نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۴۰، پاییـز ۱۴۰۲
ص‌ص: ۶۹~۸۲

تاثیر غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک و اسید فرمیک روی کنترل کنه واروآ (*Varroa destructor*) در کلنی‌های زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera meda*)

• **مجید ملکی[1]، رحیمه سپهری[2*]، عطااله رحیمی[3]**

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

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

۳- استادیار پژوهشی بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران

تاریخ دریافت : مهر ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش : آذر ۱۴۰۱

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۶۴۱۸۲۸۸

Email: sepehri_r@znu.ac.i

شناسه دیجیتال (DOI):10.22092/ ASJ.2022.360179.2260

چکیده

در مطالعه حاضر، تاثیر غلظت‌های مختلف اسید فرمیک (۲۵، ۳۵ و ٤٥ درصد) و اسید اگزالیک (۲/۵، ۳/۵ و ٤/۵ درصد) به‌همراه تیمار شاهد بر روی تلفات کنه‌واروآ و زنبورها و همچنین درصد آلودگی باقیمانده کنه در کلنی‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار و ۵ تکرار در شرایط اقلیمی استان مرکزی مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد بالاترین درصد تلفات روی کنه‌ها به ترتیب مربوط به غلظت‌های اسید فرمیک ٤٥ درصد (۸۸/۱۳ درصد) و اسید اگزالیک ٤/۵ درصد (۸۰/۹۱ درصد) و کمترین میزان آلودگی باقیمانده کلنی‌ها پس از اجرای آزمایش نیز در تیمار اسید فرمیک ٤٥ درصد (۰/٦٦ درصد) و اسید اگزالیک ٤/۵ درصد (۲/۰٦ درصد) مشاهده گردید. بالاترین درصد تلفات روی زنبورها مربوط به غلظت اسید فرمیک ٤٥ درصد بود که این تیمار از لحاظ این صفت با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت. براساس نتایج بدست آمده، مطلوب‌ترین تاثیر براساس میزان درصد تلفات روی کنه‌ها و کمترین باقیمانده آلودگی در کلنی‌ها بین غلظت‌های مختلف این دو اسید در مطالعه حاضر مربوط به غلظت اسید فرمیک ٤٥ درصد و اسید اگزالیک ٤/۵ درصد بود. بین این دو تیمار برتر از لحاظ میزان تلفات کنه و آلودگی باقیمانده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما با توجه به تفاوت معنی‌دار میزان تلفات زنبوران در این دو تیمار و تلفات کمتر زنبوران در تیمار اسید اگزالیک ٤/۵ درصد و نیز صرفه‌ی اقتصادی آن برای زنبورداران، استفاده از اسید اگزالیک ٤/۵ درصد برای کنترل کنه‌واروآ در زنبورستان‌های با شرایط آب و هوایی و اکولوژیکی مشابه منطقه مورد بررسی در پژوهش حاضر، پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: زنبورعسل، کنه واروآ، اسید فرمیک، اسید اگزالیک، استان مرکزی.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 140 pp: 69-82

Effect of different concentrations of formic acid and oxalic acid on the control of *Varroa* mite *(Varroa destructor)* in Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) colonies

By: Majid malaki[1], Rahimeh Sepehri[2*], Ataollah Rahimi[3]
1: Graduate of MSc, Department of Animal Science, Faculty of agriculture, University of Zanjan, Iran.
2: Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of agriculture, University of Zanjan, Iran
3: Assistant professor in research, Animal Science Research Department, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sanandaj, Iran. *Corresponding author, Email: sepehri_r@znu.ac.ir

Received: October 2022 **Accepted: December 2022**

The effect of different concentrations of formic acid (25, 35 and 45%) and oxalic acid (2.5, 3.5 and 4.5%) and control treatment on *Varroa* mite and honey bee mortality, as well as the percentage of residual mite infestation in the colony, were evaluated in a completely randomized design with 7 treatments and 5 replications in the climatic conditions of Markazi province. Results showed that the highest percentage of mortality on mites was related to the concentrations of formic acid 45% (88.13%) and oxalic acid 4.5% (80.91%) respectively, and the lowest residual contamination of colonies after the experiment was observed in the treatment of formic acid 45% (0.66%) and oxalic acid 4.5% (2.06%). The highest percentage of bee mortality was related to formic acid 45% concentration, which was significantly different from other treatments. Based on the results, the most favorable effect based on the percentage of mortality on mites and the lowest residual contamination in colonies between different concentrations of these two acids in the present study was related to the concentration of formic acid 45% and oxalic acid 4.5%. There was no significant difference between these two superior treatments in terms of mite mortality and residual infection. Due to the significant difference in bee mortality in these two treatments and less bee mortality in the oxalic acid treatment of 4.5% and having economic benefits, the use of oxalic acid 4.5% is suggested to control *Varroa* mite in apiaries with similar climatic and ecological conditions to present study.

Key words: Honey bee, *Varroa* mite, formic acid, oxalic acid, Markazi province

مقدمه

زنبورعسل یکی از مهمترین حشرات اجتماعی و گرده‌افشان دنیاست که نقش برجسته‌ای در امر گرده‌افشانی گیاهان زراعی - باغی، حفظ فلور گیاهی و پرورش آن از لحاظ اقتصادی - اجتماعی اهمیت زیادی در معیشت و تامین امنیت غذایی مردم جهان دارد (۲). با وجود تمام مزایای اقتصادی و اجتماعی مربوط به حرفه زنبورداری در کشور و نقش ارزنده زنبورعسل در طبیعت، امروزه کلنی‌های زنبورعسل بطور نامطلوبی به وسیله‌ی یکسری عوامل بیماری‌زا و آفات تحت تاثیر واقع شده‌اند (۱۶، ۲۱ و ۲۲). یکی از بزرگ‌ترین چالش‌ها و معضلات موجود در صنعت زنبورداری که باعث تغییر شغل بسیاری از پرورش دهندگان زنبورعسل کشور و حتی دنیا از این حوزه گردیده است، بحث آلودگی کلنی‌های زنبورعسل به کنه‌واروآ (*Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000) است (۸). این آفت با تغذیه از اجسام چربی زنبورهای بالغ و نوزادان و همچنین انتقال عوامل بیماری‌زای ویروسی، به ویژه ویروس تغییر دهنده شکل بال (Deformed Wing Virus (DWV))، هر ساله خسارت سنگینی را به زنبورستان‌های سرتاسر دنیا وارد می‌کند (۱۹ و ۲۰). همچنین، امروزه این معضل بر سیستم‌های تولید محصولات کشاورزی و قیمت مواد غذایی نیز تاثیر گذاشته است (۱۱ و ۱۹). علاوه بر این موارد، اخیراً آلودگی کلنی‌های

زنبورعسل به کنه‌واروآ سبب ناپدید شدن درصد قابل توجهی از جمعیت زنبورهای عسل شده که این پدیده به اختلال ناپدید شدن جمعیت‌های زنبورعسل (Colony Collapse Disorder (CCD)) معروف است (۱۴ و ۱۵).

در دهه‌های اخیر، برای کنترل این پارازیت در کلنی‌های زنبورعسل بیشتر از سموم کنه‌کش شیمیایی به ویژه آفت‌کش‌های پایروتروئیدی (تئو-فلووالینات و فلومترین) استفاده می‌شود. افزایش هزینه‌های کنترل شیمیایی کنه‌واروآ، استفاده از سموم شیمیایی کنه‌کش همراه با مسائل باقیمانده‌های زیست - محیطی آن و بروز مقاومت در جمعیت‌های این آفت، توجه محققین مختلف این رشته در سرتاسر دنیا را به سمت روش‌های جایگزین کم خطر برای سلامتی بشر، زنبورها، فرآورده‌های کلنی و محیط زیست معطوف کرده است که در این میان می‌توان به کاربرد اسیدهای آلی اشاره کرد. در مطالعه‌ای، بحرینی (۱۳۸۴) تاثیر اسید اگزالیک ۳/۵ درصد را به دو روش قطره‌ای و اسپری جهت کنترل کنه‌واروآ در کلنی‌های زنبورعسل در شرایط اقلیمی شهرستان کرج مورد بررسی قرار داد. نتایج این تحقیق نشان داد که اسید اگزالیک از پتانسیل بالایی جهت کنترل کنه‌واروآ برخوردار است. همچنین مقایسه نتایج دو روش استعمال اسید اگزالیک به صورت اسپری و قطره‌ای نشان داد که ریزش کنه پس از اولین و دومین نوبت استعمال اسید اگزالیک در روش اسپری به ترتیب ۹۷ و ۳ درصد، و در روش قطره‌ای ۵۵ و ۵۴ درصد بود (۱). Toomemaa و همکاران (۲۰۱۰) نیز، اسید اگزالیک را به دلیل ایجاد اختلال در تنظیم پروتئین‌های کاندید تنفس سلولی میتوکندری، افزایش اندوسیتوز و القای پروتئین‌های شوک حرارتی در کنه‌واروآ به عنوان موثرترین اسیدآلی علیه کنه‌واروآ گزارش کردند (۲۲). همچنین، عبداله پور و شاددل تلی (۱۳۹۷) سطوح مختلف اسید استیک و اسید اگزالیک را جهت کنترل کنه‌واروآ در کلنی‌های زنبورعسل شمال غرب کشور مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که مصرف اسید اگزالیک به روش اسپری در مبارزه با کنه‌واروآ از پتانسیل بالایی برخوردار است ولی سطوح مختلف اسید استیک در کنترل کنه-واروآ کارایی چندانی نشان نداد. این محققان گزارش کردند که با توجه به متفاوت بودن تاثیر غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک در اقلیم‌های مختلف، لازم است تاثیر غلظت‌های مختلف این اسید روی کنترل این آفت در اقلیم‌های متفاوت جهت دستیابی به بهترین غلظت موثر متناسب با آن اقلیم بررسی شود (۳). در تحقیق دیگری، Giovenazzo و همکاران (۲۰۱۱) اثر دو اسید آلی اسید فرمیک و اسید اگزالیک را در ۴۸ کلنی آلوده به کنه‌واروآ در زنبورستان‌های شرق کانادا مورد بررسی قرار دادند. به این نتیجه رسیدند که اسیدهای آلی استفاده شده جمعیت قابل توجهی از کنه ها را از بین می‌برند اما با توجه به شرایط زمانی استفاده از آنها که فصل بهار و اردیبهشت ماه بود باعث کاهش تولیدات و در برخی موارد باعث از بین رفتن، گم شدن و کاهش تخمریزی ملکه شدند. در نتیجه پیشنهاد کردند که جهت حصول نتیجه بهتر، استفاده از اسیدهای آلی جهت کنترل کنه‌واروآ را در فصل‌های معتدل سال و زمانی که تخم‌ریزی در کندو کم است، انجام دهند (۱۳). در مطالعه دیگری، Pietropaoli و Formato (۲۰۱۸) تاثیر اسید فرمیک ۶۰ درصد را روی کنترل کنه‌واروآ در کلنی-های زنبورعسل در ایتالیا مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند که میانگین کنه کشی روی تیمارهای آزمایشی بین ۲۱/۸ ± ۵۷ تا ۱۲/۵ ± ۷۲/۷ درصد متغیر بود و با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. با توجه به نفوذ این اسید به داخل شفیره‌ها، کاهش معنی‌داری در جمعیت شفیره‌ها نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ولی تاثیر آماری معنی‌داری روی جمعیت بالغ و ملکه مشاهده نگردید (۱۷). همچنین، Pietropaoli و Formato (۲۰۲۲) مطالعه‌ی دیگری را با هدف تاثیر ترکیب اسید فرمیک و اسید اگزالیک جهت بالابردن خاصیت کنه‌کشی این دو اسید در مقابل کنه‌واروآ و بدون داشتن تاثیر سویی روی بقای کلنی‌های زنبورعسل انجام دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیب اسید اگزالیک و فرمیک می‌تواند کارایی درمان را افزایش داده و تغییر پذیری آنها را کاهش دهد اما بدلیل ایجاد تلفات قابل توجه در زنبوران، قبل از استفاده از این ترکیب لازم است از کلنی‌های قوی جهت جلوگیری از تلفات بیش از حد استفاده شود (۱۸). نتایج

مطالعات مختلف نشان داد که کارایی خواص کنه کشی و حشره-کشی اسید فرمیک و اسید اگزالیک روی کنه‌ها و زنبورها در آب و هوا و اقلیم‌های مختلف متفاوت است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی خواص کنه‌کشی و حشره‌کشی غلظت‌های مختلف اسید فرمیک و اسید اگزالیک روی کنه‌واروآ و زنبورها در کلنی-های زنبورعسل در شرایط اقلیمی شهرستان نوبران استان مرکزی جهت دستیابی به بهترین غلظت موثر این اسیدها (با کمترین عوارض) جهت مبارزه با این آفت در این اقلیم انجام شد.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان اجرای پژوهش

مطالعه حاضر در بازه زمانی تابستان ۱۳۹۹ تا مهرماه ۱۴۰۰ روی ۳۵ کلنی زنبورعسل با ملکه خواهری هم‌سن و آلوده به کنه‌واروآ در شرایط اقلیمی منطقه قشلاق از توابع شهرستان نوبران استان مرکزی انجام شد. این منطقه دارای آب و هوای معتدل و کوهستانی بوده که بیشتر اوقات سال دمای آن بین ۵ الی ۲۵ درجه سانتی‌گراد می-باشد. اکثریت زنبوردارهای استان مرکزی از شهرستان نوبران به عنوان منطقه ییلاقی جهت استقرار کلنی‌های زنبورعسل خود در طول سال استفاده می‌کنند. هیچ داده‌ای از اطلاعات هواشناسی سال‌های گذشته به علت نبود ایستگاه هواشناسی در این منطقه در دسترس نبود اما با توجه به بررسی‌های صورت گرفته در مطالعه حاضر و ثبت اطلاعات هواشناسی (به صورت دستی)، دمای هوای از شروع تا اتمام کار میدانی تحقیق حاضر بین هفت الی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ثبت شد.

انتخاب کلنی‌ها، نحوه‌ی همسان سازی و بررسی نرخ آلودگی اولیه کلنی‌ها

کلنی‌های مورد مطالعه (۳۵ کلنی با ملکه خواهری هم‌سن) در تابستان سال ۱۳۹۹ از بین کندوهای یک زنبورستان ۳۰۰ کلنی پس از ارزیابی نرخ آلودگی کلنی‌های زنبورستان انتخاب و تا زمان اجرای آزمایش هیچ گونه داروی کنه‌کش یا سایر روش‌های کنترل کنه‌واروآ را دریافت نکردند. در اردیبهشت و خرداد سال ۱۴۰۰ قبل از انجام آزمایش، کلنی‌ها از لحاظ جمعیت (بالغین و نوزادان) براساس دستورالعمل Delaplane و همکاران (۲۰۱۳) همسان‌سازی شدند. همچنین، قبل از اعمال تیمارها، نرخ آلودگی اولیه کندوها به کنه‌واروآ با استفاده از دستورالعمل Dietemann و همکاران (۲۰۱۳) برای زنبورهای بالغ و براساس دستورالعمل Zemene و همکاران (۲۰۱۵) برای شفیره‌ها ارزیابی شد. بدین صورت، برای تعیین نرخ آلودگی اولیه زنبورهای بالغ به کنه‌واروآ، سه نمونه تقریباً ۱۰۰ تایی زنبور از هر کلنی به صورت جداگانه از شان‌های نوزادان برداشته و آنها را به داخل یک شیشه ۱۵۰ میلی لیتری که حاوی آب و مواد شوینده بود، انتقال داده شد. حدود ۳ دقیقه شیشه حاوی زنبورها را تکان داده سپس بعد از یک دقیقه، اکثر زنبورهای داخل شیشه به سطح محلول آمده وکنه‌ها از بدن زنبورها جدا شده و در کف شیشه قرار گرفتند. زنبورها را با کمک یک جفت پنس از محلول داخل شیشه خارج کرده و به صورت جداگانه زنبورها را از نظر باقی ماندن کنه روی بدن آنها، مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد زنبورها و کنه‌های داخل هرشیشه را شمارش و سپس نسبت آلودگی زنبورها از تقسیم تعداد کنه‌های شمارش شده بر تعداد زنبورهای داخل هر شیشه محاسبه شد. برای اندازه گیری نرخ آلودگی نوزادان به کنه‌واروآ، تقریباً ۱۰۰ شفیره کارگر را از شانهای مختلف نوزادی هر کلنی از سلول‌های آنها خارج کرده و از نظر وجود کنه واروآ مورد بررسی و شمارش قرار گرفتند. در نهایت برای تعیین نرخ آلودگی نوزادان به کنه-واروآ، تعداد کنه‌های مشاهده شده را به تعداد سلول‌های باز شده (۱۰۰سلول) تقسیم شد. سرانجام، نرخ آلودگی اولیه هر کلنی، از میانگین درصد آلودگی اولیه نمونه‌های بالغین و نوزادان بدست آمد. با توجه به متفاوت بودن داده‌های بدست آمده برای این متغیردر 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

مطالعه حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار آزمایشی

(شامل تیمارهای: غلظتهای ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درصد اسید فرمیک و درصدهای ۲/۵، ۳/۵ و ۴/۵ درصد اسید اگزالیک و یک تیمار شاهد) و هر کدام از تیمارها در ۵ تکرار به مدت ۱۶روز مورد آزمایشات زیست سنجی قرار گرفتند. در مطالعه‌ی حاضر از ۳۵ کندوی لانگستروت با کف متحرک که در کف هر کندو یک مقوای سفید چسبناک تعبیه شده بود، استفاده شد. در طول مدت آزمایش درجه حرارت محیط زنبورستان (در سه نوبت صبح، ظهر و شب) نیز اندازه گیری گردید. با توجه به تغییرات بالای دمای شبانه روز و متناسب با آن تاخیر در تخمریزی ملکه و همچنین تاخیر در رشد جمعیت، همسان سازی کلنی‌ها در ماه‌های اردیبهشت و خرداد ماه انجام گردید و آزمایشات میدانی در ماههای شهریور و مهر سال ۱۴۰۰ بعد از برداشت عسل، روی کلنی‌های آزمایشی انجام شد.

سپس کلنی‌های آزمایشی بعد از برداشت عسل و در اوایل شهریور در ساعت‌های ابتدایی صبح، هنگام حضور همه زنبورها در کندو، با استفاده از غلظت‌های مختلف اسید فرمیک و اگزالیک تیمار شدند. در تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. تیمارهای اسید اگزالیک (غلظت‌های مختلف) نیز در آب مقطر تهیه شدند. لازم به ذکر است انتخاب غلظت‌های مختلف اسید فرمیک و اسید اگزالیک در مطالعه حاضر براساس نتایج پژوهش‌های قبل و آزمایشات اولیه در منطقه صورت گرفت؛ به نحوی که غلظت‌های بالاتر از غلظت‌های استفاده شده در مطالعه حاضر، که در برخی پژوهش های قبلی انجام شده توسط سایر محققین استفاده شده بود، روی زنبورها تلفات خیلی بالایی ایجاد می‌کردند به طوری که درصد خیلی بالایی از جمعیت زنبورهای داخل کندو را می-کشت و یا زنبورها سریع بدون بازگشت کندو را ترک می‌کردند. درصدهای پایین‌تر هم خواص کنه کشی مطلوبی نداشت. نحوی اجرای کار بدین صورت بود که:

۱- تیمار شاهد: ابتدای صبح نخستین روز ۳۵ سی سی آب مقطر به هر یک از کندوهای شاهد اسپری شد و هر چهار روز یکبار (تعداد چهار بار در طول دوره) در طی دوره آزمایش این عمل تکرار گردید.

۲- تیمارهای اسید فرمیک: ۳۵ سی سی از هر یک از غلظت‌های ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درصد اسید فرمیک را روی پدهای مخصوص اسید فرمیک در داخل قالب مخصوص استفاده از اسید فرمیک ریخته و سپس در قسمت بالای قاب تیمارهای آزمایشی قرار داده شد و هر چهار روز یکبار این فرآیند تکرار گردید (شکل ۱).

شکل ۱: نحوی آماده سازی و قرار دادن پد حاوی اسید فرمیک روی سطح بالایی قاب‌های داخل کندو

۳- تیمار اسید اگزالیک: در هر یک از کلنی‌ها، به ازای هر قاب جمعیت (پشت و رو زنبور) به میزان ۵ سی سی از غلظت‌های ۲/۵، ۳/۵ و ۴/۵ درصد اسید اگزالیک (بصورت محلول در آب مقطر) تهیه و به صورت اسپری روی زنبورها اعمال گردید و این عمل هر چهار روز یکبار تکرار شد (شکل ۲).

شکل ۲: نحوی آماده سازی و اسپری کردن اسید اگزالیک روی قاب‌های کندو

در همه تیمارها، هر روز ساعت ۱۰ صبح تمام شان‌ها و قاب‌های کندو مورد بازدید قرار گرفته و سپس مقوای چسبناک کف کندوها را برداشته و تعداد زنبورها و کنه‌های مرده روی آنها شمارش گردید و بعد از برداشتن زنبورها و کنه‌های مرده، مجدداً مقوا در کف کندو قرار داده شد. در پایان آزمایشات، براورد آلودگی باقیمانده در زنبوران بالغ و شفیره‌ها (مشابه براورد آلودگی اولیه) انجام شد. در ادامه، جهت ارزیابی میزان جمعیت کنه‌های باقیمانده، دو نوار آپیستان به مدت ۳۰ روز در داخل هر کندو تعبیه و بعد از ۳۰ 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).

فرمول ۱:

$$\text{درصد تلفات هر تیمار در هر کندو} = \frac{\text{تعداد کنه های مرده در کندو در طول درمان یا هر تیمار}}{\text{تعداد کنه های مرده بعد درمان کندو یا آپیستان + تعداد کنه های مرده در هر کندو در طول درمان یا هر تیمار}} \times ۱۰۰$$

فرمول ۲:

$$\text{درصد تلفات اصلاح شده} = \frac{\text{درصد تلفات کنترل} - \text{درصد تلفات هر تیمار}}{\text{درصد تلفات کنترل} - ۱۰۰} \times ۱۰۰$$

در مطالعه حاضر، تأثیر تیمارهای مورد بررسی روی زنبورهای عسل نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. برای بررسی تاثیر تیمارهای مختلف روی جمعیت زنبورها، تغییرات در نرخ رشد جمعیت بالغین در ابتدا و انتهای دوره براساس دستورالعمل Delaplane و همکاران (۲۰۱۳) مورد ارزیابی قرارگرفت. برای تعیین تاثیر کشندگی غلظت‌های مختلف هر اسید روی زنبورهای بالغ، تعداد زنبورهای مرده پیدا شده در تله‌های گرده یا داخل کندو به صورت هفتگی در تمام طول دوره تیمار کردن کلنی‌ها، شمارش و به عنوان زنبورهای مرده در نظر گرفته شد. سپس، حاصل میانگین کشندگی غلظت‌های مختلف هر اسید روی جمعیت بالغین به عنوان تاثیر کشندگی غلظت‌های مختلف هر اسید برای آن کندو ثبت گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از انجام آزمایشات زیست سنجی، بررسی‌های میدانی و یادداشت برداری از تلفات کنه و زنبوران عسل، داده‌های خام بدست آمده در برنامه اکسل وارد و ثبت گردید. تجزیه کوواریانس داده‌های بدست‌آمده براساس مدل آماری ذیل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار و ۵ تکرار با استفاده از نرم افزار(V. 9.4) SAS انجام شد. با توجه به متفاوت بودن میزان آلودگی اولیه کلنی‌ها و ماهیت پیوسته آن (عدم امکان گروه‌بندی در آن، این متغیر بعنوان متغیر هم‌بسته (کووریت) در مدل آماری قرار داده شد و لذا آنالیز داده‌ها به‌روش تجزیه کوواریانس انجام شد. بنابراین در مطالعه حاضر، از میانگین‌های تصحیح شده براساس حداقل مربعات[1] بصورت LSmeans برای مقایسه میانگین تیمارها به‌روش توکی در هر یک از صفات مورد بررسی استفاده شد. مدل آماری استفاده شده برای آنالیز داده‌ها بصورت زیر است:

$$Y_i = \mu + T_i + \beta\left(X_{ij} - \bar{X}_{..}\right) + e_{ij}$$

Y_{ij}= مشاهده تیمار i ام در تکرار j ام (مشاهدات مربوط به متغیر وابسته)

μ = میانگین مشاهدات

T_i= اثر تیمار i ام

β= ضریب تابعیت مغیر مورد بررسی (Y) از متغیر همبسته (X)

X_{ij}= مقدار متغیر همبسته در واحد آزمایشی مربوط به تکرار jام از تیمار i ام

$\bar{X}_{..}$= میانگین مشاهدات متغیر وابسته

e_{ij}= خطای آزمایشی مربوط به تکرار j ام از تیمار i ام

نتایج

در پژوهش حاضر تاثیر سه غلظت مختلف اسید فرمیک و اسید اگزالیک روی میزان تلفات کنه‌واروآ و زنبورهای کارگر و همچنین میزان آلودگی باقیمانده کنه پس از اجرای آزمایش در تیمارهای آزمایشی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن به شرح ذیل می‌باشد:

تجزیه کوواریانس

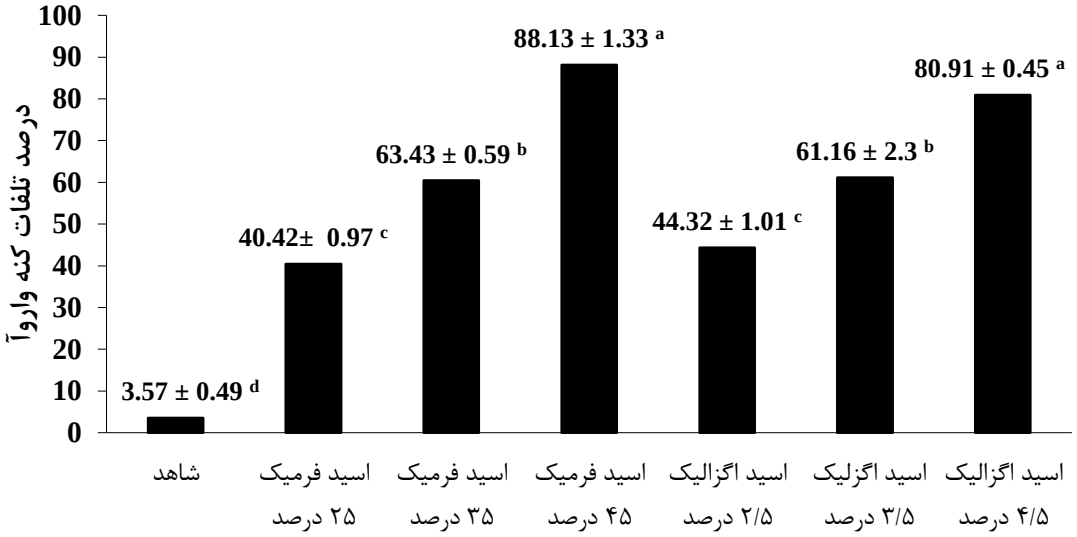
تجزیه کوواریانس تاثیر تیمارهای مورد بررسی روی تلفات کنه‌ی واروآ

نتایج تجزیه کوواریانس درصد تلفات کنه‌ها 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) بر میزان تلفات کنه معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین درصد تلفات کنه در تیمارهای آزمایشی به‌روش توکی در نمودار ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج بدست آمده، بیشترین درصد تلفات کنه‌ها به ترتیب در تیمار اسید فرمیک ۴۵ درصد (۸۷/۹۱ درصد) و تیمار اسید اگزالیک ۴/۵ درصد (۸۱/۶۴ درصد) مشاهده شد. این دو تیمار از لحاظ این صفت (درصد تلفات کنه) تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ولی تفاوت آنها با سایر تیمارها معنی‌دار بود. کمترین درصد تلفات کنه (۲/۹۴ درصد) مربوط به تیمار شاهد بود.

[1] Least Square Means (LSMeans)

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

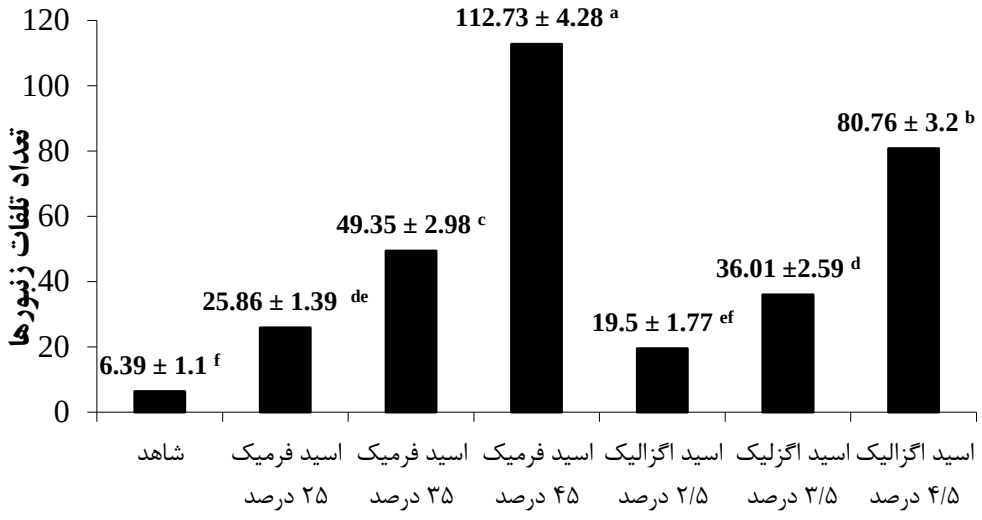
صفت مورد بررسی	منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	آماره F	سطح معنی داری
میزان تلفات کنه واروا (درصد)	تیمارهای آزمایشی	۶	۳۷۲۰/۵۵	۶۵۹/۷۱	<۰/۰۰۰۱
	صفت همبسته (آلودگی اولیه)	۱	۲/۸۸	۰/۵۱	۰/۴۸۱۷
	اشتباه آزمایشی	۲۵	۵/۶۴		**CV=٤/٤٢**
میزان تلفات زنبوران کارگر(تعداد)	تیمارهای آزمایشی	۶	۶۹۰۵/۵۹	۱۸۶/۰۴	<۰/۰۰۰۱
	صفت همبسته (آلودگی اولیه)	۱	۷/۳۷	۰/۲۰	۰/۶۵۹۳
	اشتباه آزمایشی	۲۵	۳۷/۱۱۹		**CV=۱۲/۹**
میزان آلودگی باقیمانده (درصد)	تیمارهای آزمایشی	۶	۲۴/۸۲	۱۸/۷۴	<۰/۰۰۰۱
	صفت همبسته (آلودگی اولیه)	۱	۱۰/۷۳	۸/۱۰	۰/۰۰۸۴
	اشتباه آزمایشی	۲۵	۱/۳۲		**CV=۳۱/٤۷**



نمودار ۱: مقایسه میانگین درصد تلفات کنه‌ها در تیمارهای آزمایشی به‌روش توکی

تجزیه کوواریانس تاثیر تیمارهای مورد بررسی روی تلفات زنبورها

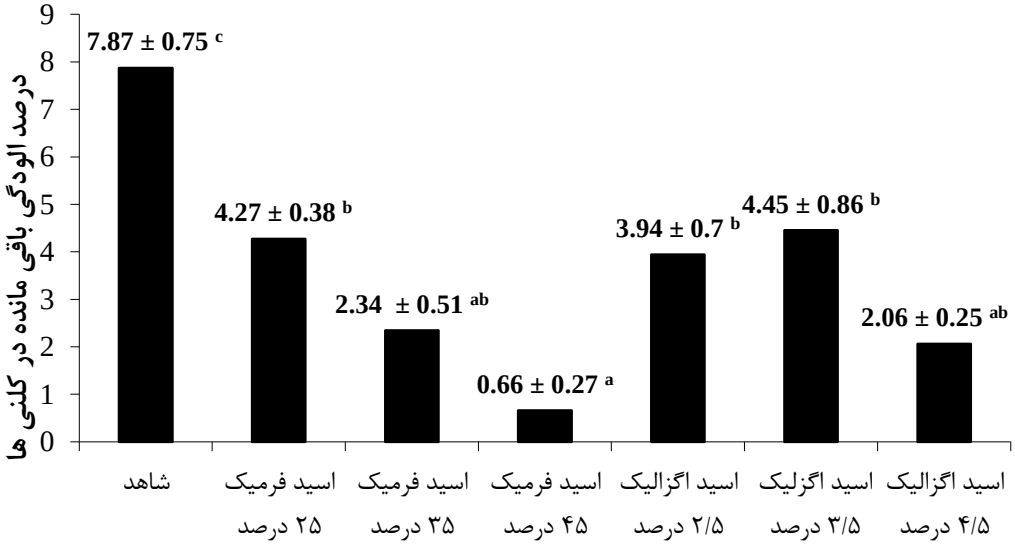
نتایج تجزیه کوواریانس میزان تلفات زنبورها ناشی از اثر تیمارهای مورد بررسی در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری بین تیمارها از لحاظ تلفات روی زنبورهای بالغ وجود دارد. اثر آلودگی اولیه کلنی‌ها (صفت همبسته) بر صفت مورد بررسی (تلفات زنبوران) معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین تلفات زنبورها در تیمارهای مختلف در نمودار۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میزان تلفات زنبوران بالغ به ترتیب، در تیمار اسید فرمیک ۴۵ درصد (۱۱۳ زنبور) و تیمار شاهد (۶ زنبور) مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری بین درصد تلفات زنبور در تیمار اسید فرمیک ۴۵ درصد با سایر تیمارها مشاهده گردید ولی درکل، میزان تلفات زنبوران بالغ درهیچ یک از تیمارها از ۲/۵ درصد کل جمعیت کلنی‌ها فراتر نرفت.



نمودار ۲: مقایسه میانگین تعداد تلفات زنبورها در تیمارهای آزمایشی به‌روش توکی

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 معنی داری داشتند. اثر آلودگی اولیه کلنی‌ها (صفت همبسته) نیز بر صفت مورد بررسی (درصد آلودگی کلنی‌ها پس از آزمایش) معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین درصد آلودگی باقیمانده کنه واروآ در کلنی‌ها پس از اجرای آزمایش در نمودار ۳ ارائه شده است. نتایج حاصله نشان داد که کمترین و بیشترین میزان آلودگی باقیمانده کنه به ترتیب در تیمار اسید فرمیک ۴۵ درصد (۰/۶۶ درصد) و تیمار شاهد (۷/۸۷ درصد) مشاهده شد. بر اساس نتایج بدست آمده، تفاوت معنی‌داری بین تیمار اسید فرمیک ۴۵ درصد با تیمارهای شاهد، اسید فرمیک ۲۵ درصد، اسید اگزالیک ۲/۵ و ۳/۵ درصد مشاهده شد؛ ولی از لحاظ این صفت (آلودگی باقیمانده) بین تیمار اسید فرمیک ۴۵ درصد، اسیدفرمیک ۳۵ درصد و اسید اگزالیک ۴/۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.



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

بحث

به علت اثرات نامطلوب کنه‌کش‌های شیمیایی در کلنی‌های زنبورعسل همراه با مسائل باقیمانده‌های زیست - محیطی آن و بروز مقاومت در جمعیت‌های این آفت، در مطالعه حاضر اثر کنه-کشی و حشره‌کشی غلظت‌های مختلف اسید فرمیک و اسید اگزالیک روی کنه‌واروآ و زنبورها و همچنین باقیمانده آلودگی کلنی‌ها به کنه پس از اجرای آزمایش در کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه در شرایط اقلیمی شهرستان نوبران استان مرکزی بررسی شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بالاترین درصد تلفات کنه پس از اعمال غلظت‌های مختلف اسید فرمیک و اسید اگزالیک، به ترتیب مربوط به غلظت اسید فرمیک ۴۵ درصد (۸۸/۱۳ درصد) و اسید اگزالیک ۴/۵ درصد (۸۰/۹۱ درصد) بود. بین این دو تیمار از لحاظ این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند. همچنین، بیشترین و کمترین تلفات زنبورها ، به‌ترتیب مربوط به تیمارهای اسید فرمیک ۴۵ درصد (۱۱۲/۷۳ مورد زنبور تلف شده) و شاهد (۶/۳۹ مورد زنبور تلف شده) بود. تیمار اسید فرمیک ۴۵ درصد از لحاظ میزان تلفات زنبورها با بقیه تیمارها و از جمله تیمار اسید اگزالیک ۴/۵ درصد اختلاف معنی‌دار داشت. Pietropaoli و Formato (۲۰۱۸) کارایی کنه کشی و حشره کشی اسید فرمیک ۶۰ درصد را روی جمعیت کنه‌های واروآ و زنبورها (بالغین و شفیره) در سه زنبورستان در ایتالیا در اواسط دوره فعالیت و محدوده دمایی ۸ تا ۳۵ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار دادند. میزان تلفات کنه در پژوهش آنها بین ۵۷ تا ۷۲/۷ درصد بود که کمتر از پژوهش حاضر(۸۸/۱۳) است و این در حالی‌ست که دز مصرفی بالاتربوده است. بنظر می‌رسد دلیل این تفاوت، شرایط محیطی شامل زمان و در نتیجه شرایط دمایی متفاوت و نیز طول مدت انجام آزمایش باشد (پژوهش حاضر در انتهای فصل فعالیت زنبوران و محدوده دمایی ۸ تا ۲۰ درجه انجام شد). در این پژوهش، با وجود تفاوت محسوس در رشد جمعیت نوزادان در دو تیمار مورد بررسی، این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (۱۷). Underwood و Currie (۲۰۰۵) گزارش کردند که دما روی کارایی کنه کشی و حشره کشی غلظت‌های مختلف اسید فرمیک و اسید اگزالیک تاثیر دارد و لازم است در اقلیم‌های مختلف بهترین غلظت جهت کنترل کنه‌واروآ در کلنی‌های زنبورعسل شناسایی شود (۲۳). عبداله پور و شاددل تلی (۱۳۹۷) تاثیر غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک و استیک روی کنترل کنه‌واروآ را مورد ارزیابی قرار دادند و کارایی کنه کشی بالایی را برای غلظت ۴ درصد اسید اگزالیک گزارش کردند که با نتایج مطالعه حاضر، هم از لحاظ غلظت اسید و هم کارایی، همخوانی داشت (۳). میزان بازدهی تاثیر اسید فرمیک ۳۰ درصد، اسید اگزالیک۳/۲ درصد، تیمول و منتول روی تلفات کنه در کلنی‌های زنبورعسل توسط Gunes و همکاران (۲۰۱۷) در محدوده ۹۰ تا ۹۴ درصد گزارش شد که با کارایی بالای اسید فرمیک و اگزالیک جهت کنترل کنه‌واروآ در پژوهش حاضر مطابقت دارد (۱۲). Giovenazzo و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی اثر دو اسید آلی اسید فرمیک و اسید اگزالیک بر کنترل کنه واروا گزارش نمودند که اسیدهای آلی مذکور می-توانند جمعیت قابل توجهی از کنه ها را از بین برند اما با توجه به شرایط زمانی استفاده از آنها که فصل بهار و اردیبهشت ماه بود باعث کاهش تولیدات و در برخی موارد باعث از بین رفتن، گم شدن و کاهش تخمریزی ملکه شدند. لذا پیشنهاد نمودند که جهت حصول نتیجه بهتر، استفاده از اسیدهای آلی جهت کنترل کنه‌واروآ در فصل‌های معتدل سال و زمانی که تخم‌ریزی در کندو کم است، انجام شود (۱۳).

براساس نتایج مطالعه حاضر، بیشترین تلفات زنبورها نیز در تیمار اسید فرمیک ۴۵ درصد مشاهده شد. اگرچه میزان تلفات زنبوران بالغ در هیچ یک از تیمارها از ۲/۵ درصد کل جمعیت کلنی فراتر نرفت. در مطالعه Adjlane و همکاران (۲۰۱۶)، تیمار ۴/۲ درصد اسید اگزالیک ضمن ایجاد تلفات معنی‌دار در زنبوران باعث کاهش تولیدات و استرس زیاد در کلنی ها گردید؛ لذا این محققان استفاده از دز ۳/۲ درصد به‌صورت قطره‌چکانی یا اسپری به عنوان بهترین دز در کنترل کنه ها با کمترین اثر مرگ ومیر روی زنبورها گزارش و پیشنهاد دادند(۶). همچنین،

Toomemaa و همکاران (۲۰۱۰) غلظت ۰/۵ تا ۲ درصد محلول آبی اسید اگزالیک را روی کنه‌واروآ و زنبوران عسل بررسی نمودند و نتیجه گیری کردند که محلول ۰/۵ درصد اسید اگزالیک اثر کنترل کننده روی کنه‌واروآ داشته و هیچ اثر منفی روی زنبوران عسل نداشت در حالی که غلظت های بالاتر اسید اگزالیک بین یک الی ۲ درصد روی زنبوران تأثیر منفی نشان داد. در کل به این نتیجه دست یافتند که استفاده مداوم و سالانه از اسید اگزالیک ۰/۵ درصد یک یا دو مرتبه در پاییز (در کلنی‌های بدون نسل نوزاد) می‌تواند علاوه بر کنترل مطلوب کنه‌واروآ هیچ اثر منفی بر روی زنبوران نداشته باشد (۲۲). Pietropaoli و Formato (۲۰۲۲) گزارش کردند اختلاط اسید فرمیک و اسید اگزالیک کارایی آنها را جهت کشندگی کنه‌ها در کلنی‌های زنبورعسل بالا می برد اما با توجه به تلفات درصد محسوسی از زنبورها، لازم است قبل از اعمال این ترکیب قدرت کلنی‌ها سنجیده شود و از کلنی‌های قوی استفاده شود (۱۸).

در مطالعه حاضر، غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک به صورت محلول در آب تهیه و به روش اسپری روی تیمارهای آزمایشی اعمال گردید و بالاترین درصد تلفات مربوط به اسید اگزالیک ۴/۵ درصد بود که این غلظت از لحاظ تلفات روی کنه‌ها با اسید فرمیک ۴۵ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت. Toomemaa وهمکاران (۲۰۱۰) تاثیر سمیت غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک آماده شده در محلول ساکارز و آب روی کنه‌ها و زنبورها با استفاده از تست غوطه‌وری زنبورها در قفس و حالت اسپری مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که تهیه اسید اگزالیک به صورت محلول در آب و با روش اعمال اسپری بالاترین تاثیر را روی کنه‌ها بدون سمیت قابل توجه روی زنبورها نشان داد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (۲۲). در مطالعه دیگری، کارایی اسید اگزالیک را به عنوان یک کنه‌کش در کلنی‌های زنبورعسل با روش‌های اسپری کردن، تبخیر و قطره چکانی مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های این پژوهش با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت و بر کارایی بالا اسید اگزالیک به روش اسپری کردن و بدون تاثیر قابل توجه روی زنبورها دلالت داشت (۲۰).

رشد و نمو کنه‌ی واروآ همزمان با رشد و نموی کندو در اوایل فصل زنبورداری شروع می‌شود و بدین ترتیب، جمعیت کنه‌ها در اوایل فصل در کلنی در حداقل و در انتهای فصل در حداکثر است. بنابراین، زمان مبارزه علیه این آفت در کلنی‌های زنبورعسل با اسیدهای ارگانیک مثل اسید فرمیک و اسید اگزالیک بسیار مهم است. با توجه به نتایج مطلوب مطالعه حاضر و همچنین به دلیل نفوذ کم اسیدهای ارگانیک بخصوص اسید اگزالیک درون سلول‌های شفیرگی، توصیه می‌گردد زمان مبارزه علیه کنه‌واروآ با اسیدهای ارگانیک، در زمان حداقل وجود نوزاد در کلنی یعنی انتهای فصل زنبورداری صورت گیرد زیرا در این موقع از سال، کندو دارای حداقل نوزاد و حداکثر جمعیت کنه روی زنبورهای بالغ است و این موضوع یکی از دلایل عمده انجام مطالعه حاضر در انتهای فصل زنبوداری (شهریور ماه) در منطقه مورد مطالعه بود. بنابراین با توجه به نتایج مطالعه حاضر و همخوانی با مطالعات پیشین، پیشنهاد می‌گردد از اسیدا اگزالیک تهیه شده بر پایه محلول آبی و با روش اعمال اسپری بعد از فصل برداشت عسل در منطقه (به علت وجود حداقل نوزاد در کلنی و حضور اکثریت کنه‌ها روی زنبورهای بالغ) جهت کنترل کنه‌واروآ در کلنی‌های زنبورعسل استفاده شود.

در مطالعه حاضر درصد باقیمانده آلودگی کنه‌واروآ در کلنی‌ها پس از اجرای آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست‌آمده نشان داد که کمترین میزان آلودگی باقیمانده به ترتیب مربوط به تیمار اسید فرمیک ۴۵ درصد (۰/۶۶ درصد) و اسید اگزالیک ۴/۵ درصد (۲/۰۶ درصد) بود. براساس نتایج بدست آمده، از لحاظ این صفت بین این دو تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی با بیشتر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند. مطالعه حاضر در شرایط اقلیمی منطقه قشلاق شهرستان نوبران استان مرکزی انجام شد. براساس نتایج بدست آمده اسید فرمیک ۴۵ درصد و اسید اگزالیک ۴/۵ درصد دارای بیشترین تلفات روی کنه‌ها با کمترین درصد باقیمانده آلودگی به کنه پس از اعمال آن در کلنی‌های آزمایشی بودند. به‌طور کلی، با توجه به کارایی مطلوب‌تر اسید اگزالیک ۴/۵ درصد (از لحاظ تلفات کمتر روی زنبورها) نسبت

به اسید فرمیک ۴۵ درصد در مطالعه حاضر و با توجه به دلایل مطلوب دیگر از جمله بهای ارزان آن، در دسترس بودن، حداقل اثر باقیمانده در عســل و سایر فرآورده‌های کندو و میزان تلفات کمتر در زنبورها در کلنی‌های زنبورعسل زنبورستان‌هایی با شرایط اقلیمی مشابه مطالعه حاضر بعد از فصل برداشت عسل و خنک شدن هوا در منطقه (شهریورماه) جهت کنترل این آفت توصیه می‌گردد.

نتیجه‌گیری

با توجه به شیوع بالای واروازیس در زنبورستان‌های کشور، اهمیت اقتصادی خسارت آن و عوارض و اثرات نامطلوب استفاده از سموم شیمیایی در کنترل این آفت، در مطالعه حاضر تاثیر غلظت-های مختلف اسید فرمیک و اسید اگزالیک جهت کنترل کنه‌واروآ در کلنی‌های زنبورعسل در شرایط اقلیمی منطقه قشلاق از توابع شهرستان نوبران استان مرکزی مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج مطالعه حاضر، مطلوب‌ترین تاثیر براساس میزان درصد تلفات روی کنه‌ها و کمترین باقیمانده آلودگی در کلنی‌ها بین غلظت‌های مختلف این دو اسید در مطالعه حاضر مربوط به غلظت اسید فرمیک ۴۵ درصد و اسید اگزالیک ۴/۵ درصد بود. بین این دو تیمار برتر از لحاظ میزان تلفات کنه و آلودگی باقیمانده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما با توجه به تفاوت معنی‌دار میزان تلفات زنبوران در این دو تیمار و تلفات کمتر زنبوران در تیمار اسید اگزالیک ۴/۵ درصد و نیز در دسترس بودن آن برای زنبورداران و صرفه‌ی اقتصادی آن از لحاظ قیمت، استفاده از این تیمار (یعنی اسید اگزالیک ۴/۵ درصد) برای کنترل کنه‌واروآ در زنبورستان-های با شرایط آب و هوایی و اکولوژیکی مشابه منطقه مورد بررسی در پژوهش حاضر، پیشنهاد می‌گردد. با توجه به اینکه بالاترین دزهای اسید اگزالیک و اسید فرمیک بیشترین تاثیر را در کنترل کنه‌واروآ در مطالعه حاضر داشته‌اند بنابراین، ارزیابی دزها یا غلظت‌های بالاتر در تحقیقات بعدی توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از تمام زنبورداران شهرستان نوبران استان مرکزی به خاطر کمک در نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه و مسئولین آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

بحرینی، ر. ۱۳۸۴. مقایسه دو روش استعمال اسید اگزالیک در کنترل کنه واروآ؛ پارازیت خارجی کلنی‌های زنبورعسل، دانش کشاورزی، جلد ۲، دوره ۱۵، صفحه ۶۳-۵۵.

فرهنگ دوست، آ.، غفاری، م.، هاشمی، ع.، رحیمی، ع. ۱۴۰۱. ارزیابی هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی و بررسی ارتباط آن با صفات تعداد آلل‌های جنسی، تولید عسل و جمعیت بالغین در کلنی‌های زنبورعسل (*Apis mellifera meda*) استان‌های آذربایجان شرقی و اردبیل، پژوهش‌های جانوری، در نوبت چاپ.

عبداله پور، ع.، شاددل تلی، ع. ۱۳۹۷. بررسی امکان استفاده از اسید استیک و اسید اگزالیک در کنترل کنه واروآی زنبورعسل، همایش ملی فرآورده‌های زنبورعسل از منظر زیست شناسی، سلامت و اقتصاد، اردیبهشت ۱۳۹۷، صفحه ۱-۱۵.

رحیمی، ع. ۱۴۰۰. کنه واروآ. آفت مخرب کلنی‌های زنبورعسل، نشر آموزش کشاورزی، ۲۸ صفحه.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal Economic Entomology, 18, PP: 265-267.

Adjlane, N., Tarek, E.O., Haddad. (2016). N. Evaluation of Oxalic Acid treatments against the Mite Varroa destructor and Secondary Effects on Honey Bees Apis mellifera. J Arthropod Borne Dis. 10(4):501-509.

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.

Anderson, D., & Trueman, J. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroide) is more than one species. Journal of Experimental Applied Acarology, 24, PP: 165-189.

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.

Genath, A., Petruschke. H., Bergen, M., & Einspanier, R. 2021. Influence of formic acid treatment on the proteome of the ectoparasite *Varroa destructor*. PLOS ONE, 16(10), PP: 1-15.

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, PP: 175-181.

Giovenazzo, P., Dubreuil, P. (2011). Evaluation of spring organic treatments against Varroa destructor (Acari: Varroidae) in honey bee Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada. Exp Appl Acarol. 55(1): 65-76.

Mondragon, L., Spivak, M., & Andame, R. 2005. A multifactorial study of resistance of honey bees *Apis mellifera* to the mite *Varroa* destructor over one year in Mixico. Journal of EDP science, 36, PP: 345-358.

Morton, J., Ball, R., Brown, M., & Wilkins, S. 2000. Managing *Varroa.* Central Science Laboratory and Department for Environment, Food and Rural Affairs, London, UK, 1-36.

Noor, I., Muhammad, A., Ehsan, U., & Falak, N. 2020. Comparative field efficiency of the extracts of plant materials for controlling *Varroa destructor* in relation to brood development in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. International Journal of Biosciences, 16 (1), PP: 126-138.

Pietropaoli, M., & Formato, G. 2018. Liquid formic acid 60% to control varroa mites (*Varroa destructor*) in honey bee colonies (*Apis mellifera*): protocol evaluation. Journal of Apicultural Research, 57 (2), PP: 300-307.

Pietropaoli, M., & Formato, G. 2022. Formic acid combined with oxalic acid to boost the acaricide efficacy against *Varroa destructor* in *Apis mellifera.* Journal of Apicultural Research, 61 (1), PP: 320–328.

Ramsey, S.D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbronson, 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.

Rademacher, V., & Harz, M. 2006. Oxalic acid for the control of Varroosis in honey bee colonies – a review. Apidologie, 37, PP: 98–120.

Rahimi, A., Mirmoayedi, A., and Khanjani, M. 2014. Dispersion type of *Varroa* mite (Acari, Varroidae) Among the Bee hives in Kurdistan Province, Iran. International Journal of Farming and Allied Sciences, 3 (3), PP: 255-259.

Toomemaa, K., Martin, A., & Williams, I. H. 2010. The effect of different concentrations of oxalic acid in aqueous and sucrose solution on *Varroa* mites and honey bees. Apidologie, 41, PP: 643–653.

Underwood, R.M., & Currie, R.W. 2005. Effect of Concentration and Exposure Time on Treatment Efficacy Against *Varroa* Mites (Acari: Varroidae) During Indoor Winter Fumigation of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) with Formic Acid. Apiculture and Social Insects, 98(6), PP: 1802-1809.

Zemene, M., Bogale, B., Derso, S., Belete, S., Melaku, S.,& Hailu, H. 2015. A review on *Varroa* mites of honey bees. Academic journal of Entomology, 8 (3), PP: 150-159.