها، ایجاد زنبورهای ناقص‌الخلقه و تغذیه همولنف از شفیره‌ها، موجب انتقال ویروس دفرمه کردن بال و فلجی حاد اسراییلی می‌شود که به عوامل کاهش منابع غذایی در دسترس کلنی مربوط است(۸).

بر اساس DNA میتوکندریایی دو هاپلوتیپ مشخص در واروآ دستراکتور شناسایی شده است: ژنوتیپ‌های ژاپنی(J) و کره‌ای (K). ژنوتیپ J در مناطقی مانند ژاپن، تایلند و اندونزی و قسمت‌هایی از امریکا دیده می‌شود، در حالی که ژنوتیپ کره‌ای (K) در سراسر نقاط دنیا دیده می‌شود(۹).

واروآ دستراکتور در زنبورستان‌های ایران اولین بار در سال ۱۹۸۰ گزارش گردید (۱۰). با اینکه پراکندگی این مایت در سطح زنبورستان‌های ایران زیاد می‌باشد ولی مطالعات کمی در مورد شیوع و پاتوژنز آن در ایران صورت گرفته است (۳،۱۷). اخیرا مطالعاتی در مورد مشخصات ژنتیکی این مایت و برای شناسایی ژنوتیپ‌های آن صورت گرفته است(۹،۱۰). در بررسی حاضرتعیین ژنوتیپ واروآ دستراکتورهای آلوده کننده زنبورستان‌های شهرستان ارومیه برای اولین بار انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه

این مطالعه در زنبورستان‌های اطراف شهرستان ارومیه صورت گرفت. شهرستان ارومیه واقع در ناحیه نیمه خشك بوده و دارای متوسط بارش ۳۵۰ میلی‌متر بوده و میانگین دمای آن در مرداد ماه ۲۸/۳ درجه سانتی‌گراد و در دی ماه ۵- درجه سانتی‌گراد می‌باشد. این منطقه دارای مرز مشترک با دو کشور ترکیه و عراق می‌باشد(شکل ۱).

روش نمونه‌برداری

نمونه‌برداری از زنبورستان‌های شهرستان ارومیه در بهار سال ۱۳۹۹ انجام گرفت. به این منظور شهرستان ارومیه به پنج بخش نازلو، صومای برادوست، انزل، مرکزی و سیلوانه تقسیم گردید (شکل۱). این

نمونه‌گیری‌ها از کندوهایی انجام گرفت که در زمان نمونه‌گیری و قبل از آن درمان دارویی دریافت نکرده بودند. نمونه‌برداری با استفاده از لباس کار، کلاه توری، دستکش و چراغ دودی بود که به آرامی درب کندو را برداشته و سپس برای آرام نمودن زنبورها مقداری دود به داخل کندو دمیده شد. در هر زنبورستان از ۲-۴ کندو نمونه‌ها جمع‌آوری شد. براي انجام مطالعه حاضر، ۲۰۰ مایت ماده (۱۰)، از زنبورستان‌های مناطق پنج گانه شهرستان ارومیه جمع آوری شد، بطوری که از زنبورستان‌های هر منطقه شهرستان ارومیه، ۴۰ مایت ماده، جهت بررسی مولکولی مورد استفاده قرار گرفت. دلیل استفاده از مایت ماده این بود که در مایت نر قطعات دهانی برای انتقال اسپرم تغییر یافته و مایت نر خونخواری نمی‌کند. نمونه‌های جمع‌آوری شده در الکل ۷۰ درصد نگهداری شد. نمونه‌ها در فریزر نگهداری تا مراحل دیگر بر روی آن‌ها انجام گیرد.

جمع‌آوري اطلاعات از زنبورداري

قبل از نمونه‌برداري از زنبورداري‌ها، پرسشنامه‌اي شامل جمعيت زنبورداري و تعداد كندو، سيستم پرورشي زنبورستان، وضعيت ملكه، تغذيه زنبورداري از نظر نوع، غلظت و دفعات مصرف غذا، سابقه بيماري، آفات انگلي مشاهده شده، درمان، خسارات اقتصادي و سابقه ی وجود پديده فروپاشی كلنی تهيه شد (۱۳).

روش جداسازي و شناسايي آلودگي با مايت

براي جداسازي مايت واروآ يكي از قاب‌هاي كندو را كه ملكه روي آن نبود برداشته و با قرار دادن ظرف درپوش‌دار روي شان و چرخاندن آن اقدام به تهيه نمونه زنبور بالغ گرديد. براي جمع‌آوري و بازرسي نوزاد موجود در داخل سلول‌های هر كندو يک شان لاروی (۵×۵ سانتی‌متر مربع) با چاقو جدا گرديده و به آزمايشگاه انگل‌شناسی ارسال شد. در

شکل۱- محل نمونه‌برداری از زنبورستان‌های شهرستان ارومیه.

آزمايشگاه درب حجرات را با پنس برداشته و شفيره‌ها به آرامی توسط پنس بيرون آورده شدند تا از نظر وجود مايت در زير نور مصنوعی بازرسی گردند. مايت‌های واروآ را جمع‌آوری كرده و در لوله‌های آزمايش حاوی الكل ۷۰ درصد نگهداری شدند. زنبورها را در آزمايشگاه آغشته به كلروفورم نموده تا بيهوش شدند. سپس زنبورها را در آب حاوي چند قطره مايع ظرفشويي ريخته و به خوبي تكان داده شدند. سپس به مدت يك ساعت ظرف را به حال سكون گذاشته و نمونه‌ها در پتري ديش ريخته شدند. كف‌هاي ايجاد شده مايع ظرفشويي را با حرارت دادن از بين برده و مايت‌ها توسط لوپ جدا شدند و با استفاده از كليد تشخيص مصدق و كميلی (۱۹۹۱) شناسايی گرديدند(۱۶). واروآ يک نوع مايت مزواستيگمات است و دارای منفذ تنفسی ويرگولی شكل است كه در خط ميانی بدن بين كوكسا دوم و سوم در طرفين بدن قرار دارد(۱۶).

شناسايي مولكولي

جداسازی DNA

جهت استخراج DNA، مايت‌ها از الكل خارج و شسته و خشک شدند(۹)، سپس توسط كيت سيناكلون (SinapureDNA Kit) با شماره كاتالوگ EX۶۰۴۱، استخراج DNA ، انجام گرديد. DNA استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد جهت انجام PCR نگهداری شد.

روش انجام PCR

ژن مورد بررسی قطعه COI از ژن mtDNA واروا دسترکتور (۱) بود. برای انجام PCR از پرايمرهای اختصاصی با توالی‌های COXF(۵'-CCCAGTGCGTCCAATCCTGTAAC-۳') و COXRa (۵'-CTCG-CCAGTCCAACCTACGTCTTCT-۳') استفاده شد. برای ژن COI از ژن mtDNA باندی با اندازه ۵۷۰ bp بعد از الكتروفورز ظاهر شد(۲۱). براي انجام PCR، كيت شركت سيناكلون (Reddy to use PCR master mix ۲X)، با شماره كاتالوگ MM۲۰۶۲، مورد استفاده قرار گرفت و طبق دستوركارخانه‌ی سازنده به اين صورت كه برای هر نمونه ۱۲/۵ ميكروليتر از مخلوط اصلی PCR (شامل: Mgcl۲، Taq DNA polymerase ، PCR buffer، dNTPs)، ۲ ميكروليتر از پرايمرهای اختصاصی(۱۰ پيكومول از هر پرايمر)، ۲ ميكروليتر از DNA استخراج شده (تقريبا ۱۰ نانوگرم) و ۶/۵ ميكروليتر از آب مقطر خود كيت در لوله‌های مخصوص PCR با يكديگر مخلوط شد.

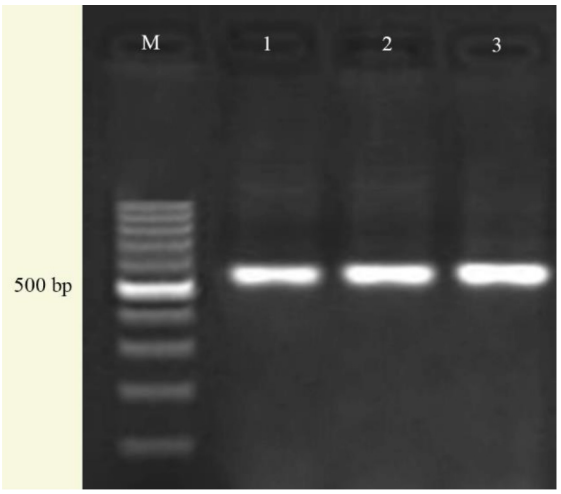
براي هر مرحله يك كنترل منفي و يك كنترل مثبت هم تهيه گرديد. آب مقطر به عنوان كنترل منفی استفاده شد و كنترل مثبت از بخش انگل‌شناسی دانشكده دامپزشكی دانشگاه ارومیه تهيه گرديد. سپس ميكروتيوب‌هاي مخصوص PCR حدوداً ۳۰ ثانيه سانتريفيوژ شده تا اگر محلول در ديواره لوله باشد در ته لوله جمع شود و به دستگاه PCR منتقل شد.

جهت تكثير قطعه ژنی واروآ دستراكتور مورد نظر در نمونه‌های طبق الگوی دمايی زير انجام شد. به اين صورت كه ابتدا واسرشت اوليه به مدت ۳ دقيقه در دماي ۹۴ درجه سانتي‌گراد انجام شد و سپس طی۴۰ سيكل كه هر سيكل شامل ۱ دقيقه واسرشت در دمای ۹۴ درجه

سانتي‌گراد، یک دقیقه اتصال پرایمرها در دمای۵۰ درجه سانتي‌گراد و ۱ دقیقه توسعه در۷۲ درجه سانتي‌گراد انجام شد. توسعه نهایی در مدت ۷ دقیقه و در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام گردید تا عمل پلیمریزاسیون تکمیل شود(۱۰).

الکتروفورز محصول PCR

از ژل آگارز ۱/۵ درصد درالکتروفورزیس محصول نهایی PCR استفاده شد. به این منظور ۰/۶ گرم از آگارز با ۴۰ میلي‌لیتر بافر TBE (غلظت اولیه ۱۰ برابر غلظت است) نیم برابر غلظت مخلوط و حرارت داده شد تا جایي که مخلوط (آگارز – TBE) شفاف شود. بعد از سرد شدن ژل به ازاي هر ۱۰۰ میلي‌لیتر ژل آگارز از ۱ میکرولیتر Safe stain (mg/ ml۱۰) استفاده شد. ۱۰-۸ میکرولیتر از محصولات PCR به نسبت ۵ به ۱ با بافر بارگذار مخلوط شده و به چاهك‌هاي ژل منتقل شد. به این ترتیب که در چاهك اول مارکر به میزان ۵ میکرولیتر، چاهك دوم کنترل مثبت و در دو چاهك بعدی محصول PCR بارگذاري شده ریخته شد و الکتروفورزیس در۴۰ دقیقه با ولتاژ ۸۵ ولت، انجام شد. بعد از زمان مذکور، ژل با دستکش به داخل UV-Transilluminator منتقل شده و با تابش اشعه ماوراء بنفش قطعات DNA مشخص مي‌گردید که مقایسه باندهاي موجود در مارکر، اندازه قطعه مورد انتظار ۵۷۰ جفت باز برای واروا دستراکتور رؤیت شد.



شکل ۲- تشخیص واروآ دستراکتور به روش PCR با استفاده از دو پرایمر(COXF, COXR) و تکثیر ژن Cox ۱. چاهك M: مارکر ۱۰۰ جفت باز، چاهك ۱: کنترل مثبت، چاهك۲و۳: مایت واروآ دستراکتور.

استفاده از آنزیم محدودکننده

تمام نمونه‌های مثبت در PCR، تحت بررسی در آنالیز RFLP قرار گرفت. ژنوتیپ‌های واروآ دستراکتور توسط روش آنالیز RFLP قبلا توسط آندرسون و فوکس در سال ۱۹۹۸ توضیح داده شده است (جدول ۱) (۱). برای هضم آنزیمی از دو آنزیم XhoI و SacI (Vivantis) مطابق دستورالعمل استفاده شد. بدین ترتیب که ۸ میکرولیتر از محصول PCR به ۱/U۵ آنزیم و ۲ میکرولیتر X ۱۰ بافر آنزیم اضافه و با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر در ۳۷ درجه و برای ۳ ساعت هضم انجام شد و پروفایل‌ها در آگارز ۲٪ مشاهده شد (۱).

نتایج و بحث

واروازیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های زنبورعسل می‌باشد که می‌تواند خسارت‌های اقتصادی بسیار زیادی به کندوهای عسل وارد نماید. این انگل انتشار جهانی داشته و علی رغم تلاش‌های فراوان جهت مبارزه بر علیه آن کماکان یکی از مهم‌ترین‌های زنبورداری در جهان و ایران می‌باشد. میزان آلودگی زنبورستان‌ها در فصل بهار و تابستان زیاد است به علت انطباق سیر تکاملی مایت، حضور و سیر تکاملی نوزادان زنبور عسل در چند روز قابل توجیه است(۷). واروآ دستراکتور گونه مهاجم در زنبورعسل بوده که به سرعت در تمام جهان گسترش یافته است. فاکتورهای مختلفی بر بیماری‌زایی واروآ دستراکتور و میزان تکثیر آن تاثیرگذار است، از جمله می‌توان به مقاومت نژادهای مختلف زنبور عسل (۱۴) ، آب و هوای منطقه(۱۵) و نوع ژنوتیپ واروآ دستراکتور (۴) اشاره نمود. نتایج روش مولکولی این مطالعه حاکی از آن بود که تمامی نمونه‌هاي مایت‌های جمع‌آوری شده واروآ دستراکتور بوده و قطعه مورد انتظار۵۷۰ جفت باز از ژن Cox ۱ تکثیر گردید (شکل ۲).

واروآ دستراکتور دارای دو ژنوتیپ اصلی J و ژنوتیپ K می‌باشد که ژنوتیپ ژنوتیپ K در کشورهای اسیایی و اروپایی وخاورمیانه گزارش شده است، در حالی که ژنوتیپ J در ژاپن و تایلند و آمریکا گزارش شده است(۱). ژنوتیپ واروآ دستراکتور در میزان آسیب آن به کلنی زنبورهای عسل و در درمان آلودگی با واروآ دستراکتور نقش دارد. ژنوتیپ J در مقایسه با ژنوتیپ K حدت و بیماری‌زایی کمتری دارد(۵). مطالعات زیادی در سراسر دنیا جهت تعیین ژنوتیپ واروآ دستراکتور آلوده کننده زنبورعسل صورت گرفته است، در این مطالعات ژنوتیپ K بعنوان ژنوتیپ واروآ دستراکتور آلوده کننده زنبورستان‌های مناطق

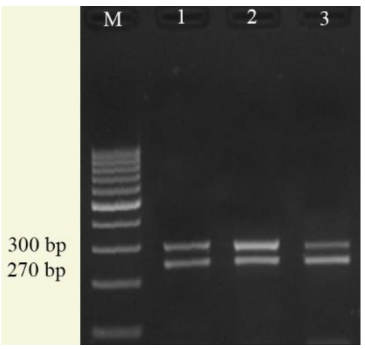
جدول ۱- پروفایل (جفت باز)تشخیصی ژنوتیپ‌های واروآ دستراکتور با استفاده از دو آنزیم XhoI و SacI (۲۱).

آنزیم های محدود کننده	پروفایل (bp) تشخیصی ژنوتیپ‌های واروآ دستراکتور	ژنوتیپ‌های واروآ دستراکتور
XhoI	۲۷۰، ۳۰۰	K
SacI	۲۳۰، ۳۴۰	J

مختلف دنیا شناسایی شده است (۲،۱۸،۲۰،۲۲،۲۱،۱۹). RFLP یک روش آنالیزی سریع، ساده، حساس و هم چنین روش موفقیت‌آمیز مورد استفاده توسط شماری از محققان برای تعیین ژنوتیپ واروآ دستراکتور می‌باشد. مشخص کردن ژنوتیپ‌های واروآ دستراکتور با تکیه بر آزمایشات روی ژن‌های *cox* ،*mt DNA* ،۱ *cox3*، *atp6* و *cytb* صورت گرفته است (۱۱). آنالیز PCR-RFLP بر روی ژن cox۱ در مطالعات مختلف برای تعیین ژنوتیپ واروآ دستراکتور بصورت موفقیت‌آمیزی مورد استفاده قرار گرفته شده است (۱۱،۱۸،۱۹).

آنالیز PCR-RFLP روی نمونه‌های این مطالعه با استفاده از دو آنزیم XhoI و SacI نشان داد که تمام نمونه‌ها با آنزیم XhoI (اختصاصی برای ژنوتیپ K)، به دو قطعه ۳۰۰ و ۲۷۰ جفت باز هضم شدند، در حالی که نمونه‌های تحت آنزیم SacI (اختصاصی برای ژنوتیپ J) بدون تغییر باقی ماندند. بنابراین ژنوتیپ، تنها ژنوتیپ واروآ دستراکتور در زنبورستان‌های شهرستان ارومیه بود(شکل ۳).

این نتایج با نتایج سایر مطالعات در مناطق جغرافیای مختلف در ایران هم‌خوانی دارد. مطالعات اخیر در مورد مشخصات ژنتیکی این مایت و برای شناسایی ژنوتیپ‌های آن بر اساس مارکرهای RAPD توسط حاج علیزاده و همکاران در سال ۲۰۱۸ صورت گرفته است(۹). در مطالعه‌ای دیگر که توسط حاج علیزاده و همکاران در سال ۲۰۱۹ در زنبورستان‌های هفت استان در جنوب ایران با روش PCR-RFLP صورت گرفته است، مشخص شده است که هاپلوتیپ K در تمامی مایت‌های مورد مطالعه شناسایی شده است (۱۰). در مطالعه‌ای دیگر توسط فرجامی‌فر و همکاران در سال ۲۰۱۸، در زنبورستان‌های مناطق مختلف ایران، نشان داده شد که تمام نمونه‌های مایت در این مناطق مربوط به ژنوتیپ K می‌باشد. آن‌ها همچنین حساسیت به پایروتیروئید را در این ژنوتیپ واروآ دستراکتور در مناطق مختلف ایران نشان دادند(۶). مطالعات زیادی در زنبورستان‌های کشور همسایه، ترکیه صورت گرفته شده است. در مطالعه‌ای واریت و همکاران در سال ۲۰۰۴ ژنوتیپ‌های این مایت را در مناطق دریای سیاه مورد بررسی قرار دادند (۲۲). در مطالعه‌ای دیگر آیان و همکاران در سال ۲۰۱۷ زنبورستان‌های شهرستان وان را مورد بررسی قرار دادند(۲). نتایج این مطالعات نشان داد که ژنوتیپ K ، تنها ژنوتیپ واروآ دستراکتور آلوده کننده‌ی زنبورستان‌های مناطق مورد مطالعه بود. در مطالعات دیگر در سایر نقاط دنیا عدم وجود تنوع ژنتیکی واروآ دستراکتور الوده کننده زنبورعسل معمولی را اثبات نموده‌اند (۱۸،۱۹، ۱۱).



شکل ۳- محصولاتPCR-RFLP واروآ دستراکتور با استفاده از آنزیم XhoI. چاهک M: مارکر ۱۰۰ جفت باز، چاهک۱،۲و۳: مایت واروآ دستراکتور(ژنوتیپ K).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه بیانگر این بود که ژنوتیپ K تنها ژنوتیپ واروآ دستراکتور آلوده‌کننده زنبورستان‌های شهرستان ارومیه می‌باشد. با توجه به حضور فعال آلودگي مايت واروآ دكستراكتوردر اغلب كندوهاي زنبورستان‌هاي شهرستان ارومیه وخسارات اقتصادي آن، بنابراين بايد اقدامات كنترلي و ارتقاء مديريت بهداشتي در سطح منطقه‌ی تحت مطالعه در اولویت قرار گیرند. همچنین با توجه به نتایج این مطالعه و ارتباط نوع ژنوتیپ مایت با میزان بیماری‌زایی آن می‌تواند روش‌های درمان و کنترل جدیدی در زنبورستان‌های این منطقه مورد استفاده قرار بگیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه که با تصویب و حمایت مالی امکان انجام مطالعه را فراهم آوردند تشکر به عمل می‌آید.

پاورقی

1-Loading buffer.

منابع مورد استفاده

1. Anderson, D. L. and S. Fuchs. 1998. Two genetically distinct populations of Varroa jacobsoni with contrasting reproductive abilities on Apis mellifera. Journal of Apicultural Research 37: 69–78.

2. Ayan, A., K. Ural, O. S., Aldemir and H. Tutun. 2017. Van Bölgesindeki bal arılarında (Apis mellifera) görünen Varroa destructor'un genetik karakterizasyonunun belirlenmesi. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi 5(2): 78-84.

3. Dadgostar, S., and J. Nozari. 2018. Classical and geometric morphometric methods reveal differences between specimens of Varroa destructor (Mesostigmata: Varroidae) from seven provinces of Iran. Persian journal of acarology 7(1): 51–60.

4. de Guzman, L., T. E., Rinderer, J. A., Stelzer, and D. Anderson. 1998. Congruence of RAPD and mitochondrial DNA markers in assessing Varroa jacobsoni genotypes. Journal of Apicultural Research 37(1): 49-51.

5. Delfinado-Baker, M. 1988. Variability and biotypes of Varroa jacobsoni Oudemans 128: 567-568.

6. Farjamfar, M., A., Saboori, J., González-Cabrera and C.S.H. Ro-

dríguez. 2018. Genetic variability and pyrethroid susceptibility of the parasitic honey bee mite Varroa destructor (Acari: Varroidae) in Iran. Experimental and Applied Acarology 76(1): 139–148.

7. Fries, I., F. Feng, A. da Silva, S. B. Slemenda and N. J. Pieniazek. 1996. Nosema ceranae n. sp.(Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee Apis cerana (Hymenoptera, Apidae). European Journal of Protistology 32(3): 356-365.

8. Guzmán-Novoa, E., L., Eccles, Y. Calvete, J., Mcgowan, P. G. Kelly and A. Correa-Benítez. 2010. Varroa destructor is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (Apis mellifera) colonies in Ontario, Canada. Apidologie 41(4): 443-450.

9. Hajializadeh, Z., M. Asadi and H. Kavousi. 2018. First report of Varroa genotype in western Asia based on genotype identification of Iranian Varroa destructor populations (Mesostigmata: Varroidae) using RAPD marker. Systematic and Applied Acarology 23(2): 199–205.

10. Hajializadeh, Z., M. Asadi, K. Ahmadi and A. Balvasi. 2019. Varroa destructor (Acari: Varroidea) populations from Southern Iran belong to haplotype K of the mitochondrial COI. Persian Journal of Acarology: 8(2).

11. Kelomey, A. E., A. Paraiso, H. Sina, H. Legout, L. Garnery, and L. Baba-Moussa. 2017. Genetic characterization of the honeybee ectoparasitic mite Varroa destructor from Benin (West Africa) using mitochondrial and microsatellite markers. Experimental and Applied Acarology 72(1): 61-67.

12. Macedo, P. A., J. Wu and M. D. Ellis. 2002. Using inert dusts to detect and assess varroa infestations in honey bee colonies. Journal of apicultural research 41(1-2): 3-7.

13. Mahmoodi, M., Sh. Basami, S., Nbian and A. Bahonar. 2010. Study On Some Possible Factors In Occurrence Of Colony Collapse Disorder In Ilam. Honeybee Science Journal 5:5-11(In Persian).

14. Medina, L. M., and S. J. Martin 1999. A comparative study of Varroa jacobsoni reproduction in worker cells of honey bees (Apis mellifera) in England and Africanized bees in Yucatan, Mexico. Experimental & applied acarology 23(8): 659-667.

15. Moretto, G., L. S. Gonçalves, D. De Jong, and M. Z. Bichuette. 1991. The effects of climate and bee race on Varroa jacobsoni Oud infestations in Brazil. Apidologie 22(3): 197-203.

16. Mosadegh, M.S. and E. Komeili-Birjandi. 1991. Tick infestation of honey bees. pp. 20-67; 80-86; 101-103. 3rd (ed.), Shahid Chamran University publisher, Ahvaz, Iran.

17. Moshaverinia, A., V. Abedi and H. Safaei. 2013. Mite infestation of honey bee (Apis mellifera) in apiaries of North East of Iran. Scientia Parasitologica 14(1): 31-35.

18. Muñoz, I., E. Garrido-Bailón, R. Martín-Hernández, A. Meana, M. Higes and P. De la Rúa. 2008). Genetic profile of Varroa destructor infesting Apis mellifera iberiensis colonies. Journal of apicultural research 47(4): 310-313.

19. Navajas, M., D. L. Anderson, L. I. De Guzman, Z. Y. Huang, J. Clement, T. Zhou and Y. Le Conte. 2010. New Asian types of Varroa destructor: a potential new threat for world apiculture. Apidologie 41(2):181-193.

20. Rasolofoarivao, H., J. Clémencet, L. H. R. Ravaomanarivo, D. Razafindrazaka, B. Reynaud and H. Delatte. 2013. Spread and strain determination of Varroa destructor (Acari: Varroidae) in Madagascar since its first report in 2010. Experimental and Applied Acarology 60(4): 521-530.

21. Strapazzon, R., F. E. Carneiro, J. C. V. Guerra Jr and G. Moretto. 2009. Genetic characterization of the mite Varroa destructor (Acari: Varroidae) collected from honey bees Apis mellifera (Hymenoptera, Apidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. Genetics and Molecular Research 8(3): 990-997.

22. Warrit, N., T. A. Hagen, D. R. Smith, and I. Çakmak. 2004. A survey of Varroa destructor strains on Apis mellifera in Turkey. Journal of Apicultural Research 43(4): 190-191.

23. Wines, M. 2013. Mystery malady kills more bees, heightening worry on farms. New York Times 28(3).