

## بررسی آلودگی قارچی عسل و گرده کندوهای استان اردبیل

مهندس محسن مصطفایی<sup>۱</sup>، دکتر حمید ناظری<sup>۲</sup>، دکتر کیومرث طایفی اردبیلی<sup>۳</sup>، فریدون ابراهیمزاده<sup>۴</sup>

### The study of fungal contamination of honey and pollen in beehives in Ardabil province

Mostafai M<sup>1</sup>, Nazery H<sup>2</sup>, Tayefi Ardabili K<sup>3</sup>, Ebrahimzade F.<sup>4</sup>

1,2,4- agriculture and natural resources research center of Ardabil

3-Expert of veterinary general Office of Ardabil

### Abstract

The identification of fungi and preventing their growth in beehives product are important factors for beekeepers, and honey quality, and human health. In this study a number of 400 beehives were randomly sampled from five location (Ardabil, germi, khalkhal, neer and meshkin shahr), in Ardabil, Iran, in summer and spring season. We randomly included No. of 10 apiaries from each location in each season. From each apiary, four beehives were randomly included. Both honey and pollen samples were prepared in two plate culture: A - sabro dextrose agar + chloramphenicol + cyclohexamide. B - sabro dextrose agar + chloramphenicol. The results indicated that the percentage of fungal - yeast - contaminated were 77/75 and 63/25 in pollen grains and honey respectively. In pollen sample a number of 2, 14 and 6 and in honey samples a number of 0, 12 and 4 individuals of *Ascosphaera apis* (cause of chalk brood) and *Aspergillus flavus* (cause of stone brood) and *Aspergillus fumigatus* were observed respectively.

**Key words** : honeybee, beehive, fungus, pollen, honey

چون گرده، ژله رویال، موم و زهر تولید می‌شود. قارچها موجودات زنده‌ای هستند که می‌توانند بر روی محصولات کندو رشد کرده و اثرات منفی متعددی را بگذارند. گروهی از قارچها اگر در روی مواد غذایی

### چکیده

شناسایی قارچها و جلوگیری از رشدشان در داخل محصولات کندو گام مهمی برای زنبورداران در جهت بهبود کیفیت عسل و سلامت انسان می باشد. در این بررسی از زنبورستانهای پنج شهر استان اردبیل (اردبیل، گرمی، خلخال، نیرومشکین شهر) تعداد ۲۰۰ کندو در فصل تابستان و ۲۰۰ کندو در فصل بهار نمونه برداری تصادفی به عمل آمد. از هر شهرستان در هر فصل ۱۰ زنبورستان و از هر زنبورستان ۴ کندو بصورت تصادفی مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه عسل و گرده تهیه شده در دو محیط الف) سابرو دکستروز آگار + کلرامفنیکل + سیکلوهگزامید ب) سابرو دکستروز آگار + کلرامفنیکل کشت داده شدند. نتایج کشت و شناسایی قارچها نشان داد که آلودگی به انواع قارچها و مخمرها در گرده ۵۷/۸۷ درصد و در عسل ۴۲/۱۲۱ درصد کل نمونه می‌باشد آلودگی به قارچ *آسکوسفرا آپیس* (عامل لاروگچی) و *آسپرژیلوس فلاووس* (عامل لاروسنگی) و *آسپرژیلوس فومیگاتوس* در گرده به ترتیب ۴۱،۴ و در عسل به ترتیب ۱،۲ و ۴ مورد مشاهده شد.

**واژگان کلیدی:** زنبور عسل، کندو، قارچ، گرده، عسل

### مقدمه:

استان اردبیل باتوجه به آب و هوای مناسب و پوشش گیاهی متنوع یکی از مستعدترین مناطق پرورش زنبور عسل در کشور محسوب میشود که در آن سالیانه بیش از ۲۰۰۰ تن عسل به همراه سایر فراورده های ارزشمند

۱، ۲، ۴- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی و امور دام استان اردبیل

۳- اداره کل دامپزشکی استان اردبیل

(جمعا ۴۰ کندو) و از هر کندو ۲ نمونه اخذ گردید. نمونه ها شامل عسل و گرده بود که با رعایت شرایط استریل (استفاده از الکل و شعله) در ظروف یکبار مصرف مربوطه که توسط اشعه گاما استریل شده بودند اخذ گردید بطوریکه نمونه عسل توسط قاشق مخصوص و از قسمت حجره های سرپوشیده در چندین شان و نمونه گرده توسط پنس از داخل حجره تهیه شد. نمونه های اخذ شده در اسرع وقت به آزمایشگاه منتقل شد (۷).

**کشت:** برای کشت نمونه های اخذ شده از دو محیط کشت<sup>۱</sup> سابرو دکستروز آگار کلرامفنیکل دار و سابرو دکستروز آگار کلرامفنیکل و سیکلو هگزامیدار استفاده شد (۵ و ۶). بطوریکه برای کشت نمونه عسل آنرا با مقدار مساوی آب مقطر استریل مخلوط کرده و از تنظیف استریل عبور داده تا ناخالصی هایش گرفته شود و بعد روی دو محیط مورد نظر کشت داده شده نمونه گرده هم پس از مخلوط شدن در آب مقطر استریل در روی دو محیط کشت ذکر شده کشت داده شد.

پلیت های کشت داده شده در انکوباتور ۳۰°C قرار داده می شد و هر روز رشد و یا عدم رشد قارچها مورد بررسی قرار می گرفت در نهایت قارچهای رشد کرده جدا شده، مورد شناسایی قرار می گرفت. جهت تشخیص از رنگ لاکتوفنل کاتن بلو استفاده می شد در صورت مشکوک بودن از کلنی های قارچ اسلاید کالچر تهیه می شد تا تشخیص کاملاً دقیقی صورت پذیرد. نتایج بدست آمده برای هر زنبورستان در یک جدول جمع آوری شده و مورد تحلیل و بررسی قرار می گرفت.

**جدول شماره ۱ - توزیع فراوانی مطلق و نسبی نمونه های مورد آزمایش بر حسب نمونه**

ردیف	نوع نمونه	نمونه	
		تعداد	درصد
۱	گرده	۴۰۰	۵۰٪
۲	عسل	۴۰۰	۵۰٪
	<b>جمع</b>	<b>۸۰۰</b>	<b>۱۰۰</b>

رشد کنند سلامت انسان را به خطر می اندازند که از جمله آنها به اسپرژیلوسها میتوان اشاره کرد و گروهی هم باعث طعم و بو و نمای بد مواد غذایی شده و مصرف آن را دچار مشکل می کنند و تعدادی نیز باعث بیماری نوزادان زنبور عسل می شوند (۱ و ۲ و ۶). اسپور قارچها در تمام نقاط دنیا پخش بوده و محیط داخل کندو نیز از این مسئله مستثنی نیست این اسپورهاتوسط زنبوران و جریان هوا به داخل کندو راه می یابند و این عمل میتواند در هنگام آوردن گرده و یا شهد صورت گیرد و یا اینکه اسپورها در روی ورقه و پوکه های موم، بخصوص آنهایی که از سالهای قبل مانده اند مستقر شده و وارد کندو شوند (۸ و ۱۳ و ۱۴). و در صورت مساعد بودن شرایط محیط از لحاظ درجه حرارت، رطوبت و غیره رویش نموده و تکثیر شوند و در نهایت اثرات متعددی از طریق ایجاد کلنی و تولید آفلاتوکسین می توانند داشته باشند (۸). پس قدم اول، شناخت قارچها و مخمرهایی که توانائی رشد در روی عسل و گرده را داشته و باعث آلودگی آنها می شوند و همچنین بررسی شرایط مناسب برای رشد و تکثیر آنها، و قدم دوم استفاده از ملزومات پیشگیری و در نهایت مبارزه و درمان آلودگی های قارچی می باشد.

## مواد و روشها

**نمونه برداری:** روش نمونه برداری در این پژوهش بصورت نمونه گیری خوشه ای بوده و تعداد نمونه اخذ شده ۴۰۰ کندو میباشد. از ۲۰۰ کندو در فصل بهار و از ۲۰۰ کندوی دیگر در فصل تابستان نمونه برداری صورت گرفت. جهت این کار ابتدا اسامی شهرستانهای استان لیست گردید و بصورت تصادفی ۵ (شهرستان اردبیل، نیر، مشکین شهر، گرمی و خلخال) انتخاب شد، و در هر شهرستان از ۱۰ زنبورستان ۴ کندو انتخاب

بطوریکه در بهار نمونه عسل تعداد ۳ مورد و گرده تعداد ۲۳ مورد و در تابستان عسل ۳۸ مورد و گرده ۴۳ مورد آلودگی به این قارچها وجود داشت (جدول شماره ۴). آلودگی به قارچ آسکوسفرا آپیس فقط دو مورد در کندوهای مورد بررسی در فصل بهار مشاهده شد. البته لازم به ذکر است تشخیص تعدادی از قارچها برای اطمینان بیشتر در بخش زنبور عسل مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی انجام شد. در اغلب کشت های مربوط به محیط کشت سیکلوهاگزامیددار قارچی رشد نکرده بود. و این محیط کشت از رشد قارچهای ساپروفیت جلوگیری می کند.

### بحث و پیشنهادات

نتایج بدست آمده در این تحقیق مبین وجود انواع زیادی از قارچها در کندوهای زنبور عسل استان اردبیل می باشد (۷). بالا بودن میزان آلودگی به قارچهای اسپرژیلوس زنگ خطری است که مسئولین و زنبورداران به توجه بیشتری مقوله بهداشت محصولات داخل کندو فرامی خوانند. رطوبت بالا، جعبه های شکسته و آلوده،

جدول شماره ۲ - توزیع فراوانی مطلق و نسبی نمونه های مورد آزمایش بر حسب فصل

ردیف	فصل	نمونه	
		تعداد	درصد
۱	بهار	۴۰۰	۵۰٪
۲	تابستان	۴۰۰	۵۰٪
جمع		۸۰۰	۱۰۰

### نتایج

چنانچه در جدول شماره ۳ آمده است تعداد کل قارچهای رشد کرده در هر دو نمونه عسل و گرده ۳۶ نوع بود (در عسل ۲۶ نوع و در گرده ۳۴ نوع قارچ) بطوریکه تعداد کل قارچ در عسل ۲۵۳ مورد از ۴۰۰ نمونه (۶۳/۲۵٪ کل نمونه) و در گرده ۳۱۱ مورد از ۴۰۰ نمونه (۷۷/۷۵٪ کل نمونه) بود از ۲۵۳ مورد عسل تعداد ۱۵۷ مورد مربوط به مخمر بود ولی در گرده انواع قارچهای کپکی نسبت به عسل زیادتر بود. قارچهای جنس اسپرژیلوس به لحاظ اهمیت زیاد بین نمونه های بهار و تابستان توسط آزمون t-test مورد مقایسه قرار گرفتند و تفاوت معنی داری بین تعداد آنها در نمونه های بهار با نمونه های تابستان قابل مشاهده بود ( $p < 0.05$ )

جدول شماره ۳ - توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی قارچی در نمونه های مورد آزمایش بر حسب نمونه

نتیجه کشت نوع نمونه	مثبت		منفی		کل	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
گرده	۳۱۱	۷۷/۷۵	۸۹	۲۲/۲۵	۴۰۰	۱۰۰
عسل	۲۵۳	۶۳/۲۵	۱۴۷	۳۶/۷۵	۴۰۰	۱۰۰
جمع	۵۶۴		۲۳۶		۸۰۰	۱۰۰

جدول شماره ۴ - توزیع فراوانی مطلق و نسبی نمونه های مورد آزمایش بر حسب فصل و آلودگی

نوع	فصل				تابستان			
	بهار		تابستان		بهار		تابستان	
	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی
گرده	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
عسل	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
جمع	۳۰۸	۹۲	۲۵۶	۱۴۴	۱۴۴	۴۴/۵	۸۹	۲۲/۵

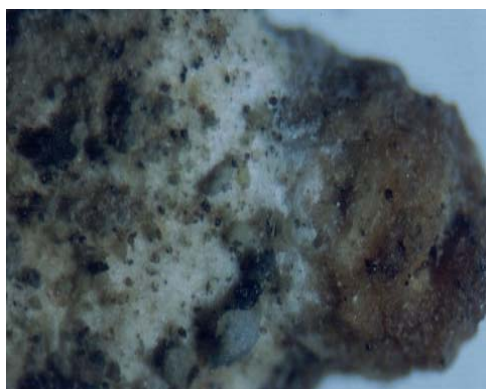
جدول شماره ۵ - توزیع فراوانی آلودگی قارچی نشان داده شده است

نام قارچ	عسل	گرده	نام قارچ	عسل	گرده
آسپرژیلوس فومیگاتوس	۴	۶	فیالوفورا درماتیدیس	۲	۱
آسپرژیلوس فلاووس	۱۲	۱۴	ژئوتریکوم	۲	۴
سایر آسپرژیلوسها	۲۵	۴۶	فونسکا کومپکتوم	۲	۱
آسکوسفرا آپیس	۰	۲	فیالوفورا جنسلمی	۰	۱
پنیسیلیوم	۲۳	۲۴	اسکوپولاریوپسیس	۰	۱
آلترناریا	۴	۶۰	آکرومونیوم	۰	۱
موکور	۶	۴۲	پارا کوکسیدیونئس	۲	۱
رایزوپوس	۴	۷	کوروولاریا	۰	۱
آسیدیا	۰	۳	میکروسپوریوم	۱	۳
استمفیلیوم	۳	۱۴	پنسیلوما یسز	۰	۲
مونوسپوریوم آبی اسپرموم	۲	۴	بلاستوما یسز درماتیدیس	۱	۰
نوکاردیا	۰	۱	فوزاریم	۰	۱
آکتینومادورا	۳	۱	فوما	۱	۰
نیگروسپورا	۱	۴	آپی کوکوم	۴	۳
مادرولاگریزه آ	۲	۶	استرپتوما یسز	۳	۱۰
تریکوفیتون	۱	۱	انواع مخمر	۱۵۷	۹۳
مونیلیا	۱	۵	هلمینتوسپوریوم	۱	۵
کلادوسپوریوم	۴	۲	کاندیدا	۰	۲

(۱۲ و ۸). در یک بررسی توسط خانم پورغفور لنگرودی از مجموع ۵۰۰ کندو و ۲۰۰۰ نمونه در استان گلستان ۴/۰٪ از کندوها و ۱/۰٪ از نمونه ها بیماری لارو گچی داشتند (۴) و در بررسی دیگری توسط واحدی نوری تحت عنوان تعیین انتشار جغرافیایی بیماریهای قارچی در کندوهای زنبور عسل استان مازندران قارچهای عامل بیماری لارو گچی (آسگوسفرا آپیس) و لارو سنگی (آسپرژیلوس فلاووس) را جدا نمود. در ضمن تعداد زیادی قارچهای ساپروفیت از قبیل آلترناریا- اسکوپولاریوپسیس- آکرومونیوم- پنی سیلیوم- هلمونتوسپوریوم استرپتوما یسز- کولواریا- رایزوپوس- موکور- فوزاریوم از محیط کشت جدا شده اند. همچنین این بررسی میزان آلودگی کندوها را به قارچ های بیماریزا در استان مازندران ۳۸٪ نشان داد (۳). مقایسه قارچهای جدا شده از عسل و گرده نشان می دهد که در اغلب موارد نوع قارچها در این دو نمونه از یک

کلنی های ضعیف، موم کهنه و آلوده، قراردادن کندوها در داخل علوفه بلند و جاهای مرطوب، گرد و خاک، نگهداری دام در نزدیکی زنبورستان، استفاده زیاد از آنتی بیوتیک، نزدیکی زنبورستان به محل انباشته شدن پهن دامی و سایر موارد که اغلب مدیریتی هستند از عوامل رشد و تکثیر قارچها در داخل کندو می باشند (۱۰، ۹ و ۱۱). ورود اسپورهای قارچ به داخل کندو امری اجتناب ناپذیر است و آنچه که اهمیت دارد جلوگیری از رشد و تکثیر آنهاست چرا که عده ای از این قارچها با تولید انواع سموم باعث اثرات منفی بر مصرف کنندگان میشود عده ای دیگر نیز در اثر تماس و استنشاق باعث بیماری انسان می شوند و اثر دیگری که دارند تاثیر در کیفیت محصولات داخل کندو است. از طرف دیگر قارچ های آسگوسفرا آپیس و آسپرژیلوس فلاووس عامل بیماری در لاروهای زنبور عسل است و در صورت شیوع صدمات جبران ناپذیری را به زنبورستان می زنند

۷- در مورد قارچهای بیماری زای زنبور عسل باید سعی شود از نژادهای مقاوم استفاده شود، لاروهای آلوده جلوی سوراخ پرواز سوزانده شود و شانهای آلوده ساعتی در معرض نور مستقیم آفتاب قرار گیرد و در صورت آلودگی شدید حذف شود (۷ و ۸ و ۱۳ و ۱۴).



عکسهای فوق در زنبورستان و محیط آزمایشگاه مرکز تحقیقات اردبیل تهیه شده است که لکه های سفیدنشان از بیماری قارچی دارند .

## تشکر و قدردانی

از ریاست محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع

کندو یکسان نبوده و این حاکی از تفاوت منشاء اسپورها است و نمیتوان گرده و یا عسل را منشاء آلودگی دیگری دانست ولی آنچه که مسلم است می توان با مدیریت صحیح از رشد و تکثیر قارچها در داخل کندو جلوگیری کرد. جهت دست یابی به این هدف باید به موارد زیر دقت شود:

۱- به دلیل وجود اسپورهای قارچ در داخل محصولات زنبور عسل بخصوص عسل وگرده استفاده از آنها در درمان بیماریها و جراحات لازم است که قبل از استفاده محصولات مورد اشاره آنها با اشعه گاما استریل شوند.

۲- نگهداری کندوها در زمستان باید طوری باشد که آب برف و باران به داخل نفوذ نکند. تعداد شان متناسب با تعداد زنبور داخل کندو باشد چون در روی شانهای اضافی داخل کندو در زمستان قارچها رشد می کنند در صورت رشد قارچ شان مورد نظر را از کندو خارج نموده، موم آنرا ذوب کرده وقاب آن را شعله افکنی نمود پارچه زیر درب کندو را نیز باید سوزاند.

۳- در شروع گرم شدن هوا در بهار باید تمام کندوها را تمیز نموده وشعله افکنی کرد، زنبورستان را در جای مناسبی مستقر نموده وکندوها را در جاهای کم علفه وخشک بالاتر از سطح زمین قرارداد.

۴- شکستگیهای جعبه ها را درست کرده روی درب جعبه را با ورق فلزی پوشاند سوراخ پرواز باید به طرف آفتاب بوده واندازه مناسب داشته باشد .

۵- ظروفی که برای دادن شیر استفاده می شود باید سالم و بدون هیچگونه ترکیدگی وسوراخ باشند تا سعی شود شیر به داخل کندو ریخته نشود .

۶- بین شانها فاصله اضافی نباشد واز قرار دادن شانهای اضافی جلوگیری شود در صورت آلودگی شان به قارچ، از کندو خارج شود.

9-BAIL L;1967 the effect of temperature on the pathogenicity of the fungus, *Ascosphaera apis* for larvae of the honeybee, *apis mellifera* in Insect pathology and microbial Control. ed. P.A. VANDERLAAN. North Holland publishing Co., Amsterdam, 162-167.

10-CHRISTENSEN M., GILLIAM M., 1983....Notes on the *Ascosphaera* species inciting chalkbrood in honey bees. *Apidologie*, 14, 291-297.

11-GILLIAM M., TABER S.III, RICHARDSON G.V, 1983.---Hygienic behavior of honey bees in relation to chalkbrood disease. *Apidologie*. 14, 29.39

12-GOCHNAUER T.A., MARGETTS v., J., 1980.—Decontaminating effect of ethylene oxide on honeybee larvae previously killed by chalkbrood disease. *J. Apic. Res.*, 19, 261-264.

13-Poseral HV; 1990 brazilian apimondia 89 impressions of a participant. part II. *American bee journal* Vol.180, No.6, P.354

14- Iannuzzi J; 1996. Egyptian beekeeping. old and new American bee journal. Vol.136, No.7, P.493-495 .

طبیعی و امور دام استان ارد بیل جناب آقای مهندس امین زاده جهت فراهم کردن امکانات اجرای طرح و مؤسسه را زی جهت مشاوره و همکاری و همچنین جناب آقای دکتر علوی مدیر کل محترم اداره دامپزشکی استان اردبیل جهت همکاری در اجرای طرح تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

### فهرست منابع :

- ۱- اسکندری، فریدون، تشخیص آزمایشگاهی قارچهای مهم پزشکی، انتشارات دانش پژوه.
- ۲- امامی، مسعود، کردبچه، پریش، مقدمی مهین، زینی، فریده، ۱۳۷۶، قارچ شناسی پزشکی، انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، چاپ پنجم.
- ۳ - واحدی نوری، نصراله، ۱۳۷۹. گزارش نهائی طرح تحقیقاتی تعیین انتشار جغرافیایی بیماریهای قارچی در کندوهای زنبور عسل استان مازندران.
- ۴ - پورغفور لنگرودی، پرستو. ۱۳۷۹. گزارش نهائی طرح تحقیقاتی تعیین انتشار جغرافیایی بیماریهای قارچی در کندوهای زنبور عسل استان گلستان
- ۵- اوحدی نیا، حسین، ۱۳۶۹، روشهای عملی میکروبیولوژی پزشکی، مؤسسه نشرکلمه، چاپ اول
- ۶- شادزی، شهید، ۱۳۷۹، قارچ شناسی پزشکی، و روشهای تشخیص آزمایشگاهی، جهاد دانشگاهی، چاپ هفتم
- ۷- طایفی اردبیلی، کیومرث، مصطفائی محسن، ۱۳۸۰، گزارش نهائی طرح تحقیقاتی تعیین انتشار جغرافیایی قارچهای بیماریزای زنبور عسل در استان اردبیل .
- ۸- وثوقی، غلامحسین، نبیان، صدیقه ۱۳۷۴، زنبور عسل آفات شکارچیان و بیماریهای آن، انتشارات مرکز نشر دانشگاهی