

ارزیابی تاثیر یک ترکیب بر پایه اسانس های گیاهی و اسیدازالیک بر کنترل کنه واروآ (*Varroa destructor*) در کلنی های زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera meda*)

حمیدرضا کرمی^۱، رحیمه سپهری^{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 زنبورعسل، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج، ایران

۴- دکترای تخصصی حشره شناسی، سازمان جهاد کشاورزی استان زنجان

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۶۴۱۸۲۸۸، پست الکترونیکی: sepehri_r@znu.ac.ir

**Evaluation of the effect of a compound based on plant essential oils and oxalic acid in
controlling Varroa mite (*Varroa destructor*) in Iranian honeybee (*Apis mellifera meda*)
colonies**

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: sepehri_r@znu.ac.ir

ارزیابی تاثیر یک ترکیب گیاهی بر پایه اسانس‌های گیاهی و اسید اگزالیک بر کنترل کنه واروآ (*Varroa destructor*) در کلنی‌های زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera meda*)

چکیده:

در پژوهش حاضر، تاثیر یک ترکیب گیاهی شامل اسانس‌های آویشن، نعناع، مرزه و اسید اگزالیک، با نام تیموگزال، بر کنترل کنه واروآ و مقایسه آن با کنه کش‌های شیمیایی آپستان و بایوارول (به عنوان کنترل مثبت) و شاهد (به عنوان کنترل منفی) بررسی شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۶ تکرار انجام شد. قبل از اجرای آزمایش، اندازه گیری آلودگی اولیه کلنی‌ها انجام و به عنوان 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 به روش توکی در نرم‌افزار آماری SAS (V.9.4) انجام شد. نتایج حاصله، تلفات ۸۲/۴۰ درصدی کنه واروآ 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) به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار تیموگزال و شاهد بود. میزان آلودگی باقیمانده در تیمار تیموگزال (۰/۹ درصد) بطور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد (۴/۵۱ درصد) بود ولی با دو تیمار آپستان و بایوارول تفاوت معنی‌داری نداشت. با توجه به تاثیر 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 کنه کش‌های شیمیایی شود.

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

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*) colonies

¹ Co-variate

Abstract:

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

یکی از مشکلات عمده در پرورش زنبورعسل (*Apis mellifera* L.) مبارزه با کنه واروا است. کنه واروا (*Acari: Varroidae*) (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 زنبورعسل می باشد و در همه مراحل رشد خود از همولنف و بافت چربی زنبوران کارگر و نر تغذیه نموده و منجر به اختلالات 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 مرگ و میر 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 زنبورعسل تغذیه می کند (Ramsey و همکاران، ۲۰۲۱). تغذیه کنه از زنبورعسل بالغ، چه نر باشد چه ماده، اکثراً باعث مرگ مستقیم نمی شود ولی باعث تضعیف شدید، نداشتن قوه پرواز و کم شدن عمر زنبورعسل می شود. همچنین به شدت سیستم ایمنی زنبورعسل را تحلیل و کاهش می دهد و در نهایت با کمترین تنش سرمایی و گرمایی، بیماری و استرس باعث تلفات شدید و گسترده می شود. در زنبورهای کارگر تأثیر مستقیم کنه 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... می شود. علاوه بر این تأثیرات، با تغذیه بعضی از عوامل بیماری زا مانند ویروس ها و انتقال آن ها به زنبور عسل باعث بیماری زایی در کلنی -

ها 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 بای‌وارول، آپستان، آپی‌گارد، آمیتراز، کومافوس و فولبکس بوده‌اند که در ابتدا تا حدود زیادی موفق به کنترل جمعیت کنه‌واروای کلنی‌ها شدند (عبداله‌پور و شاددل، ۱۳۹۷، Rahimi and Parichehreh, 2024). ولی استفاده بیش از حد از آن‌ها علاوه بر افزایش هزینه‌های اقتصادی پرورش دهنده، منجر به بروز مقاومت در کنه‌وارو 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 کنه‌واروآ، 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 کنه 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 کنه و نیز تقویت رفتار بهداشتی^۲ و نظافت‌گری^۳ صورت گرفته و گام‌های مهمی برداشته شده است (Imdorf و همکاران، ۱۹۹۹). به موازات آن، استفاده از مواد بیولوژیکی مانند ترکیبات بدست‌آمده از گیاهان دارویی نظیر نعنای، پونه، آویشن، فلفل، کاسنی، توتون، اسپند و غیره و نیز اسیدهای آلی مورد بررسی قرار گرفته‌است (Ariana و همکاران، ۲۰۰۲؛ عبدالله‌پور 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 Parichehreh، ۲۰۲۴). در خصوص مکانیسم اثر اسیدهای آلی مطالعات زیادی انجام نشده است ولی Al Toufailia و همکاران (۲۰۱۵) اشاره کرده‌اند که این اسیدها با آسیب رساندن به قطعات دهانی کنه‌ها و نیز تحریک زنبوران کارگر به رفتار نظافت‌گری سبب جدا شدن کنه‌ها 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 کنه‌واروآ داشته‌اند (عبدالله‌پور 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 کنه دارد. در کنترل کنه‌واروآ 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).

^۲ Hygienic behaviour

^۳ Grooming behaviour

اهمیت استفاده از ترکیبات گیاهی در مبارزه با کنه واروا 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 زنبورعسل، موجودات غیر هدف و محیط زیست برای کنترل کنه‌واروآ 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^۴، منتول^۵ و کارواکرول^۶ 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، به میزان قابل توجهی کنه‌واروآ را کنترل نمود (Rahimi و همکاران، ۲۰۱۷). در بررسی تأثیر ۳۰ اسانس گیاهی مختلف بر کنه واروا 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).

⁴ Thymol⁵ Menthol⁶ Carvacrol

در مطالعاتی که تاکنون انجام شده است، عمدتاً کاربرد اسانس‌ها، عصاره‌ها، ترکیبات گیاهی، اسیدها و غیره در کنترل کنه 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 مونوترپنوئیدهای دیگر است و یا وارااستاپ (varrstop) 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 عسل داشتند. در بازه زمانی پژوهش، هر یک از کلنی‌ها با یک کیلو خمیر شیرین غنی شده تغذیه شدند. لازم به‌ذکر است در زمان اجرای پژوهش، در کندوها به جز آلودگی به کنه واروآ هیچگونه علائم بالینی به بیماری‌های دیگر میکروبی و ... وجود نداشت و همه کلنی‌ها از یک قاب ذخیره عسل و گرده برخوردار بودند.

قابل ذکر است در این پژوهش، از کندوهای استاندارد و کف‌باز ساخت شرکت هفت گوهر استفاده شد. برای ارزیابی کنه‌کشی و شمارش کنه‌های تلف شده در زیر کفی‌های 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 کفی‌ها به گونه‌ای می‌باشد که در اثر وزش باد کنه‌ها به بیرون ریخته نشوند (شکل ۱).



شکل ۱: سمت راست: کفی مخصوص شمارش کنه‌های تلف شده در کلنی‌های تحت بررسی و سمت چپ: جایگذاری کفی‌های زیرین در زیر کندوهای کف باز استفاده شده در آزمایش

همچنین، قبل از اعمال تیمارها، میزان آلودگی اولیه کلنی‌ها به کنه‌واروآ با استفاده از دستورالعمل Dietemann و همکاران (۲۰۱۳) بررسی شد. برای اینکار به تعداد کلنی‌ها (۲۴ عدد) ظرف شیشه‌ای تهیه نموده و شماره کلنی‌ها روی آنها درج شد. سپس از هر کلنی حدود ۱۰۰ عدد زنبور از روی شان‌های نوزادان برداشته و به ظرف شیشه‌ای 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 کنه‌های موجود در روی آنها از هم جدا می‌شوند. اکثر اوقات کنه‌ها در زیر و زنبورها بالا جمع می‌شوند. در این مرحله، با دقت و به آرامی محتویات ظرف نمونه‌گیری روی یک کاغذ سفید یا پارچه کتانی سفید ریخته شد. کنه‌های 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 زنبورهای خیس خشک شوند تا اگر کنه مرده‌ای 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 کلنی‌ها از تقسیم تعداد کنه‌ها بر تعداد زنبوران برداشته شده از هر کلنی محاسبه شد. با توجه به متفاوت بودن داده‌های بدست آمده برای این متغیر در کلنی‌های مورد استفاده در پژوهش و ماهیت پیوسته آن (عدم امکان گروه‌بندی در آن)، با کووریت قرار دادن آن در مدل آماری آنالیز داده‌ها، داده‌های مورد بررسی نسبت به این متغیر تصحیح شدند.

نحوی 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 تیمول)، مرزه خوزستانی (حاوی ۱۸۰۰ میلیگرم کارواکرول) که از شرکت طبیب دارو تهیه شد و اسید اگزالیک (۴۷۰۰ میلی گرم) و در دو تیمار بعدی از داروهای کنه کش رایج: آپستان (حاوی ۸۲۴ میلی گرم فلووالینات) بعنوان تیمار سوم و بای وارول (حاوی ۳/۶ میلی گرم فلو مترین) بعنوان تیمار چهارم استفاده شد. نحوه تجویز داروهای کنه کش طبق دستور شرکت تولید کننده انجام شد. داروی تیموگزال تهیه شده در پژوهش حاضر بصورت نواری بوده و هر نوار برای سه قاب جمعیت در نظر گرفته شده است. بنابراین به ازای هر کندوی ۶ قاب (کلنی های مورد بررسی در این پژوهش) 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 بایوارول

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



شکل ۳: کنه‌های تلف شده و ریخته شده در کفی زیرین

فرمول ۱:

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

فرمول ۲:

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

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

آنالیز آماری داده‌ها

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 منظور بررسی اثر تصادفی ملکه (کندو)، این عامل نیز به مدل اضافه

شد. در نهایت، تجزیه کوواریانس داده‌های 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.

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

در این مدل:

Y_{ijk}	مشاهده مربوط به تیمار i ام در کندوی j ام (مقدار صفت مورد بررسی)
μ	میانگین مشاهدات در هر صفت
$Treat_i$	اثر تیمار i ام
$\beta(X_{ij} - \bar{X})$	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 k 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 اسیدآگزالیک که در این تحقیق " تیموگزال " نام گذاری شد) در مقایسه با تیمار شاهد (به عنوان کنترل منفی) و تیمارهای آپستان و بایوارول (به عنوان کنترل مثبت) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان آلودگی باقیمانده کلنی‌ها پس از اجرای آزمایش در تیمارهای آزمایشی ارزیابی شد.

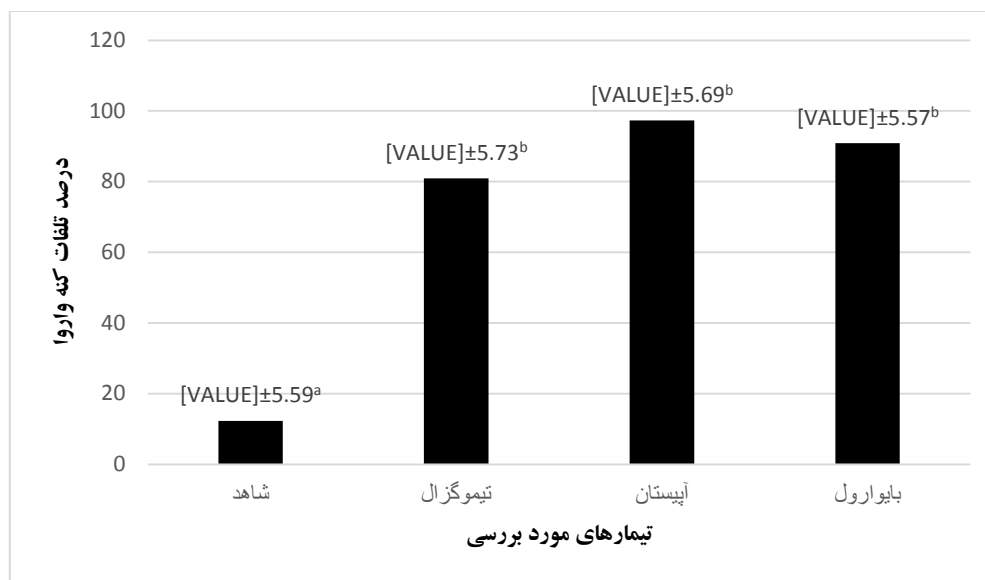
تجزیه کوواریانس

تجزیه کوواریانس تاثیر تیمارهای مورد بررسی روی تلفات کنه‌ی واروآ

نتایج تجزیه کوواریانس درصد تلفات کنه در تیمارهای آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است. براساس نتایج بدست آمده، اختلاف معنی داری بین درصد تلفات کنه‌ها در تیمارهای آزمایشی مشاهده شد. اثر آلودگی اولیه (کووریت) نیز بر میزان تلفات کنه معنی دار شد. نتایج مقایسه میانگین درصد تلفات کنه در تیمارهای آزمایشی به-روش 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 (به ترتیب ۹۷/۳۴ و ۹۰/۸۹ درصد) بود ولی این تفاوت معنی دار نبود. میزان تلفات کنه در تیمار شاهد ۱۲/۳۱ درصد بود که تفاوت بسیار معنی-داری با سه تیمار دیگر داشت.

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 واروا (درصد)	تیمار	۳	۷۹۴۲/۲۷	۳۹۵/۶۹	<۰/۰۰۰۱
	صفه همبسته (آلودگی اولیه)	۱	۱۷۲/۸۷	۸/۶۱	۰/۰۰۸۵
	اشتباه آزمایشی	۱۹	۲۰/۰۷		CV=۵/۸۲
میزان تلفات زنبوران کارگر (تعداد)	تیمارهای آزمایشی	۳	۰/۰۲۶	۶/۷۲	۰/۰۰۲۸
	صفه همبسته (آلودگی اولیه)	۱	۰/۰۰۲	۰/۶۴	۰/۴۳۲۱
	اشتباه آزمایشی	۱۹	۰/۰۷۴		CV=۴۴/۴۴
میزان آلودگی باقیمانده (درصد)	تیمارهای آزمایشی	۳	۲۶/۱۰	۴۷/۷۱	<۰/۰۰۰۱
	صفه همبسته (آلودگی اولیه)	۱	۷/۹۵	۱۴/۵۴	۰/۰۰۱۲
	اشتباه آزمایشی	۱۹	۰/۵۵		CV=۳۱/۴۷



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

بررسی های متعددی در زمینه تاثیر اسانس های گیاهی بر کنترل کنه واروا انجام شده است. کولین (۱۹۹۴) گزارش نمود که پاشش امولسیون آبی کارواکرول روی کنه واروا در شرایط آزمایشگاهی پس از ۲۴ ساعت منجر به از بین رفتن بیش از ۹۰ درصد کنه های تیمار شده می شود (Colin, ۱۹۹۴). در مطالعه دیگری، تیمول و منتول و کارواکرول و سیترا ل تلفات قابل توجهی در کنه تراشه ای^۷ زنبور عسل ایجاد کرد (Ellis and Baxendal, ۱۹۹۷). و از آنجایی که اصولاً داروهای موثر بر کنه تراشه ای بر کنه واروا نیز موثر است، ترکیبات فوق می توانند اثر کشنده روی کنه واروا نیز داشته باشند. شاددل و همکاران (۱۳۸۷) در بررسی تاثیر چند عصاره گیاهی از جمله عصاره آویشن (دارای ماده موثره تیمول) بر کنترل کنه واروا، تاثیر معنی داری را مشاهده نمودند (شاددل و همکاران، ۱۳۸۷). ترکیبات منوترپنئیدی از قبیل کارواکرول، تیمول، منتول و کامفور و اکالپتوس که به طور عمده در اسانس گیاهان مختلف مشاهده می شود می تواند اثرات کشندگی مطلوبی در کنه واروا داشته باشد (قاسمی و همکاران، ۱۳۹۲). بر اساس نتایج آزمایش های Ruffinengo و همکاران (۲۰۰۷)، ۱۰ میلی گرم از محلول امولسیون ۴، ۳ و ۵ درصد اسانس سه گیاه گل جعفری آمریکایی، پونه کوهی و اکالپتوس باعث مرگ و میر بین ۶۳ تا ۸۴ درصد کنه های تیمار شده گردید. در تحقیق دیگری اثر کنه 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 کنه کشی دو ترکیب دارویی تیمووار و اپی لایف^۸ (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

⁷ *Acarapis woodi* Rennie

⁸ Apilife Var® and Thymovar®

تکمیل کنه کشی ترکیبات فوق، یک مرحله استفاده از اسید اگزالییک قبل از شروع زمستان لازم است (Mary and Breen, ۲۰۱۳). به عبارت دیگر دو داروی فوق (تیمووار و به‌ویژه اپی لایف) به تنهایی قادر به کنترل جمعیت کنه در کلنی‌ها نشدند. با توجه به نتایج پژوهش حاضر و عملکرد ۸۲ درصدی تیموگزال، به نظر میرسد تیموگزال داروی بهتری برای کنترل کنه باشد.

نتایج مطالعات مختلف گذشته در زمینه تاثیر اسیدهای آلی نشان داده است که اسید اگزالییک و اسید فرمیک بالاترین اثر و اسید پروپیونیک کمترین اثر را در کنترل کنه‌واروآ داشته‌اند (عبداله پور و شاددل، ۱۳۹۸). درمان با اسید اگزالییک کنه واروآ را در زنبوران بالغ تا ۸۷/۴ درصد کاهش داد (Castagnino and Orsi, ۲۰۱۲). براساس یافته‌های Mahmood و همکاران (۲۰۱۲) اثر اسید اگزالییک با غلظت ۲/۳ درصد در کنترل کنه واروآ اثربخشی بالاتری نسبت به نوار کنه کش بایوارول (فلووترین) و اسید فرمیک دارد. Gunez و همکاران (۲۰۱۷)، در بررسی تاثیر داروهای طبیعی مانند اسید فرمیک، اسید اگزالییک، تیمول و منتول بر کنه واروآ، بیشترین تاثیر را در تیمار اسید فرمیک ۸۵ درصد و سپس اسید اگزالییک گزارش نمودند. در تحقیقی مقایسه تاثیر کنه کشی روغن‌های گیاهی و اسید اگزالییک به سه صورت ذرات نانو (پودری)، دود (تصعید) اسید اگزالییک و ترکیب اسید اگزالییک و گلیسیرین انجام شد و مؤثرترین کنه کشی در گرد نانوذرات اسید اگزالییک با ۹۶/۶ درصد و ترکیب اسید اگزالییک و گلیسیرین 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 اگزالییک، ضمن معرفی اسید اگزالییک ۴/۵ درصد به عنوان مناسب‌ترین تیمار جهت کنترل کنه‌واروآ (با کمترین تلفات در زنبوران عسل)، اثر کنه کشی اسید اگزالییک (۴/۵ درصد) ۸۱/۶۴ درصد گزارش شد (ملکی و همکاران، ۱۴۰۲). نتایج پژوهش حاضر با پژوهش‌های مذکور همخوانی دارد.

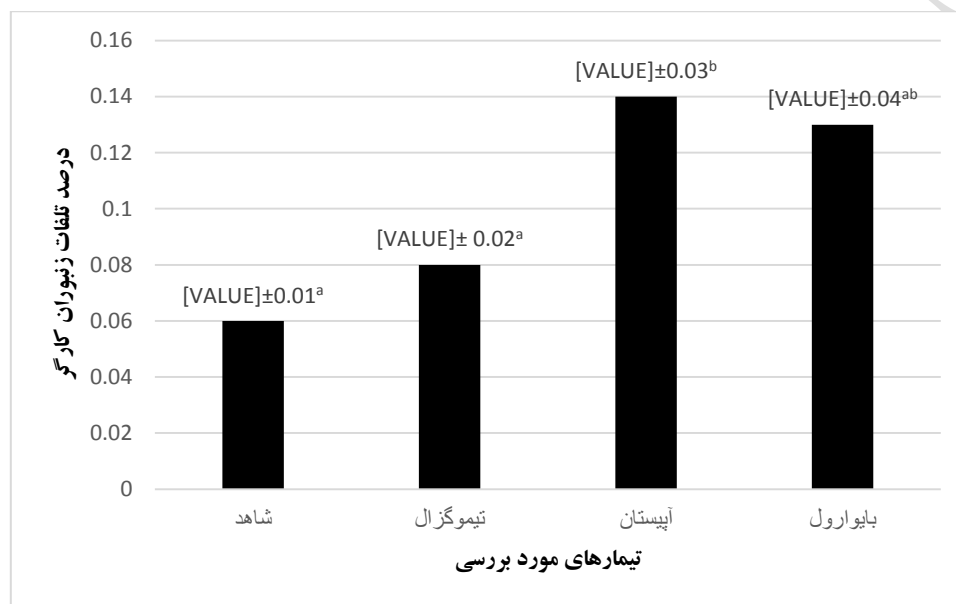
در تمام پژوهش‌های ذکر شده اسانس‌های مورد مطالعه یا به صورت جدا و یا با چندین اسانس دیگر و نیز تاثیر اسید اگزالییک بر روی کنه کشی زنبوران به صورت جداگانه مورد آزمایش قرار گرفته است. در پژوهش Toomemaa و همکاران (۲۰۱۸) که بر روی ترکیب دارویی اسید اگزالییک و تیمول (بصورت محلول آبی) و با هدف بررسی اثر هم‌افزایی این دو ترکیب دارویی انجام شد، میزان کارایی بالایی برای این ترکیب (۷۴ درصد در یک‌بار 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 معنی‌دار بین تیمارهای مورد بررسی است. اثر آلودگی اولیه کلنی‌ها (صفت همبسته) بر صفت مورد بررسی (تلفات زنبوران) معنی‌دار 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 ($p=0/72$). بیشترین تلفات زنبوران کارگر نیز در تیمار آپستان (۰/۱۴ درصد) مشاهده شد که تفاوت معنی داری با دو تیمار شاهد ($p=0/02$) و تیموگزال ($p=0/04$) 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 ($p=0/717$). این میزان تلفات در کلنی‌های زنبور عسل 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 ($p=0/18$).



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

Adjlane و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی اثرات غلظت‌های 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 درجه‌های 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 کلنی‌ها گردید. نهایتاً این محققان به این نتیجه رسیده‌اند که استفاده از دز ۷۵ گرم اسید اگزالیک در یک لیتر شربت شیرین به صورت قطره چکانی یا اسپری بهترین نتیجه را در کنترل کنه‌ها 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 می‌رسد غلظت اگزالیک اسید استفاده شده در تیموگزال غلظت مناسبی است. بعضی از گیاهان دارویی اثر بسیار کشنده‌ای بر زنبوران کارگر دارند. ولی برخی دیگر، از جمله تیمول، منتول و کارواکرول، در غلظت‌های پایین، تنها روی کنه واروا اثرگذار هستند.

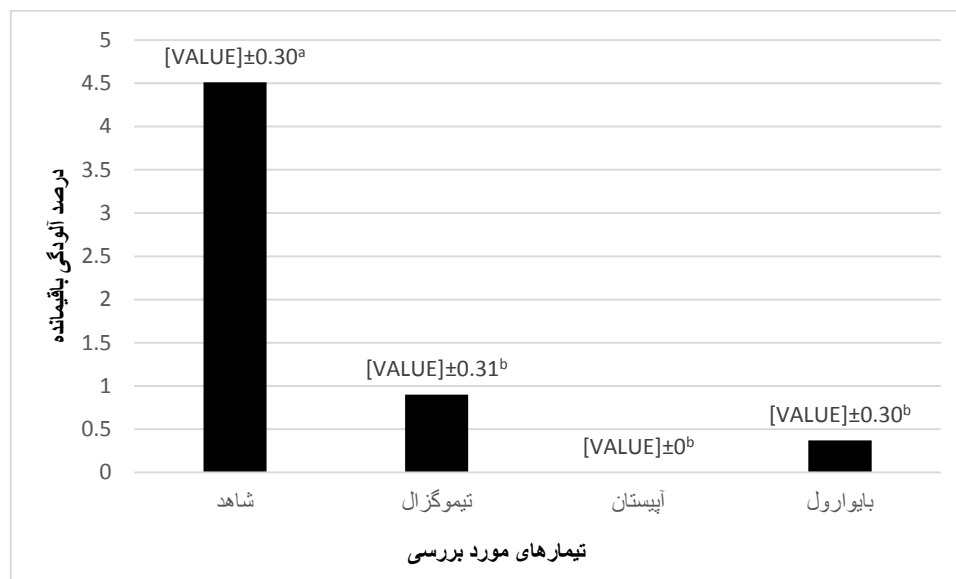
البته با بالا رفتن غلظت این ترکیبات، اثرات کشندگی آنها روی زنبوران عسل نیز ظاهر می شود. نتایج تحقیقات نشان می دهد فاکتورهای از قبیل جثه بزرگتر و وزن بیشتر بدن، میزان اجسام چربی و فعالیت بالای آنزیم هایی که در غیر سمی کردن مواد سمی داده شده به بدن نقش دارند، از جمله عوامل کلیدی در متحمل بودن یک حشره به 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). 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 پژوهش ها با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارند. همچنین با توجه به تلفات بسیار کم در تیمار تیموگزال، بنظر می رسد غلظت های استفاده شده در این ترکیب بطور صحیح انتخاب شده است. با بررسی نتایج مطالعات مذکور و نیز نتایج تحقیق حاضر به نظر می رسد استفاده از مخلوط اسانس ها و عصاره های ترکیبات گیاهی و اسیدهای آلی در غلظت های 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 زنبوران کارگر، جایگزین مناسبی برای کنه کش های شیمیایی در کلنی های زنبوران عسل باشد.

تجزیه کوواریانس میزان آلودگی باقیمانده کنه در تیمارهای آزمایشی

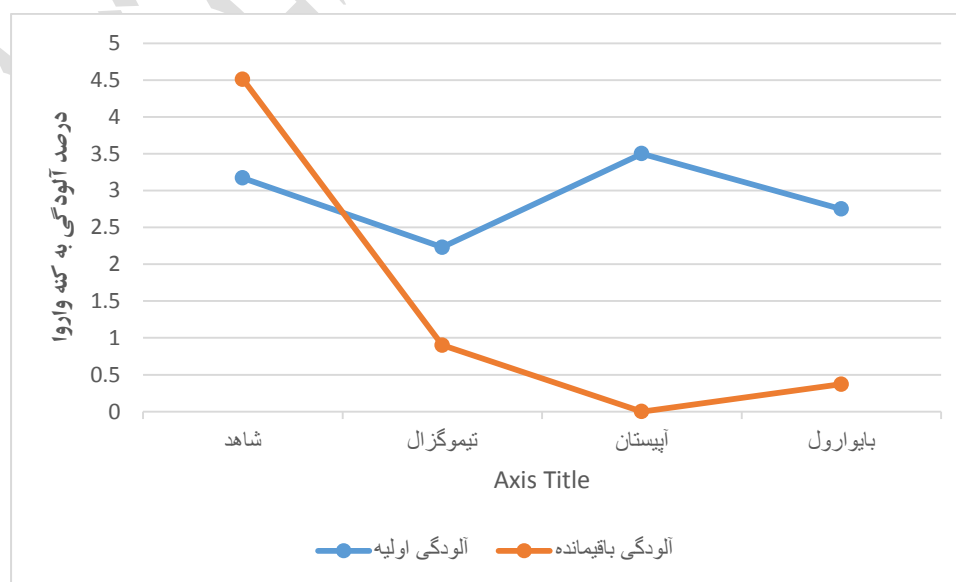
براساس نتایج تجزیه کوواریانس ارائه شده در جدول ۱، تیمارهای مورد بررسی از لحاظ درصد آلودگی باقیمانده کنه واروا در کلنی ها پس از اجرای آزمایش تفاوت معنی داری داشتند. اثر آلودگی اولیه کلنی ها (صفت همبسته) نیز بر صفت مورد بررسی (درصد آلودگی باقیمانده کلنی ها پس از آزمایش) معنی دار بود. نتایج مقایسه

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 به‌روش توکی

مقایسه آلودگی اولیه با آلودگی باقیمانده در تیمارهای مختلف در نمودار ۴ انجام شده است. همان‌طور که در این نمودار مشاهده می‌شود میزان آلودگی در هر سه تیمار دارای کنه‌کش کاهش یافته و به زیر یک درصد رسیده است ولی در تیمار شاهد میزان آلودگی با افزایش حدود ۱/۵ درصدی همراه بوده است.



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

معمولا کنترل کامل میزان آلودگی در کلنی‌ها امکان‌پذیر نیست. در حقیقت، به خاطر رفتار چراگری در زنبورهای عسل، زنبورداران به طور صددرصد نمی‌توانند کنه واروا را در کلنی‌های خود کنترل کنند. توصیه‌هایی مبنی بر کنترل مداوم و ماهانه جمعیت کنه با روش‌هایی 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 اگزالیک 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 اگزالیک) در غلظت‌های مناسب در پژوهش حاضر توانست جمعیت کنه را همانند داروهای شیمیایی در کلنی‌ها 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 کنه‌ها از کندو و عدم امکان برگشت به کندو خود عامل مهمی در جهت کاهش آلودگی باقیمانده در کندو می‌باشد. در مقایسه تأثیر کنه‌کشی روغن‌های گیاهی و پودر نانو ذرات اسید اگزالیک در دو هفته اول ۸۵ درصد کنه‌ها تلف شدند و در هفته‌های بعدی تلفات کنه به ۹۶/۶ درصد رسید. قابل ذکر است دما عامل مهم در تبخیر سریع ترکیبات کنه‌کشی با اسیدهای آلی می‌باشد و سرعت ریزش کنه را افزایش و آلودگی باقیمانده را کاهش می‌دهد (Sabahi و همکاران، ۲۰۲۰). در پژوهش ملکی و همکاران (۱۴۰۲) به منظور مقایسه تأثیر کنه‌کشی اسید فرمیک و اسید اگزالیک، میزان آلودگی باقی‌مانده در تیمار اسید اگزالیک ۴/۵ درصد برابر با ۲/۰۶ درصد و کمتر از تیمارهای دیگر (اسید اگزالیک ۳/۵ و ۲/۵ درصد) بدست آمد (ملکی و همکاران، ۱۴۰۲). در پژوهش حاضر، میزان آلودگی باقی‌مانده در تیمار تیموگزال ۰/۶۱ درصد برآورد گردید. به عبارت دیگر عملکرد تیموگزال که ترکیبی از اسانس‌های گیاهی و اسید اگزالیک است، بهتر از اسید اگزالیک (به تنهایی) بوده است.

با مقایسه نتایج پژوهش‌های قبلی و پژوهش حاضر، بطور کلی به نظر می‌رسد ترکیب اسانس‌های گیاهی مورد استفاده در پژوهش 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 کنه‌کشی و حشره‌کشی عصاره گیاهان هنگوان (*Ferola pseudalliacea*)، مزره سهندی (*Satureja sahendica*)، بیلهر (*Myrnostis aucheri*)، لوگه‌نه

(*Prangos ferulacea*) برای کنترل کنه واروا در کلنی های زنبور عسل. 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 واروای 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 واروای زنبور عسل، همایش ملی فرآورده های زنبور عسل از منظر زیست شناسی، سلامت و اقتصاد، اردیبهشت ۱۳۹۷، صفحه ۱-۱۵. <https://civilica.com/doc/909574>

قاسمی، و.، محرمی پور، س.، طهماسبی، غ. (۱۳۹۲). تأثیر اسانس پونه کوهی (*Mentha longifolia L.*) بر روی سرعت مرگ و میر کنه واروا (*Varroa destructor* (Acari: Varroidae) و 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 غلظت های مختلف اسید اگزالیک و اسید فرمیک روی کنترل کنه واروا (*Varroa destructor*) در کلنی های زنبور عسل 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.

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.
- 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 destructor* 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:10.1371/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. *Apidology*. 30: 235-248.