

ارزیابی تأثیر یک ترکیب گیاهی بر پایه اسانس‌های گیاهی و اسیدازالیک بر کنترل کنه واروآ (*Varroa destructor*) در کلنی‌های زنبور عسل ایرانی (*Apis mellifera meda*)

• حمیدرضا کرمی^۱، رحیمه سپهری (نویسنده مسئول)^۲، غلامحسین طهماسبی^۳، مصطفی ملایی^۴

۱- دانش آموخته مقطع کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران

۳- استاد پژوهشی بخش تحقیقات زنبور عسل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج، ایران

۴- دکترای تخصصی حشره‌شناسی، سازمان جهاد کشاورزی استان زنجان

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۳

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۶۴۱۸۲۸۸

Email: sepehri_r@znu.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ASJ.2024.367618.2436

چکیده

در پژوهش حاضر، تأثیر یک ترکیب گیاهی شامل اسانس‌های آویشن، نعناع، مرزه و اسید اگزالیک، با نام تیموگزال، بر کنترل کنه‌واروآ و مقایسه آن با کنه‌کش‌های شیمیایی آپستان و بایوارول (به‌عنوان کنترل مثبت) و شاهد (به‌عنوان کنترل منفی) بررسی شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۶ تکرار انجام شد. قبل از اجرای آزمایش، اندازه‌گیری آلودگی اولیه کلنی‌ها انجام و به‌عنوان صفت هم‌بسته^۱ در آنالیز داده‌ها لحاظ گردید. میزان تلفات کنه و زنبوران در سه مرحله در طول دوره آزمایش و نیز میزان آلودگی باقیمانده در کلنی‌ها پس از اجرای آزمایش برآورد شد. تجزیه کوواریانس داده‌ها با استفاده از رویه Mixed و مقایسات میانگین‌ها به‌روش توکی در نرم‌افزار آماری SAS (V.9.4) انجام شد. نتایج حاصله، تلفات ۸۲/۴۰ درصدی کنه‌واروآ را در تیمار تیموگزال نشان داد که ضمن داشتن تفاوت معنی‌دار با تیمار شاهد ($\alpha=0/01$)، با تیمارهای آپستان و بایوارول تفاوت معنی‌داری نداشت. میزان تلفات زنبوران کارگر در تیمار تیموگزال بسیار کم (۰/۱ درصد) و تفاوت معنی‌داری با شاهد (۰/۰۷ درصد) نداشت. تلفات کارگران در تیمار آپستان (۰/۱۴ درصد) به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار تیموگزال و شاهد بود. میزان آلودگی باقیمانده در تیمار تیموگزال (۰/۹ درصد) به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد (۴/۵۱ درصد) بود ولی با دو تیمار آپستان و بایوارول تفاوت معنی‌داری نداشت. با توجه به تأثیر ۸۲ درصدی تیموگزال در کنترل کنه واروآ و نیز به دلیل طبیعی بودن، نداشتن محدودیت زمان مصرف (بدلیل نداشتن اثرات سوء در تولیدات کلنی) و نیز تلفات کمتر در زنبوران، می‌تواند جایگزین مناسبی برای کنه‌کش‌های شیمیایی شود.

1 Co-variate

واژه‌های کلیدی: کنه واروآ، اسانس‌های گیاهی، اسید اگزالیک، آپستان، بایوارول.



Research Journal of Livestock Science No 148 pp: 159-174

Evaluation of the effect of a herbal compound based on plant essential oils and oxalic acid in controlling Varroa mite (*Varroa destructor*) in Iranian honeybee (*Apis mellifera meda*) coloniesBy: Hamidreza Karami¹, Rahimeh Sepehari^{2*}, Gholamhossein Tahmasbi³, Mostafa Mollaei⁴,

1 MSc graduated in Apiculture, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

2- Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

3- Professor, Honey bee Research Department, Animal Sciences Research Institute of Iran, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

4- PhD in Agricultural entomology. Zanjan Province Agricultural Jihad Organization, Zanjan, Iran.

*Corresponding author, Email: sepehari_r@znu.ac.ir

Received: October 2024

Accepted: November 2024

In present study, the effect of a herbal compound (Thymogzal) including essential oils of thyme, mint, marze and oxalic acid on the control of Varroa mite and its comparison with chemical acaricides: Apistan and Biovarol (as positive controls) and control (as a negative control) was investigated. The experiment was conducted in CRD with 4 treatments and 6 replications. Before the experiment, the initial contamination of the colonies was measured and included as a covariate in the data analysis. Mortality in mites and bees, three times during the experiment and the amount of residual contamination after the experiment were measured. covariance analysis of data followed with Tukey test were used with SAS software (V.9.4). Based on the results, there was 82.40 % mortality on mites in Thymogzal, which was significantly higher compared to the Control ($\alpha=0.01$) and There was no significant difference in Thymogzal, Apistan and Bayvarol. The bee's mortality in Thymogzal was very low (0.1%) and had no significant difference with the control (0.07 %); While in Apistan treatment (0.14%) were significantly higher than both of them. The amount of residual contamination in Thymogzal (0.9%) was significantly lower than Control (4.51%); but it wasn't significantly different from the Apistan and Bayvarol. So, due to the 82% effectiveness of Thymogzal in controlling The Varroa mite, and due to its naturalness, no time limit for consumption (due to no adverse effects on colony production) and least mortality in bees, it can be a good alternative for chemical acaricides.

Key words: varroa mite, Herbal essential oils, oxalic acid, Apistan, Byvarol

مقدمه

فیزیولوژیکی از قبیل کاهش وزن و آب بدن و همچنین افت شدید سطح پروتئین و کربوهیدرات در زنبور تازه متولد شده و یا تغییر شکل اندامها مانند بالها و حتی مرگومیر قبل از تولد در داخل حجره می شود (Kotwal and Abrol, ۲۰۱۳). در ابتدا اعتقاد بر این بود که کنه واروا فقط از همولنف تغذیه می کند، ولی شواهد جدید نشان می دهد که این کنه به طور مستقیم از بافت چربی زنبور عسل تغذیه می کند (Ramsey و همکاران، ۲۰۲۱). تغذیه کنه از زنبور عسل بالغ، چه نر باشد چه ماده، اکثراً باعث مرگ مستقیم نمی شود ولی باعث تضعیف شدید، نداشتن قوه پرواز و کم شدن عمر زنبور عسل می شود. همچنین به شدت سیستم ایمنی

یکی از مشکلات عمده در پرورش زنبور عسل (*Apis mellifera* L.) مبارزه با کنه واروا است. کنه واروا (*Acari: Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000) انگل خارجی زنبوران عسل می باشد که به عنوان مهمترین آفت، به سرعت رشد و تکثیر نموده و هر ساله خسارت بالایی را در سراسر جهان به صنعت زنبورداری وارد می سازد (Chauhan و همکاران، ۲۰۲۱، رحیمی و همکاران، ۱۴۰۳). این کنه، انگل خارجی نوزاد (لارو و شفیره) و حشره کامل زنبور عسل می باشد و در همه مراحل رشد خود از همولنف و بافت چربی زنبوران کارگر و نر تغذیه نموده و منجر به اختلالات

توتون، اسپند و غیره و نیز اسیدهای آلی مورد بررسی قرار گرفته- است (Ariana و همکاران، ۲۰۰۲؛ عبدالله پور و شاددل، ۱۳۹۷؛ ملکی و همکاران، ۱۴۰۲؛ قاسمی و همکاران، ۲۰۱۱؛ Rahimi و همکاران، ۲۰۱۷؛ Mahmood و همکاران، ۲۰۱۴ و Maggi و همکاران، ۲۰۱۷، Rahimi و Parichehrech، ۲۰۲۴). در خصوص مکانیسم اثر اسیدهای آلی مطالعات زیادی انجام نشده است ولی Al Toufalia و همکاران (۲۰۱۵) اشاره کرده‌اند که این اسیدها با آسیب رساندن به قطعات دهانی کهنه‌ها و نیز تحریک زنبوران کارگر به رفتار نظافت‌گری سبب جدا شدن کهنه‌ها از بدن زنبوران و افتادن آنها در کف کندو می‌شوند. نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که اسید اگزالیک و اسید فرمیک بالاترین اثر و اسید پروپیونیک کمترین اثر را در کنترل کهنه‌واروآ داشته‌اند (عبدالله پور و شاددل، ۱۳۹۷). کاربرد اسیدهای آلی در مناطق آب و هوایی مختلف، دز و زمان استفاده در ساعات شبانه روز و حتی فصل اثرات متفاوتی بر زنبور عسل و کهنه دارد. در کنترل کهنه‌واروآ با استفاده از اسیدهای آلی، جهت دستیابی به نتیجه بهتر، پیشنهاد شده است که این اسیدها در ساعات سرد شبانه روز و فصولی که دما در حدود ۸ تا ۱۸ درجه سانتیگراد می‌باشد، مورد استفاده قرار گیرد (Imdorf و همکاران، ۱۹۹۹ و Gregorc and Sampson، ۲۰۱۹).

اهمیت استفاده از ترکیبات گیاهی در مبارزه با کهنه واروآ بعنوان یک روش بسیار منطقی و سالم برای تولید یک محصول بدون باقیمانده‌های دارویی و شیمیایی می‌باشد. اکثر ترکیبات گیاهی برای انسان بی‌ضرر بوده و یا ضرر و خطر آن خیلی کمتر از سموم شیمیایی می‌باشد. لذا استفاده از این ترکیبات مانند اسانس‌ها برای تولید محصول سالم و تا حدودی ارگانیک بسیار مورد توجه است (Ariana و همکاران، ۲۰۰۲). اسانس‌های گیاهی به دلیل دارا بودن بوی تند و سمیت کم برای پستانداران و موجودات غیرهدف و نیز اثرهای مخرب کم روی محیط زیست از پتانسیل بالایی در کنترل آفات برخوردار هستند. لذا امروزه جهت کاهش اثرات مخرب سموم شیمیایی، از این مواد نسبتاً بی‌خطر و سالم برای زنبور عسل، موجودات غیر هدف و محیط زیست برای کنترل کهنه-

زنبور عسل را تحلیل و کاهش می‌دهد و در نهایت با کمترین تنش سرمایی و گرمایی، بیماری و استرس باعث تلفات شدید و گسترده می‌شود. در زنبورهای کارگر تأثیر مستقیم کهنه با تغییر رفتار نیز قابل مشاهده است طوری که آرامش کلنی به هم خورده و باعث رفتار تهاجمی و نیش زنی و کم شدن محصول عسل و... می‌شود. علاوه بر این تأثیرات، با تغذیه بعضی از عوامل بیماری‌زا مانند ویروس‌ها و انتقال آن‌ها به زنبور عسل باعث بیماری‌زایی در کلنی‌ها شده و باعث تلفات شدید و تبعات گسترده بعضی اوقات سال‌ها درگیری زنبورستان‌ها و در نهایت نابودی زنبورستان‌ها می‌شود (Ariana و همکاران، ۲۰۰۲).

برای کنترل این آفت از ابتدای ظهور آن، کنه‌کش‌های شیمیایی مختلفی معرفی و به بازار وارد شده از جمله معروف‌ترین آنها بای-وارول، آپستان، آپی‌گارد، آمیتراز، کومافوس و فولبکس بوده‌اند که در ابتدا تا حدود زیادی موفق به کنترل جمعیت کهنه‌واروای کلنی‌ها شدند (عبدالله پور و شاددل، ۱۳۹۷، Rahimi and Parichehrech، 2024). ولی استفاده بیش از حد از آن‌ها علاوه بر افزایش هزینه‌های اقتصادی پرورش دهنده، منجر به بروز مقاومت در کهنه‌واروآ در مواجهه با این داروها در سراسر جهان شده است (Mattos De و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین بقایای این داروهای شیمیایی در محصولات کلنی‌ها بویژه عسل و موم گزارش شده است (Wallner، ۱۹۹۹ و Mullin و همکاران، ۲۰۱۰).

با توجه به معایب ذکر شده، در استراتژی‌های جدید کنترل کهنه-واروآ، سمت و سو به طرف عدم استفاده از سموم شیمیایی یا استفاده حداقل از این سموم در کنترل این آفت می‌باشد. در این راستا تحقیقات متعددی پیرامون مبارزه علیه این کهنه به صورت فیزیکی و با قرار دادن برگه نربافت، استفاده از روشهای اصلاح نژادی و پرورش نژادها و توده‌های اصلاح شده و مقاوم نسبت به کهنه و نیز تقویت رفتار بهداشتی^۱ و نظافت‌گری^۲ صورت گرفته و گام‌های مهمی برداشته شده است (Imdorf و همکاران، ۱۹۹۹). به موازات آن، استفاده از مواد بیولوژیکی مانند ترکیبات بدست-آمده از گیاهان دارویی نظیر نعناع، پونه، آویشن، فلفل، کاسنی،

¹ Hygienic behaviour

² Grooming behaviour

واروآ بصورت تک‌تک در تیمارهای جداگانه بررسی شده است. در پژوهش حاضر، اثرات کنه‌کشی و نیز زنبورکشی یک فرآورده که ترکیبی از انواع اسانس‌های گیاهی (اسانس مرزه خوزستانی (با ماده مؤثره کارواکرول)، اسانس آویشن (با ماده مؤثره تیمول) اسانس نعنا (با ماده مؤثره منتول)) و اسید اگزالیک است به عنوان یک تیمار واحد مورد بررسی قرار گرفت و با کنه‌کش‌های شیمیایی رایج (آپیستان (Apistan®) و بای‌وارول (Bayvarol®))، بعنوان کنترل مثبت، و تیمار شاهد، بعنوان کنترل منفی، مقایسه شد. قابل ذکر است، قبلاً در این زمینه فرآورده‌هایی تجاری‌سازی و در بازار ارائه شده است. به عنوان مثال، واروسید (varrocid) که به گزارش شرکت سازنده حاوی تیمول، کارواکرول، لینالول و برخی مونوترپنئیدهای دیگر است و یا وارااستاپ (varrostop) که حاوی تیمول و منتول می‌باشد. اگرچه، بر اساس اطلاعات نگارنده، نتایج حاصل از آنها در قالب پژوهش علمی منتشر نشده است.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان اجرای پژوهش

مطالعه حاضر در بازه زمانی خرداد ماه و تیر ماه ۱۴۰۱ در زنبورستان مستقر در باغی واقع در یک کیلومتری حاشیه جنوبی شهرستان زنجان انجام شد. در این بازه زمانی، هوا صاف و آفتابی با میانگین دمای ۲۵ درجه و بدون باد شدید بود.

انتخاب کلنی‌ها، نحوه‌ی همسان‌سازی و بررسی نرخ آلودگی اولیه کلنی‌ها

۲۴ کلنی‌های مورد نیاز پژوهش، دارای نژاد یکسان زنبور عسل ایرانی و ملکه جوان همسن (یک ساله) بودند. این کندوها از اول پاییز و زمستان ۱۴۰۰ تحت نظر بوده و برای رسیدن به آلودگی اولیه مورد نظر هیچ گونه داروی کنه‌کشی به آنها تجویز و اعمال نگردید. قبل از شروع اجرای طرح، همسان‌سازی جمعیت کلنی‌ها براساس دستورالعمل Delaplane و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد؛ به‌طوری‌که کلنی‌های مورد مطالعه در شروع پژوهش همگی شش قاب جمعیت، پنج قاب نوزاد (تخم و لارو و شفیره) و یک قاب

واروآ در کلنی‌های زنبورعسل استفاده می‌شود (قاسمی و همکاران، ۱۳۹۲؛ Imdorf و همکاران، ۱۹۹۹ و Isman، ۲۰۰۰). خواص کنه‌کشی اسانس آویشن، نعنا و مرزه (خانواده نعنائیان) را می‌توان به مواد مؤثر اصلی موجود در آن مانند تیمول^۳، منتول^۴ و کارواکرول^۵ نسبت داد. این ترکیبات و دیگر ترکیبات مؤثره موجود در اسانس‌های گیاهی به طور وسیعی در کنترل کنه‌واروآ مورد استفاده قرار می‌گیرند و در پژوهش‌های متعددی، خاصیت کنه‌کشی اسانس گونه‌های مختلف گیاهی به اثبات رسیده است. Imdorf و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که در شرایط آزمایشگاهی، غلظت ۵-۱۵ میکروگرم تیمول، ۵۰-۱۵۰ میکروگرم کامفور و ۲۰-۶۰ میکروگرم منتول در هر لیتر هوا بدون داشتن مرگ و میر در زنبوران عسل، باعث از بین رفتن حدود ۱۰۰٪ کنه‌ها شده است. شرایط آب و هوایی (دما و رطوبت)، دوره‌های جریان شهد، قدرت (جمعیت) کلنی‌ها و میزان آلودگی کلنی‌ها به کنه‌واروآ و ... می‌تواند بر موفقیت روش‌های درمانی تأثیرگذار باشد (Calderon، ۱۹۹۹ و Imdorf و همکاران، ۱۹۹۹). در پژوهشی، استفاده از عصاره آویشن بدون اینکه تأثیر معنی‌داری بر مرگ و میر زنبورعسل داشته باشد، به‌میزان قابل توجهی کنه‌واروآ را کنترل نمود (Rahimi و همکاران، ۲۰۱۷). در بررسی تأثیر ۳۰ اسانس گیاهی مختلف بر کنه واروآ و زنبوران کارگر نتیجه گرفته شد که از بین ترکیبات مورد آزمایش، اسانس حاصل از گیاهان مانوکا، نعناع فلفلی، پونه کوهی، برگ بو و دارچین تأثیر معنی‌داری بر علیه کنه‌های ماده داشتند، بدون اینکه آسیب محسوسی بر زنبوران کارگر داشته باشند (Hybi و همکاران، ۲۰۲۱). لذا، تولید کنه‌کش‌هایی که اجزای مؤثر آن‌ها از ترکیبات گیاهی است قابلیت جایگزینی با بسیاری از سموم پرخطر شیمیایی را در برنامه‌های کنترل تلفیقی آفات زنبور عسل دارد (قاسمی و همکاران، ۱۳۹۲). در مجموع، بنظر می‌رسد برای کنترل کنه در کلنی‌های زنبور عسل به روش‌های مدیریتی مداوم و درازمدت نیاز است (Abou-Shaara، ۲۰۱۴).

در مطالعاتی که تاکنون انجام شده است، عمدتاً کاربرد اسانس‌ها، عصاره‌ها، ترکیبات گیاهی، اسیدها و غیره در کنترل کنه

³ Thymol

⁴ Menthol

⁵ Carvacrol

کنه کشی و شمارش کنه های تلف شده در زیر کفی های این کندوها، کفی مخصوصی که از جنس کلاف چوبی و کفی فیبر ملامینه سفید ساخته شد استفاده گردید تا دقت پژوهش بالا رود. شکل این کفی ها به گونه ای می باشد که در اثر وزش باد کنه ها به بیرون ریخته نشوند (شکل ۱).

عسل داشتند. در بازه زمانی پژوهش، هر یک از کلنی ها با یک کیلو خمیر شیرین غنی شده تغذیه شدند. لازم به ذکر است در زمان اجرای پژوهش، در کندوها به جز آلودگی به کنه واروا هیچگونه علائم بالینی به بیماری های دیگر میکروبی و ... وجود نداشت و همه کلنی ها از یک قاب ذخیره عسل و گرده برخوردار بودند.

قابل ذکر است در این پژوهش، از کندوهای استاندارد و کف باز ساخت شرکت هفت گوهر استفاده شد. برای ارزیابی



شکل ۱: سمت راست: کفی مخصوص شمارش کنه های تلف شده در کلنی های تحت بررسی و سمت چپ: جایگذاری کفی های زیرین در زیر کندوهای کف باز استفاده شده در آزمایش

تا اگر کنه مرده ای به بدن زنبور چسبیده باشد نیز جدا شود. در انتها، تک تک زنبوران مجدداً از لحاظ داشتن کنه روی بدنشان بررسی شدند. میزان آلودگی اولیه کلنی ها از تقسیم تعداد کنه ها بر تعداد زنبوران برداشته شده از هر کلنی محاسبه شد. با توجه به متفاوت بودن داده های بدست آمده برای این متغیر در کلنی های مورد استفاده در پژوهش و ماهیت پیوسته آن (عدم امکان گروه بندی در آن)، با کووریت قرار دادن آن در مدل آماری آنالیز داده ها، داده های مورد بررسی نسبت به این متغیر تصحیح شدند.

نحوه اجرای آزمایش

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۶ تکرار انجام شد. تیمارهای مورد بررسی عبارت بودند از: تیمار اول: شاهد (بدون داروی کنه کش)، تیمار دوم: داروی ترکیبی مدنظر در پژوهش حاضر تحت نام تیموگزال حاوی محلول اسانس نعناع (حاوی ۱۴۰۰ میلیگرم منتول)، آویشن (حاوی ۲۱۰۰ میلیگرم

همچنین، قبل از اعمال تیمارها، میزان آلودگی اولیه کلنی ها به کنه واروا با استفاده از دستورالعمل Dietemann و همکاران (۲۰۱۳) بررسی شد. برای اینکار به تعداد کلنی ها (۲۴ عدد) ظرف شیشه ای تهیه نموده و شماره کلنی ها روی آنها درج شد. سپس از هر کلنی حدود ۱۰۰ عدد زنبور از روی شان های نوزادان برداشته و به ظرف شیشه ای تهیه شده که حاوی ۱۵۰ سی سی محلول آب گرم و چند قطره مایع ظرفشویی یا شوینده بود، اضافه شد. بعد از دقایقی در یک اتاق با نور کافی و بعد از چند تکان، زنبورها و کنه های موجود در روی آنها از هم جدا می شوند. اکثر اوقات کنه ها در زیر و زنبورها بالا جمع می شوند. در این مرحله، با دقت و به آرامی محتویات ظرف نمونه گیری روی یک کاغذ سفید یا پارچه کتان سفید ریخته شد. کنه های جدا شده و مرده شمارش شده و تعدادشان ثبت گردید. در عمل، برای افزایش دقت بهتر است این کار بعد از نیم ساعت انجام شود تا زنبور های خیس خشک شوند

دو عدد نوار بین شانهای کندو آویزان یا روی شان ها خوابانیده شد (شکل ۲).

بعد از اعمال تیمارها، میزان تلفات کنه در سه مرحله به صورت یک روز در میان اندازه گیری شد. برای این کار کفی های زیرین کندوها با دقت مشاهده و کنه های تلف شده و ریخته شده شمارش شد. برای برآورد اثرات منفی تیمارها روی زنبوران عسل، اندازه گیری تلفات زنبوران کارگر از طریق شمارش زنبورهای تلف شده و ریخته شده در جلوی دریچه پرواز و نیز داخل کفی و داخل کندو انجام شد (شکل ۳).



شکل ۲: اعمال داروهای تیموگزال و آپستان و بایوآرول

مرده مورد شمارش قرار گرفت. در پایان، میزان کنه کشی هر یک از تیمارها با استفاده از فرمول Allam و همکاران (۲۰۰۳) ارزیابی (فرمول ۱) و سپس با استفاده از فرمول Abbott (۱۹۲۵) اصلاح شد (فرمول ۲).

پس از آخرین شمارش، اقدام به برآورد آلودگی باقیمانده (نهایی) همانند برآورد آلودگی اولیه گردید (شکل ۳-۹). در ادامه، جهت ارزیابی میزان جمعیت کنه های باقیمانده، دو نوار آپستان به مدت ۲۰ روز در داخل هر کندو تعبیه و بعد از ۲۰ روز تعداد کنه های



شکل ۳: کنه های تلف شده و ریخته شده در کفی زیرین

فرمول ۱:

$$\text{درصد تلفات هر تیمار در هر کندو} = \frac{\text{تعداد کنه های مرده در طول درمان یا هر تیمار}}{\text{تعداد کنه های مرده بعد درمان کندو یا آپیستان} + \text{تعداد کنه های مرده در هر کندو در طول درمان یا هر تیمار}} \times 100$$

فرمول ۲:

$$\text{درصد تلفات کنترل} - \text{درصد تلفات هر تیمار} = \frac{\text{درصد تلفات اصلاح شده}}{100 - \text{درصد تلفات کنترل}} \times 100$$

در مطالعه حاضر، تأثیر تیمارهای مورد بررسی روی جمعیت کلنی ها نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

آنالیز آماری داده ها

منظور بررسی اثر تصادفی ملکه (کندو)، این عامل نیز به مدل اضافه شد. در نهایت، تجزیه کوواریانس داده های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۶ تکرار براساس مدل آماری زیر با استفاده از رویه Mixed در نرم افزار آماری SAS (V.9.4) انجام شد.

$$Y_{ijk} = \mu + \text{Treat}_i + \beta(X_{ij} - \bar{X}) + H_j + e_{ijk}$$

داده های خام بدست آمده جهت انجام محاسبات اولیه وارد نرم افزار اکسل شد. از آنجا که امکان یکسان سازی و یا گروه بندی داده ها از لحاظ میزان آلودگی اولیه وجود نداشت، با در نظر گرفتن آن بعنوان صفت هم بسته (کووریت) در مدل، اثر آن بر صفات بررسی شده تصحیح شد. لذا، آنالیز داده ها بصورت تجزیه کوواریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. همچنین به در این مدل:

مشاهده مربوط به تیمار i ام در کندوی j ام (مقدار صفت مورد بررسی)

Y_{ijk}

میانگین مشاهدات در هر صفت

μ

اثر تیمار i ام

Treat_i

$\beta(X_{ij} - \bar{X})$	ضریب تابعیت صفت مورد بررسی (Y) از متغیر هم‌بسته (X)
X_{ij}	مقدار متغیر هم‌بسته در واحد آزمایشی مربوط به کندوی j ام از تیمار i ام
$\bar{X}$	میانگین همه مشاهدات متغیر هم‌بسته
H_j	اثر تصادفی کندو (ملکه)
e_{ijk}	اشتباه آزمایشی مربوط به تکرار j ام از تیمار i ام (اشتباه آزمایشی)

مقایسه میانگین‌های تصحیح شده تیمارها بر اساس روش حداقل مربعات (LSmeans) نیز به روش توکی انجام شد.

نتایج و بحث

در پژوهش حاضر، اثرات کنه‌کشی و زنبورکشی یک ترکیب گیاهی (ترکیبی از اسانس‌های آویشن، نعنا و مرزه خوزستانی و اسیدازگزالیک که در این تحقیق " تیموگزال " نام‌گذاری شد) در مقایسه با تیمار شاهد (به‌عنوان کنترل منفی) و تیمارهای آپستان و بایوارول (به‌عنوان کنترل مثبت) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان آلودگی باقیمانده کلنی‌ها پس از اجرای آزمایش در تیمارهای آزمایشی ارزیابی شد.

نتایج تجزیه کوواریانس درصد تلفات کنه در تیمارهای آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است. براساس نتایج بدست آمده، اختلاف معنی‌داری بین درصد تلفات کنه‌ها در تیمارهای آزمایشی مشاهده شد. اثر آلودگی اولیه (کووریت) نیز بر میزان تلفات کنه معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین درصد تلفات کنه در تیمارهای آزمایشی به‌روش توکی در نمودار ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج بدست آمده، درصد تلفات کنه در تیمار تیموگزال ۸۰/۹۶ درصد بدست آمد که اگرچه اندکی کمتر از تیمارهای آپستان و بای-وارول (به‌ترتیب ۹۷/۳۴ و ۹۰/۸۹ درصد) بود ولی این تفاوت معنی‌دار نبود. میزان تلفات کنه در تیمار شاهد ۱۲/۳۱ درصد بود که تفاوت بسیار معنی‌داری با سه تیمار دیگر داشت.

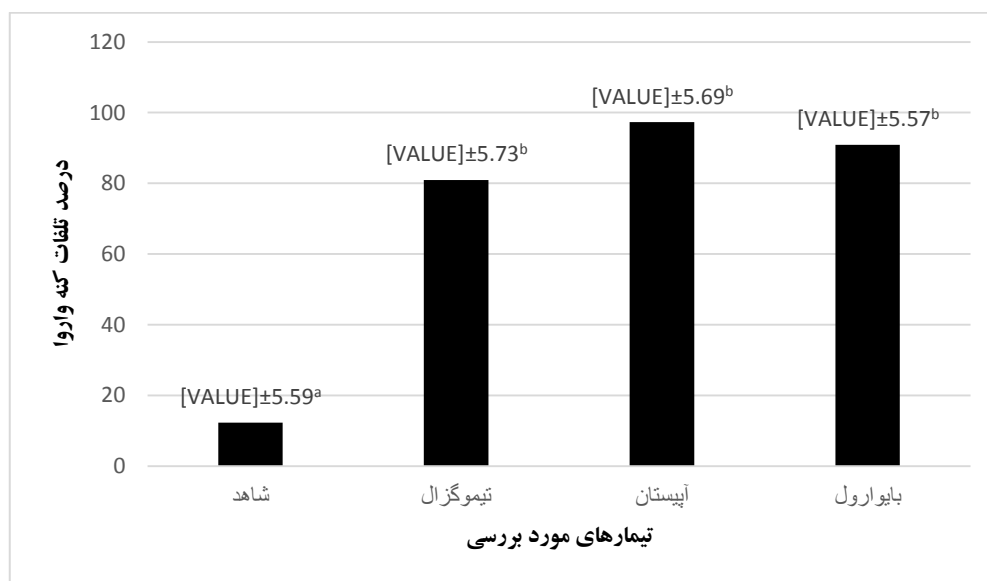
تجزیه کوواریانس

تجزیه کوواریانس تاثیر تیمارهای مورد بررسی روی

تلفات کنه‌ی واروآ

جدول ۱: نتایج حاصل از تجزیه کوواریانس تاثیر تیمارهای مورد بررسی روی صفات مورد نظر

صفه مورد بررسی	منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	آماره F	سطح معنی داری
میزان تلفات کنه واروآ (درصد)	تیمار	۳	۷۹۴۲/۲۷	۳۹۵/۶۹	<۰/۰۰۰۱
	صفت همبسته (آلودگی اولیه)	۱	۱۷۲/۸۷	۸/۶۱	۰/۰۰۸۵
	اشتباه آزمایشی	۱۹	۲۰/۰۷		<u>CV=۵/۸۲</u>
میزان تلفات زنبوران کارگر (تعداد)	تیمارهای آزمایشی	۳	۰/۰۲۶	۶/۷۲	۰/۰۰۲۸
	صفت همبسته (آلودگی اولیه)	۱	۰/۰۰۲	۰/۶۴	۰/۴۳۲۱
	اشتباه آزمایشی	۱۹	۰/۰۷۴		<u>CV=۴۴/۴۴</u>
میزان آلودگی باقیمانده (درصد)	تیمارهای آزمایشی	۳	۲۶/۱۰	۴۷/۷۱	<۰/۰۰۰۱
	صفت همبسته (آلودگی اولیه)	۱	۷/۹۵	۱۴/۵۴	۰/۰۰۱۲
	اشتباه آزمایشی	۱۹	۰/۵۵		<u>CV=۳۱/۴۷</u>



نمودار ۱: مقایسه میانگین های تصحیح شده درصد تلفات کته در تیمارهای مختلف به روش توکی

۶۳ تا ۸۴ درصد کته های تیمار شده گردید. در تحقیق دیگری اثر کته کشی تیمول ۷۳/۷۲ درصد و فلووالینات ۶۹/۲۱ درصد و اسید فرمیک ۷۲/۲۳ درصد را ثبت کردند (Ahmad و همکاران، ۲۰۱۳). در پژوهش دیگری، کارایی کته کشی دو ترکیب دارویی تیمووار و اپی لایف^۷ (ماده موثره هر دو ترکیب تیمول میباشد) به ترتیب ۸۴/۷ و ۵۳/۸ درصد گزارش شد که در مقایسه با کارایی تیمار شاهد (۱۷/۸ درصد) نسبتاً مطلوب بود. در این پژوهش پیشنهاد شد برای تکمیل کته کشی ترکیبات فوق، یک مرحله استفاده از اسید اگزالیک قبل از شروع زمستان لازم است (Mary and Breen، ۲۰۱۳). به عبارت دیگر دو داروی فوق (تیمووار و به ویژه اپی لایف) به تنهایی قادر به کنترل جمعیت کته در کلنی ها نشدند. با توجه به نتایج پژوهش حاضر و عملکرد ۸۲ درصدی تیموگزال، به نظر میرسد تیموگزال داروی بهتری برای کنترل کته باشد.

نتایج مطالعات مختلف گذشته در زمینه تاثیر اسیدهای آلی نشان داده است که اسید اگزالیک و اسید فرمیک بالاترین اثر و اسید پروپیونیک کمترین اثر را در کنترل کته واروا داشته اند (عبداله پور و شاددل، ۱۳۹۸). درمان با اسید اگزالیک کته واروا را در زنبوران بالغ تا ۸۷/۴ درصد کاهش داد (Castagnino and

بررسی های متعددی در زمینه تاثیر اسانس های گیاهی بر کنترل کته واروا انجام شده است. کولین (۱۹۹۴) گزارش نمود که پاشش امولسیون آبی کارواکرول روی کته واروا در شرایط آزمایشگاهی پس از ۲۴ ساعت منجر به از بین رفتن بیش از ۹۰ درصد کته های تیمار شده می شود (Colin، ۱۹۹۴). در مطالعه دیگری، تیمول و منتول و کارواکرول و سیترال تلفات قابل توجهی در کته تراشه ای^۶ زنبور عسل ایجاد کرد (Ellis and Baxendal، ۱۹۹۷). و از آنجایی که اصولاً داروهای موثر بر کته تراشه ای بر کته واروا نیز موثر است، ترکیبات فوق می توانند اثر کشنده روی کته واروا نیز داشته باشند. شاددل و همکاران (۱۳۸۷) در بررسی تاثیر چند عصاره گیاهی از جمله عصاره آویشن (دارای ماده موثره تیمول) بر کنترل کته واروا، تاثیر معنی داری را مشاهده نمودند (شاددل و همکاران، ۱۳۸۷). ترکیبات منوترپنئیدی از قبیل کارواکرول، تیمول، منتول و کامفور و اکالیپتوس که به طور عمده در اسانس گیاهان مختلف مشاهده می شود می تواند اثرات کشندگی مطلوبی در کته وارو داشته باشد (قاسمی و همکاران، ۱۳۹۲). بر اساس نتایج آزمایش های Ruffinengo و همکاران (۲۰۰۷)، ۱۰ میلی- گرم از محلول امولسیون ۳، ۴ و ۵ درصد اسانس سه گیاه گل جعفری آمریکایی، پونه کوهی و اکالیپتوس باعث مرگ و میر بین

⁷ Apilife Var® and Thymovar®

⁶ Acarapis woodi Rennie

شد، میزان کارایی بالایی برای این ترکیب (۷۴ درصد در یک بار و ۹۸ درصد در دو بار استفاده) گزارش گردید که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد.

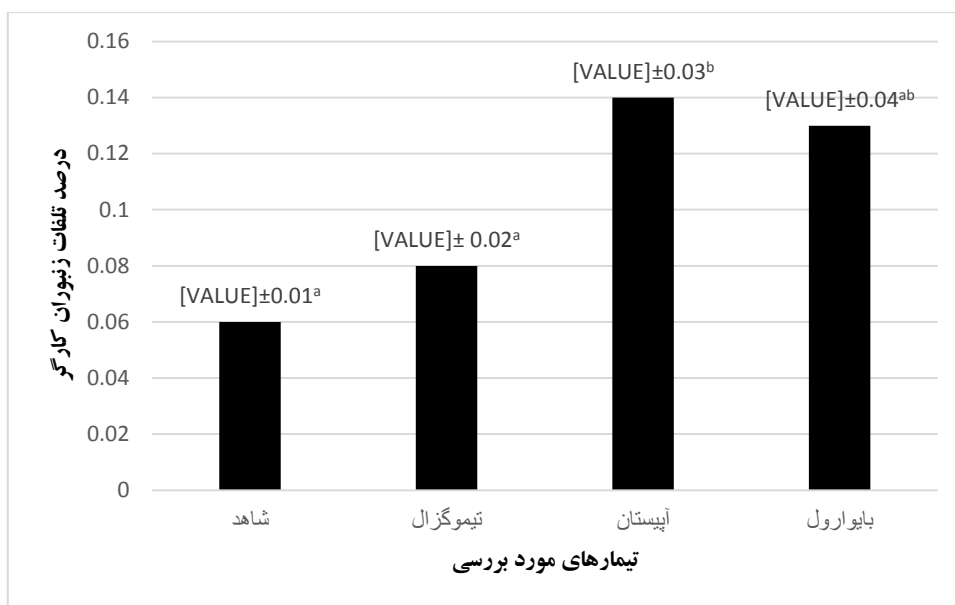
تجزیه کوواریانس تاثیر تیمارهای مورد بررسی روی تلفات زنبورها

نتایج تجزیه کوواریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر میزان تلفات زنبورها در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج حاصله، بیانگر اختلاف معنی دار بین تیمارهای مورد بررسی است. اثر آلودگی اولیه کلنی-ها (صفت همبسته) بر صفت مورد بررسی (تلفات زنبوران) معنی-دار نبود. مقایسه میانگین‌های تصحیح شده میزان تلفات زنبورها در تیمارهای مختلف در نمودار ۲ نشان داده شده است. کمترین میزان تلفات زنبوران بالغ در تیمارهای شاهد و تیموگزال با میزان تلفات به ترتیب، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ درصد مشاهده شد که تفاوت معنی داری با هم نداشتند ($p\text{-value}=0/72$). بیشترین تلفات زنبوران کارگر نیز در تیمار آپستان (۰/۱۴ درصد) مشاهده شد که تفاوت معنی-داری با دو تیمار شاهد ($p\text{-value}=0/02$) و تیموگزال ($p\text{-value}=0/04$) نشان داد.

تلفات زنبوران کارگر در تیمار تیموگزال تنها اندکی بیشتر از تیمار شاهد (حدود ۰/۰۲ درصد) بود که البته این تفاوت معنی دار نبود ($p\text{-value}=0/717$). این میزان تلفات در کلنی‌های زنبورعسل طبیعی است و می‌تواند ناشی از عوامل دیگری مانند پیری زنبوران کارگر باشد. تلفات کارگران در تیمار بایوارول ۰/۱۳ درصد بدست آمد که بالاتر از تیمار تیموگزال بود ولی به لحاظ آماری معنی دار نشد ($p\text{-value}=0/18$).

Orsi, ۲۰۱۲). براساس یافته‌های Mahmood و همکاران (۲۰۱۲) اثر اسید اگزالیکیک با غلظت ۲/۳ درصد در کنترل کنه واروا اثربخشی بالاتری نسبت به نوار کنه کش بایوارول (فلومتترین) و اسید فرمیک دارد. Gunez و همکاران (۲۰۱۷)، در بررسی تاثیر داروهای طبیعی مانند اسید فرمیک، اسید اگزالیکیک، تیمول و منتول بر کنه واروا، بیشترین تاثیر را در تیمار اسید فرمیک ۸۵ درصد و سپس اسید اگزالیکیک گزارش نمودند. در تحقیقی مقایسه تاثیر کنه کشی روغن‌های گیاهی و اسید اگزالیکیک به سه صورت ذرات نانو (پودری)، دود (تصعید) اسید اگزالیکیک و ترکیب اسید اگزالیکیک و گلیسرین انجام شد و مؤثرترین کنه کشی در گرد نانوذرات اسید اگزالیکیک با ۹۶/۶ درصد و ترکیب اسید اگزالیکیک و گلیسرین با تاثیر ۹۲/۴ درصد مشاهده شد (Sabahi و همکاران، ۲۰۱۷). در پژوهش ملکی و همکاران (۱۴۰۲) با هدف مقایسه سطوح مختلف اسید فرمیک و اگزالیکیک، ضمن معرفی اسید اگزالیکیک ۴/۵ درصد به عنوان مناسب‌ترین تیمار جهت کنترل کنه واروا (با کمترین تلفات در زنبوران عسل)، اثر کنه کشی اسید اگزالیکیک (۴/۵ درصد) ۸۱/۶۴ درصد گزارش شد (ملکی و همکاران، ۱۴۰۲). نتایج پژوهش حاضر با پژوهش‌های مذکور همخوانی دارد.

در تمام پژوهش‌های ذکر شده اسانس‌های مورد مطالعه یا به صورت جدا و یا با چندین اسانس دیگر و نیز تاثیر اسید اگزالیکیک بر روی کنه کشی زنبوران به صورت جداگانه مورد آزمایش قرار گرفته است. در پژوهش Toomemaa و همکاران (۲۰۱۸) که بر روی ترکیب دارویی اسید اگزالیکیک و تیمول (بصورت محلول آبی) و با هدف بررسی اثر هم‌افزایی این دو ترکیب دارویی انجام



نمودار ۲: مقایسه میانگین درصد تلفات زنبورها در تیمارهای آزمایشی به روش توکی

بالای آنزیم هایی که در غیر سمی کردن مواد سمی داده شده به بدن نقش دارند، از جمله عوامل کلیدی در متحمل بودن یک حشره به یک عامل سمی است (Javvi و همکاران، ۲۰۰۵). به-طور کلی، زنبور عسل نسبت به کنه واروا از تحمل بیشتری در برابر اسانس های گیاهی مورد مطالعه دارد؛ ولی در صورت افزایش غلظت اسانس، تلفات کارگران نیز به یکباره افزایش می یابد (Ruffinengo و همکاران، ۲۰۰۷). در بررسی Imdorf و همکاران (۱۹۹۵) غلظت ۵-۱۵ میکروگرم تیمول، ۵۰-۱۵۰ میکروگرم کامفور و ۲۰-۶۰ میکروگرم منتول در هر لیتر هوا بدون داشتن مرگ و میر در زنبوران عسل، باعث از بین رفتن حدود ۱۰۰٪ کنه ها شده است. همچنین رحیمی و همکاران (۲۰۱۷) ضمن گزارش تاثیر معنی دار عصاره آویشن بر کنترل کنه واروا، تاثیر معنی داری را بر تلفات زنبوران کارگر مشاهده نکردند (Rahimi و همکاران، ۲۰۱۷).

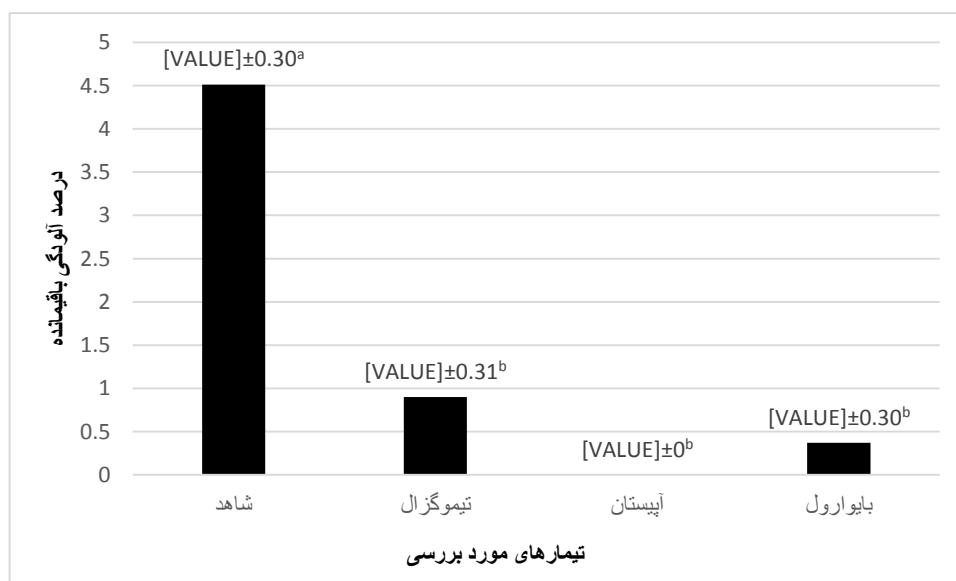
نتایج بررسی های آزمایشگاهی Ghasemi و همکاران (۲۰۱۷) نیز نشان داد که زنبوران عسل در مقایسه با کنه واروا نسبت به اسانس ها و سمیت آن ها مقاومت بیشتری دارند که دلیل آن وجود کیسه های هوایی در داخل بدن است که امکان عمل تهویه بیشتر را برای زنبور عسل فراهم می کند (Ghasemi و همکاران، ۲۰۱۷).

Adjlane و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی اثرات غلظت های مختلف اسید اگزالیک پرداختند به این نتیجه رسیدند که اگرچه محلول ۱۰۰ گرم اسید اگزالیک در یک لیتر شربت ساکارز بهترین کارایی را در از بین بردن کنه داشت و دزهای ۷۵ گرم و ۵۰ گرم در درجه های بعدی اهمیت قرار گرفتند ولی غلظت بالای این اسید منجر به تلفات بالایی در خود زنبوران عسل شد و باعث کاهش تولید و استرس زیاد در کلنی ها گردید. نهایتاً این محققان به این نتیجه رسیده اند که استفاده از دز ۷۵ گرم اسید اگزالیک در یک لیتر شربت شیرین به صورت قطره چکانی یا اسپری بهترین نتیجه را در کنترل کنه ها و کمترین اثر مرگ و میر را روی زنبوران عسل دارد (Adjlane و همکاران، ۲۰۱۶). بنابراین، با توجه به تلفات بسیار کم زنبوران کارگر در پژوهش حاضر بنظر می رسد غلظت اگزالیک اسید استفاده شده در تیموگزال غلظت مناسبی است. بعضی از گیاهان دارویی اثر بسیار کشنده ای بر زنبوران کارگر دارند. ولی برخی دیگر، از جمله تیمول، منتول و کارواکرول، در غلظت های پایین، تنها روی کنه واروا اثرگذار هستند. البته با بالا رفتن غلظت این ترکیبات، اثرات کشندگی آنها روی زنبوران عسل نیز ظاهر می شود. نتایج تحقیقات نشان می دهد فاکتورهایی از قبیل جثه بزرگتر و وزن بیشتر بدن، میزان اجسام چربی و فعالیت

زنبوران کارگر، جایگزین مناسبی برای کنه‌کش‌های شیمیایی در کلنی‌های زنبوران عسل باشد.

تجزیه کوواریانس میزان آلودگی باقیمانده کنه در تیمارهای آزمایشی

براساس نتایج تجزیه کوواریانس ارائه شده در جدول ۱، تیمارهای مورد بررسی از لحاظ درصد آلودگی باقیمانده کنه‌واروآ در کلنی‌ها پس از اجرای آزمایش تفاوت معنی‌داری داشتند. اثر آلودگی اولیه کلنی‌ها (صفت همبسته) نیز بر صفت مورد بررسی (درصد آلودگی باقیمانده کلنی‌ها پس از آزمایش) معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌های تصحیح شده میزان آلودگی باقیمانده در تیمارهای مختلف در نمودار ۳ ارائه شده است. با توجه به نتایج حاصله، تیمار شاهد با هر سه تیمار تیموگزال، آپستان و بایوارول تفاوت معنی‌داری داشت ($p\text{-value} < 0.0001$). سه تیمار دارویی از لحاظ این صفت، تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند و هر سه، برتر از تیمار شاهد بودند. به عبارت دیگر، تیمار تیموگزال توانست همانند تیمارهای آپستان و بایوارول آلودگی به کنه را کنترل نماید.

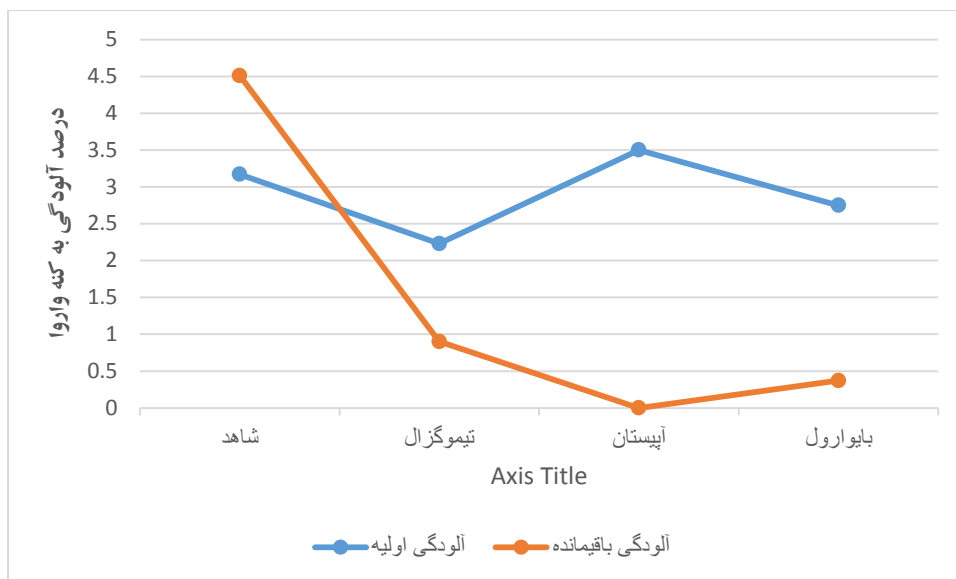


نمودار ۳: مقایسه میانگین درصد آلودگی باقیمانده کنه‌ها در کلنی‌ها پس از اجرای آزمایش به روش توکی

Glavan و همکاران (۲۰۲۰) بررسی جامعی را در خصوص اثرات کشنده تیمول و کارواکرول انجام دادند. در این بررسی این دو اسانس در غلظت ۰/۰۵ درصد و کمتر، تلفات کمتر از ۱۰ درصد را در کارگران ایجاد نمودند. با افزایش غلظت به ۰/۵ درصد، تلفات کارگران به ۲۰ درصد افزایش یافت. در غلظت ۱ درصد تیمول، تلفات ۴۵ درصدی در زنبوران مشاهده شد. غلظت ۵ درصد کارواکرول باعث مرگ و میر صد درصدی زنبوران عسل گردید (Glavan و همکاران، ۲۰۲۰). نتایج این پژوهش‌ها با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارند. همچنین با توجه به تلفات بسیار کم در تیمار تیموگزال، بنظر می‌رسد غلظت‌های استفاده شده در این ترکیب بطور صحیح انتخاب شده است. با بررسی نتایج مطالعات مذکور و نیز نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد استفاده از مخلوط اسانس‌ها و عصاره‌های ترکیبات گیاهی و اسیدهای آلی در غلظت‌های مناسب، به دلیل طبیعی بودن، سازگار بودن و همچنین نداشتن محدودیت زمان مصرف (بدلیل نداشتن باقیمانده در تولیدات کلنی) و مهمتر از همه تلفات کمتر در

یافته و به زیر یک درصد رسیده است ولی در تیمار شاهد میزان آلودگی با افزایش حدود ۱/۵ درصدی همراه بوده است.

مقایسه آلودگی اولیه با آلودگی باقیمانده در تیمارهای مختلف در نمودار ۴ انجام شده است. همان طور که در این نمودار مشاهده می شود میزان آلودگی در هر سه تیمار دارای کنه کش کاهش



نمودار ۴: مقایسه میزان آلودگی اولیه و آلودگی باقیمانده در تیمارهای مورد بررسی

کند و می باشد. در مقایسه تأثیر کنه کشی روغن های گیاهی و پودر نانو ذرات اسید اگزالیك در دو هفته اول ۸۵ درصد کنه ها تلف شدند و در هفته های بعدی تلفات کنه به ۹۶/۶ درصد رسید. قابل ذکر است دما عامل مهم در تبخیر سریع ترکیبات کنه کشی با اسیدهای آلی می باشد و سرعت ریزش کنه را افزایش و آلودگی باقیمانده را کاهش می دهد (Sabahi و همکاران، ۲۰۲۰). در پژوهش ملکی و همکاران (۱۴۰۲) به منظور مقایسه تأثیر کنه کشی اسید فرمیک و اسید اگزالیك، میزان آلودگی باقی مانده در تیمار اسید اگزالیك ۴/۵ درصد برابر با ۲/۰۶ درصد و کمتر از تیمارهای دیگر (اسید اگزالیك ۳/۵ و ۲/۵ درصد) بدست آمد (ملکی و همکاران، ۱۴۰۲). در پژوهش حاضر، میزان آلودگی باقی مانده در تیمار تیموگزال ۰/۶۱ درصد برآورد گردید. به عبارت دیگر عملکرد تیموگزال که ترکیبی از اسانس های گیاهی و اسید اگزالیك است، بهتر از اسید اگزالیك (به تنهایی) بوده است. با مقایسه نتایج پژوهش های قبلی و پژوهش حاضر، بطور کلی به نظر می رسد ترکیب اسانس های گیاهی مورد استفاده در پژوهش

معمولا کنترل کامل میزان آلودگی در کلنی ها امکان پذیر نیست. در حقیقت، به خاطر رفتار چراگری در زنبورهای عسل، زنبورداران به طور صد درصد نمی توانند کنه واروا را در کلنی های خود کنترل کنند. توصیه هایی مبنی بر کنترل مداوم و ماهانه جمعیت کنه با روش هایی مانند پاشیدن شربت شکر یا پودر شکر بر روی زنبوران عسل و یا با اسانس تیمول در موارد شدید بویژه در طول پاییز و یا با استفاده از اسید اگزالیك و اسید فرمیک و یا استفاده از مواد شیمیایی البته به غیر از فصل عسل ارائه شده است (Abou-Shaara و همکاران، ۲۰۱۴). در واقع ترکیب چهار ماده موثر بر کنترل کنه (سه اسانس گیاه دارویی و نیز اسید اگزالیك) در غلظت های مناسب در پژوهش حاضر توانست جمعیت کنه را همانند داروهای شیمیایی در کلنی ها کنترل نماید. قابل ذکر است استفاده از کندوهای کف باز و مخصوصا کندوهای کف باز استاندارد با تقویت رفتار بهداشتی زنبور عسل به واسطه بیرون افتادن کنه ها از کندو و عدم امکان برگشت به کندو خود عامل مهمی در جهت کاهش آلودگی باقیمانده در

- Abou-Shaara, H.F. (2014). Continuous management of Varroa Mite in honey bee, *Apis mellifera*, colonies. *Acarina*. 22(2):149-156.
- Ahmad, K.J., Razzaq, A., Abbasi, K.H., Shafiq, M., Saleem, M. and Arshadullah, M. 2013. Thymol as control agent of mites (*Varroa destructor*) on honeybees (*Apis mellifera*). *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 26 (4): 316-320.
- Allam, S.F.M., Hassan, M.F., Risk, M.A., & Zaki, A, U. 2003. Utilization of essential oils and chemical, substances alone or in combination against *Varroa* mite (*Varroa destructor*), a parasite of honeybees. *Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes*, 26(1), PP: 273-278.
- Al Toufalia, H., Scandian, L., & Ratnieks, F. L. W. (2015). Towards integrated control of varroa: 2) comparing application methods and doses of oxalic acid on the mortality of phoretic *Varroa destructor* mites and their honey bee hosts. *Journal of Apicultural Research*, 54(2), 108-120. <https://doi.org/10.1080/00218839.2015.1106777>
- Ariana, A., Ebadi, R., & Tahmasebi, G.H. (2002). Laboratory evaluation of some plant essences to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Experimental and Applied Acarology*, 27(4), 319-327. <https://doi.org/10.1023/a:1023342118549>
- Chauhan, A., Dabhi, M., & Patnaik, R. (2021). Review on *Varroa* mite: An invasive threat to apiculture industry. *J. Entomol. Zool. Stud*, 9, 535-539.
- Colin, M. E., Ciavarella, F., Otero-Colina, G. & Beizunces, L. P. (1994) A method for characterizing the biological activity of essential oil against *Varroa jacobsoni*. pp. 109-114 in Matheson, A. (Ed.) *New perspectives on varroa*. 164 pp. International Bee Research Association, Cardiff, United Kingdom.
- Castagnino, G.L.B. and Orsi, R.O. 2012. Natural products for the control of the mite *Varroa destructor* in Africanized bee. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 47 (6): 738-744.
- Delaplane, K.S., Van der Steen, J., & Guzmán-Novoa, E. 2013. Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apiculture Science*, 52, PP: 1-12.

حاضر و اسیدهای آلی در غلظت‌های مناسب، بدلیل اثرگذاری بالا بر روی کنه‌ها و نداشتن محدودیت زمان مصرف (به دلیل عدم وجود باقیمانده در عسل و سایر فرآورده‌ها) می‌تواند به مرور منجر به کاهش آلودگی کلنی‌ها به کنه شود. در مقابل، محدودیت زمانی استفاده از کنه‌کش‌های شیمیایی در سال باعث بیشتر شدن آلودگی باقیمانده در کلنی‌ها می‌شود.

منابع

- رحیمی، ع، بهمنی، ح، مهدوی، و. ۱۴۰۳. بررسی تأثیر فعالیت کنه کشی و حشره کشی عصاره گیاهان هنگوان (*Ferola pseudalliacea*)، مزره سهندی (*Satureja sahendica*)، ییلهر (*Myrnapsis aucheri*)، لوگنه (*Prangos ferulacea*) برای کنترل کنه‌واروآ در کلنی‌های زنبورعسل. پژوهش‌های تولیدات دامی. (پذیرش، در نوبت چاپ).
- شاددل تیلی، ع، ماهری، س، سیس، ن، آقاجانزاده گلشنی، ا، اسعدی دیزجی، ا، احمدزاده، ا. (۱۳۸۷). بررسی اثر استفاده از گیاهان توتون، اسپند و آویشن کوهی در کنترل کنه واروآ زنبور عسل. بوم شناسی گیاهان زراعی. ۴(۱۰): ۶۷-۷۲.
- عبدالله پور، ع، شاددل تلی، ع. ۱۳۹۷. بررسی امکان استفاده از اسید استیک و اسید اگزالیک در کنترل کنه واروآ زنبورعسل، همایش ملی فرآورده‌های زنبورعسل از منظر زیست شناسی، سلامت و اقتصاد، اردیبهشت ۱۳۹۷، صفحه ۱-۱۵.
- <https://civilica.com/doc/909574>
- قاسمی، و، محرمی‌پور، س، طهماسبی، غ. (۱۳۹۲). تأثیر اسانس پونه کوهی (*Mentha longifolia L.*) بر روی سرعت مرگ و میر کنه واروآ (*Varroa destructor* (Acari: Varroidae) زنبور عسل اروپایی (*Apis mellifera* (Hym.: Apidae)). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۹(۱): ۲۵-۳۴.
- ملکی، م، سپهری، ر، رحیمی، ع. ۱۴۰۲. تأثیر غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک و اسید فرمیک روی کنترل کنه واروآ (*Varroa destructor*) در کلنی‌های زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera meda*). نشریه علوم دامی. ۱۴۰: ۶۹-۸۲. <https://doi.org/10.22092/ ASJ.2022.360179.2260>
- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology*, 18, PP: 265-267.

- Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S.J., Anderson, D.L., Locke, B., Delaplane, K.S., Wauquiez, Q., Tannahill, C., Frey, E., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P., & Ellis, J.D. 2013. Standard methods for Varroa research. In: Dietemann, V., Ellis, J.D., Neumann, P. (Eds) The COLOSS BEEBOOK, volume II: standard methods for Apis mellifera pest and pathogen research. Journal Apiculture Research, 52 (1), PP: 1-54.
- Ellis, M. D. & Baxendale, F. P. (1997) Toxicity of seven monoterpenoids to tracheal mites (Acari: Tarsonomidae) and their honey bee (Hymenoptera: Apidae) hosts when applied as fumigants. *Journal of Economic Entomology* 90(5), 1087-1091.
- Ghasemi, V., Moharramipour, S., & Tahmasbi, G.H. (2017). Laboratory cage studies on the efficacy of some medicinal plant essential oils for controlling varroosis in Apis mellifera (Hym.: Apidae). *Systematic and Applied Acarology*, 21(12), 1681-1692. <https://doi.org/10.11158/saa.21.12.9>
- Ghasemi, V., Moharramipour, S., & Tahmasbi, G.H. (2011) Biological activity of some plant essential oils against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), an ectoparasitic mite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Experimental and Applied Acarology*, 55(2), 147-154. <https://doi.org/10.1007/s10493-011-9457-1>
- Glavan, G., Novak, S., Božič, J. and Kokalj, A.J., 2020. Comparison of sublethal effects of natural acaricides carvacrol and thymol on honeybees. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 166, p.104567. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104567>
- Gregorc, A., Sampson, B. (2019). Diagnosis of Varroa Mite (*Varroa destructor*) and Sustainable Control in Honey Bee (*Apis mellifera*) Colonies—A Review. *Diversity* 2019, 11, 243.
- Gunes, N., Nazmiye, A., Levent, B., Deniz, H., John, M., Sami, S. (2017). Stress responses of honey bees to organic acid and essential oil treatments against varroa mites. *Journal of Apicultural Research*, 56. 175-181.
- Hýbl, Marian, Andrea Bohatá, Iva Rádsetoulalová, Marek Kopecký, Irena Hoštičková, Alena Vaníčková, and Petr Mráz. 2021. "Evaluating the Efficacy of 30 Different Essential Oils against *Varroa destructor* and Honey Bee Workers (*Apis mellifera*)" *Insects* 12, no. 11: 1045. <https://doi.org/10.3390/insects12111045>
- Imdorf, A., Bogdanov, S., Ochoa, R.I., & Calderone, N.W. (1999). Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidologie*, 30, 209–228. doi:10.1051/apido:19990210
- Isman, M.B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*. 19: 8-10.
- Javvi, E., Safar Alizadeh, M. H. & Pourmirza, A. A. (2005) Studies on the effect of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* on different larval instars of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), and the role of synergists in enhancement of it's efficiency under laboratory conditions. *Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources* 8(4), 187-199.
- Kotwal, S., & Abrol, D. P. (2013). Evaluation of essential oils and cultural practices for the management of *Varroa destructor*. *The bioscan*, 8(1), 15-20.
- Mahmood, R., Asad, A., Moshin, A., Wagchoure, E., Sarwar, G., Islam, N., & Ahmad, W. (2014). Control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) by using Plant Oils and Extract. *Pakistan Journal Zoology*, 43(3): 609-615.
- Maggi, M.D., Damiani, N., Ruffinengo, S.R., Brasesco, M.C., Szawarski, N., Mitton, G., et al. (2017). The susceptibility of *Varroa destructor* against oxalic acid: A study case. *Bulletin of Insectology*, 70, 39–44.
- Mahmood, R., Wagchoure, E.S., Raja, S. and Sarwar, G. 2012. Control of *Varroa destructor* using Oxalic acid, Formic acid and Bayvarol strip in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Pakistan Journal of Zoology*, 44 (6): 1473–1477.
- Mary F., C. and Breen j. 2013. Efficacy of Apilife Var® and Thymovar® against *Varroa destructor* as an autumn treatment in a cool climate, *Journal of Apicultural Research*, 52:5, 210-218.
- Mattos De., Soares I.M., A.E.E., Tarpy, D.R. 2017. Effects of synthetic acaricides on honey bee grooming behavior against the parasitic *Varroa*

- destrucor mite. *Apidologie*, 48(4):483-494.
- Mullin, C.A., Frazier, M., Frazier, J.L., Ashcraft, S., Simonds, R., vanEngelsdorp, D., & Pettis, J.S. (2010). High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: Implications for honey bee health. *PloS One*, 5 (3), e9754. doi:10.137/journal.pone.0009754
- Rahimi, A., Khoam Del, Y., & Moradpour, F. (2017). The effect of thyme (*Thymus caucasicus*) ethanol extract on Varroa mite (*Varroa destructor*), an ectoparasite mite of *Apis mellifera* meda (Hym: Apidae). *Biologija*, 63(2).
- Rahimi, A. & Parichehreh, SH. 2024. Evaluation of a new plant-based formulation to control Varroa mite (*Varroa destructor*) in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Entomology Society of Iran*. 44 (4): 417–428.
- Ramsey, S.D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J.D., Mowery, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J.M., Ellis, J.D., Hawthorne, D., & VanEngelsdorp, D. 2021. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *PNAS Latest Articles*, PP: 1-10.
- Ruffinengo, S., Maggi, M., Faverin, C., Rosa, S.B.G., Bailac, P., Principal, J. and Eguaras, M. (2007). essential oils toxicity related to *Varroa destructor* and *Apis mellifera* under laboratory conditions. *Zootecnia Tropical*. 25(1): 63-69.
- Sabahi, Q., Gashout, H., Kelly, P.G., & Guzman-Nonoa, E. (2017). Continuous release of oregano oil effectively and safely controls *Varroa destructor* infestations in honey bee colonies in a northern climate. *Experimental and Applied Acarology*, 72, 263-275. <https://doi.org/10.1007/s10493-017-0157-3>
- Toomemaa K, Martin AJ, Mand M, Williams IH. Using oxalic acid in water solution in control of *Varroa* mites and its influence on honey bees. *Agronomy Research*. 2010;8(2):345-350.
- Wallner K. 1999. Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie*. 30: 235-248.