Comparison of the application methods of Varroa control strip and oxalic acid solution on infection rate of Varroa mite and growth population in honey bee colony (*Apis mellifera* L.)

Mohammad Hamidi[1], Behrouz Dastar[1], Vahid Rahiminejad [2], Shahram Kotook[1]

1-Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2-Department of Entomology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
dastar@gau.ac.ir
https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.91096.1224

Introduction: The *Varroa* mite (Varroa destructor Anderson and Trueman) is one of the most important and destructive parasites of the honey bee (*Apis mellifera* L.), which causes irreparable damage to the beekeeping industry. The reduction of protein concentration and hemolymph volume depends on the number of mites feeding on the pupa. The mite is also a vector of some honey bee viruses such as Kashmir honey bee virus (KBV), Sac–brood virus (SBV), acute bee paralysis virus (ABPV), acute paralysis virus Israeli (IAPV) and Deformed wing virus (DWV). Using chemical drugs is the most common way to fight against ticks. Today, it is known that these drugs have not only created a kind of resistance in the mite, which accumulates in honey, beeswax, and other beehive products and enters the human food cycle besides reducing the quality and nutritional value of honey, but they also harm the human body.
Materials and methods: This research is aimed at controlling the Varroa mite population by comparing the effectiveness of fluvalinate chemical substance and paper towels impregnated with oxalic acid on the percentage of mites, the number of pupae, the number of total births, the amount of pollen and honey production in the form of a replication plan in time with three treatment and four repetitions were performed. The treatments included the control (without the use of mite killers), the treatment of paper towels impregnated with oxalic acid and glycerin, the treatment of the mite killer tape containing fluvalinate, which was conducted in three periods of 26 days to check the number of pupae, the total number of births, the amount of pollen and honey production and in four periods of 18 days, the treatments were studied to evaluate the percentage of aphids. First, he chose two to three frames where the pupae are about to leave or have just left the cell. Then we shake the frame on a pan and pour a glass with a capacity of 300 bees from inside the pan into a plastic bottle that contains 100 cc or more of alcohol and immediately close the lid of the bottle. Then, the fallen mites were counted. Finally, the number of counted mites is divided by the number of bees to get the contamination percentage. Suppose there is no infestation in the colony. In that case, the mite should be given artificially along with the frame from the hive whose percentage of mite is known to the mite-free colony. Then, a sample was taken from the colony after a week for better mite distribution inside the colony.
Results and discussion: The treatments were studied in three time periods with 26-day intervals. The results showed no significant difference in the number of mites in the treatments in different periods, but in the third period, the highest percentage of mites was related to the oxalic acid treatment, which had a significant difference from the control treatment ($P < 0.05$). There was no significant difference between the treatments regarding the number of pupae, the total number of births and honey production. However, the difference between different periods was significant ($P<0.05$), and these values were in the first period from the rest of the periods. It has been more and has decreased in the following periods. On August 17th and September 14th, the highest pollen reserves were observed; on July 22nd, the lowest pollen reserves were observed, significantly different ($P<0.05$). The oxalic acid strip may help to maintain sufficient acid concentration inside the colonies for a long time. In addition, combining glycerin with oxalic acid can help keep the drug longer in the hive and thus the mites (including those emerging from

the brood cells). The significance of the difference between the treatments at different times is because the bee genotype, temperature changes, the amount of nectar, and the amount and composition of pollen are very important factors that affect the amount of pupa. The birth rate of fluvalinate anti-mite strip treatment compared to the control treatment led to a 9.7% decrease in the birth rate. One of the reasons for the difference in reproduction within the treatment in different periods can be pointed to the empty cells for the queen to lay eggs. Considering that the normal temperature range of the colony is 33 to 36 degrees and the outside temperature of the colony was 36 to 42 degrees in August, we can point to the role of heat stress in the birth rate.

Conclusion: From this experiment, it can be concluded that natural mite killers such as oxalic acid can be a suitable substitute for chemical substances that do not negatively affect the amount of pupa, pollen and honey. Considering that the mite-repelling property of paper towels containing glycerine and acid oxalic has been increasing compared to fluvalinate tape. On the other hand, glycerin maintains the mite-repelling properties of paper towels for up to three months; so paper towels containing glycerin and acid oxalic can be used for severe mite killing if paper towel is kept in the honey bee hive.

Key Words: Fluvalinate, Varva mite, Toxicity, Pupa

مقایسه روش‌های استفاده از نوار ضد کنه و محلول اسید اگزالیک بر میزان آلودگی کنه واروآ و رشد جمعیت کلنی زنبورعسل (*Apis mellifera L.*)

محمد حمیدی[۱]، بهروز دستار*[۱]، وحید رحیمی نژاد[۲]، شهرام کتوک[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۱/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۱۰

۱- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشجوی دکتری، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی‌گرگان، گرگان، ایران
۲- استادیار گروه حشره شناسی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
* نویسنده مسئول: بهروزدستار
آدرس پست الکترونیکی: dastar@gau.ac.ir
https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.91096.1224

چکیده

کنه واروآ یکی از مهمترین انگل‌های زنبورعسل می‌باشد که سالانه باعث تلفات هزاران کندو در سراسر جهان می شود. ازاین رو با توجه به خسارت شدید اقتصادی به زنبورداران و خسارت زیست محیطی که این انگل بوجود می‌آورد، این پژوهش جهت کنترل جمعیت کنه واروآ از طریق مقایسه کارایی ماده شیمیایی فلووالینات و دستمال کاغذی آغشته به اسید اگزالیک بر درصد کنه، میزان شفیره، میزان کل زاد و ولد، میزان گرده و تولید عسل در قالب طرح تکرار در زمان با سه تیمار و چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد (بدون استفاده از مواد کنه‌کش)، تیمار دستمال کاغذی آغشته به اسید اگزالیک و گلیسیرین، تیمار نوار کنه‌کش حاوی فلووالینات بودند که در سه دوره زمانی با فواصل ۲۶ روزه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل نشان داد که بیشترین

درصد کنه‌ریزی مربوط به تیمار اسید اگزالیک بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت (P<۰/۰۵). استفاده از نوار ضد کنه و اسید اگزالیک تاثیری بر میزان شفیره، میزان کل زاد و ولد و همچنین تولید عسل نداشتند ولی مقادیر این صفات در دوره‌ی اول به طور معنی‌داری بیشتر از سایر دوره‌ها بود (P<۰/۰۵). نتایج این آزمایش نشان می‌دهد دستمال کاغذی آغشته به اسید اگزالیک نسبت به نوار کنه‌کش فلووالینات برای مبارزه با کنه در کلنی‌های زنبور عسل موثرتر است و خطرات زیست محیطی کمتری به همراه دارد.

واژه‌های کلیدی: فلووالینات، گلیسیرین، سمیت، شفیره

مقدمه

زنبورهای عسل متعلق به خانواده زنبورهای اجتماعی (*Apidae*) هستند که از نظر گرده‌افشانی اهمیت بسیار زیادی دارند (Hashemi, 2001). با توجه به نقش این حشره در گرده‌افشانی، بیماری‌ها و انگل‌هایی که زنبورعسل را تهدید می‌کند باید سیاست‌ها در سطح جهانی، منطقه‌ای و ملی به‌گونه‌ای باشد که باعث حفظ گونه‌های زنبورعسل شوند (Samadian *et al*, 2019). کنه واروآ برای اولین بار در سال ۱۹۰۴ میلادی روی زنبورعسل هندی در کشور اندونزی دیده شد (Hashemi, 2001). کنه یکی از مهمترین و مخرب‌ترین آفات کندوهای زنبورعسل است که آسیب‌های جبران ناپذیری به صنعت زنبورداری وارد می‌کند. کاهش غلظت پروتئین و حجم همولنف به تعداد کنه‌های تغذیه‌کننده از شفیره بستگی دارد (Weinberg and Madel, 1985).کنه همچنین ناقل برخی از ویروس‌های زنبورعسل مانند ویروس زنبورعسل کشمیر (KBV)، ویروس Sac brood (SBV)، ویروس فلج حاد زنبورعسل (ABPV)، ویروس فلج حاد اسرائیلی(IAPV) و ویروس بال تغییر شکل یافته (DWV) است (Boecking and Genersch, 2008). استفاده از داروهای شیمیایی متداول‌ترین روش برای مبارزه با کنه است. امروزه مشخص شده است که این داروها نه تنها در کنه ایجاد نوعی مقاومت کرده‌اند؛ که با تجمع در عسل، موم و سایر محصولات کندو به چرخه غذایی انسان وارد شده و علاوه بر کاهش کیفیت و ارزش غذایی عسل، به بدن انسان نیز آسیب وارد می‌رسانند.

محدودیت اصلی کنترل شیمیایی کنه‌ها در کلنی‌های زنبورعسل این است که مواد شیمیایی استفاده شده باید فقط در مقابل کنه‌ها موثر باشند و برای زنبورعسل بی‌اثر بوده و نباید در محصولات کندو خاصیت تجمعی داشته باشند. از این رو، می‌توان از داروهای دودزا یا تدخینی نظیر نوار فولبکس، پریزین، آپیتول، بایوارول، آپیسان، اسید فرمیک، اسید اگزالیک، واربکس، آپیستان (فلووالینات) و نوار بای وارول استفاده کرد(Samadian *et al*, 2019).

فلووالینات حشره‌کش و کنه‌کشی از گروه پایروتیروئیدها بوده که در برابر آلودگی *V. destructor* در کلنی‌های زنبورعسل استفاده می‌شود. فلووالینات یک پیرتروئید مصنوعی است که به عنوان یک نوروتوکسین باعث دپلاریزاسیون پایدار غشاء می‌شود (Ilyasov *et al*, 2021). اگرچه زنبورهای عسل در برابر کنه‌کش‌ها مقاومت بیشتری دارند، اما این مواد شیمیایی بر تولید مثل، بویایی و تولید زنبورهای عسل تاثیر منفی دارند (Ilyasov *et al*, 2021). اسید اگزالیک دی هیدرات یکی از مهمترین اسیدهای آلی است که برای کنترل کنه واروآ استفاده می‌شود. اسید اگزالیک یک اسید دی‌کربوکسیلیک است و

تقریباً ۱۰ هزار برابر قوی‌تر از اسید استیک است. اسید اگزالیک معمولاً در بخش صنعتی به عنوان یک عامل سفید کننده چوب، ماده خشک کننده در فرآیندهای رنگرزی و یک پیش تصفیه سطح برای فولادهای زنگ نزن قبل از اعمال یک پوشش بازدارنده خوردگی استفاده می‌شود. اسید اگزالیک همچنین در بخش خانگی به عنوان پاک‌کننده خانگی و زدودن زنگ استفاده می‌شود (Aliano, 2008). اسیداگزالیک یک ترکیب طبیعی عسل است که در مقادیر بین ۸ تا ۱۷۰۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در عسل‌های مختلف وجود دارد (Mutinelli *et al*, 1997). اسید اگزالیک همچنین یک ترکیب گیاهی طبیعی است که در غذاهای معمولی مصرف شده توسط انسان و سایر حیوانات مانند اسفناج، ریواس و چغندر یافت می‌شود (Moosbeckhofer *et al*, 2003). تحقیقات نشان داده است طول عمر زنبور عسل به میزان قابل توجهی پس از درمان با اسید اگزالیک کاهش می‌یابد. اسید اگزالیک می‌تواند به اندام‌های داخلی برسد، ساختار میکروارگانیسم‌ها را در دستگاه گوارش زنبور تغییر دهد و بر سیستم عصبی و در نتیجه بر توانایی یادگیری زنبورعسل تأثیر بگذارد (Rademacher, 2017). طی پژوهش آزمایشگاهی که در مورد نحوه عمل اسید اگزالیک انجام شد نشان داده شد که تماس فیزیکی کنه‌های واروآ با کریستال‌های اسید اگزالیک سبب از بین رفتن آن‌ها شد (Aliano, 2006). با توجه محدودیت‌هایی نظیر وجود مولد درکلنی، نیاز به تکرار دفعات مبارزه با کنه در طول سال و زمانبر بودن عملیات مبارزه با کنه، نیاز به توسعه یک روش جدید آزادسازی مداوم چند روزه با استفاده از اسید اگزالیک وجود دارد که کنه واروآ را هنگام خروج از سلول‌های مولد زنبورعسل هدف قرار دهد (Baker, 2010). گلیسیرین دارای ویسکوزیته بالایی است (Oberstar and Segur, 1951). این خاصیت شیمیایی به انتشار اسید در بین زنبورها در مدت زمان طولانی‌تری در مقایسه با سایر فرمول‌های نواری بدون گلیسیرین کمک می‌کند و کارایی آن را افزایش می‌دهد. استفاده از ترکیب گلیسیرین با اسید اگزالیک می‌تواند به نگهداری دارو برای مدت طولانی‌تری در داخل کندو و در نتیجه از بین بردن کنه‌ها (از جمله آن‌هایی که از سلول‌های مولد بیرون می‌آیند) کمک کند. در پژوهش‌های صورت گرفته جهت استفاده توام اسید اگزالیک و گلیسیرین، نوارهایی از جنس سلولز (۴۵ سانتی متر× ۳ سانتی متر× ۱/۵ میلی‌متر) که هر کدام حاوی ۱۰ گرم اسید اگزالیک مخلوط با ۲۰ میلی‌لیتر گلیسیرین بود، استفاده شد. هر نوار روی قاب‌های ۲، ۴، ۶ و ۸ قرار داده شد. کنه‌های در حال سقوط پس از ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روز با استفاده از ورق چسبناک ته کندو که مخصوص جمع‌آوری کنه‌های مرده است، شمارش شدند که در نهایت میانگین کارایی محصول ارگانیک ۹۳/۱ درصد بود (Maggi *et al*, 2016). از این رو، با توجه به استفاده بی رویه فلووالینات در صنعت زنبورداری و مقاوم بودن کنه واروآ، از اسیداگزالیک به همراه گلیسیرین به عنوان روشی جایگزین با رهش طولانی برای مبارزه با آلودگی کلنی زنبور عسل به کنه واروآ استفاده شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش جهت کنترل جمعیت کنه واروآ از طریق مقایسه کارایی ماده شیمیایی فلووالینات و دستمال کاغذی آغشته به اسید اگزالیک بر درصد کنه، میزان شفیره، میزان کل زاد ولد، میزان گرده و تولید عسل در قالب طرح تکرار در زمان با سه تیمار و چهار تکرار در فاصله زمانی تیر تا شهریور ماه سال ۱۴۰۲ در حومه شهرآشخانه در ارتفاع ۸۰۰ متر از سطح دریا و در دمای ۱۷ تا ۴۰ درجه

سانتی‌گراد انجام شد. تیمارها شامل شاهد (بدون استفاده از مواد کنه‌کش) تیمار دستمال کاغذی آغشته به اسید اگزالیک و گلیسیرین، تیمار نوار کنه‌کش حاوی فلووالینات بودند که در فواصل چهار دوره ۱۸ روزه برای بررسی درصد کنه‌ریزی تیمارها و سه دوره ۲۶ روزه برای بررسی میزان شفیره، میزان کل زاد ولد، میزان گرده و تولید عسل مورد بررسی قرار گرفتند. در این پژوهش از ۱۲ کندو با ملکه نژاد کارنیکا هم‌سن استفاده گردید و کندو ها از لحاظ میزان شفیره و گرده و عسل یک‌سان سازی شدند. همچنین جهت برآورد میزان کنه درکلنی از روش دقیق و سریع استفاده از الکل مایع ۷۰ درصد استفاده شد. ابتدا بررسی شد که بر روی قاب مورد نظر ملکه نباشد. سپس دو تا سه قاب که شفیره‌ها در آستانه خروج یا به تازگی از سلول خارج شده‌اند انتخاب شد، زیرا این قاب‌ها معرف خوبی از میزان کنه در کندو می‌باشند. سپس قاب بر روی یک تشت تکان داده شد و یک لیوان به ظرفیت ۳۰۰ عدد زنبور از داخل تشت پر و در داخل بطری پلاستیکی که حاوی حدود ۱۰۰ سی‌سی الکل بود ریخته و بلافاصله درب بطری بسته شد. زنبور حاوی الکل از یک توری عبور داده شد و سپس کنه‌های ریزش کرده شمارش شد. در نهایت تعداد کنه‌های شمارش شده بر تعداد زنبور تقسیم شد و درصد آلودگی بدست آمد (Kozac *et al.*, 2012).

روش آماده سازی تیمار اسیداگزالیک بدین صورت بود که ابتدا ۲۰ سی‌سی گلیسیرین با سرنگ درون ظرف شیشه‌ای مقاوم به حرارات تخلیه شد. سپس ظرف حاوی گلیسیرین تا دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به صورت غیرمستقیم حرارت داده شد. جهت آماده کردن میزان اسید اگزالیک مورد نیاز (۳۰ گرم) با پوشیدن ماسک، دستکش پلاستیکی و عینک اقدام به وزن کشی اسید اگزالیک با ترازوی دیجیتال شد و درون ظرف شیشه‌ای حاوی گلیسیرین که به دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد رسیده اضافه گردید و با قاشق پلاستیکی (استفاده از قاشق فلزی با توجه به واکنش شیمیایی با اسید اگزالیک ممنوع می‌باشد) آن را هم زده تا اسید اگزالیک مخلوط شده در گلیسیرین به رنگ شفاف درآید. بعد از اینکه به رنگ شفاف درآمد شعله خاموش شد تا محلول ولرم گردد. بعد از آن دستمال کاغذی حوله‌ای به ابعاد ۴۰ ×۴۰ سانتی‌متر با اسید اگزالیک و گلیسیرین آغشته و بر روی قاب قرار داده شد. با توجه به خطرناک بودن بخار اسید اگزالیک لازم به توضیح است این عمل در فضای باز انجام شد (Baker, 2020).

نوار پلاستیکی فلووالینات طبق شرکت سازنده حاوی ۱۰٪ ماده فلووالینات بود. براساس توصیه شرکت سازنده این نوارها ۶ تا ۸ هفته درون کندو قرار داده شد و بعد از آن با توجه به بحث مقاومت دارویی و سمیت برای محصولات تولیدی زنبورعسل جمع‌آوری شدند.

برای اندازه‌گیری میزان کنه در تیمارها هر ۱۸ روز یک‌بار ابتدا ملکه کندو را شناسایی کرده و قاب آن از سایر قاب‌ها تفکیک شد. جمعیت دو تا سه قاب مولد تازه خارج شده که روی قاب شفیره قرار دارند را درون تشت تکان داده و از هر تکرار به مقدار ۳۰۰ عدد زنبور که معادل ۳۰ گرم زنبور می‌باشد را درون بطری حاوی ۱۰۰ سی‌سی الکل ریخته، سپس آن را به‌مدت یک دقیقه بصورت گردبادی هم زده تا کنه‌های چسبیده از زنبور جدا و شمارش شدند. نحوه شمارش بدین صورت بود که بطری‌های حاوی زنبور به همراه الکل داخل صافی خالی شد. قطر منافذ صافی یه اندازه‌ای بود تا کنه (با چشم غیر مسلح قابل دیدن است) از صافی عبورکرده و در داخل ظرف شفاف شمارش و ثبت گردید. جهت اطمینان بیشتر مجدداً زنبور را با الکل در داخل صافی هم زده تا کنه‌های احتمالی چسبیده به زنبور

که در داخل ظرف شفاف ته نشین می‌شوند نیز یادداشت شوند و در نهایت اقدام به شمارش زنبور در داخل سینی شد.

برای بررسی رشد جمعیت کلنی شامل تعداد سلول شفیره، تولید لارو، ذخیره گرده و عسل از طلق شفاف خط‌کشی شده به مساحت ۱۰۰ سانتی‌متر مربع (۱۰ × ۱۰ سانتی‌متر) استفاده شد. ابتدا تعداد شفیره و لارو در ابعاد ۱۰۰ سانتی‌متر مربع شمارش شد و سپس میزان کل شفیره و تولید لارو هر کلنی محاسبه گردید (Delaplane *et al*, 2013). برای ذخیره گرده نیز ابتدا سطح ذخیره گرده برای هر قاب اندازه‌گیری شد و سپس به اندازه یک اینچ مربع از سطح قاب برش و توزین شد. مقدار کل مساحت ذخیره گرده اندازه‌گیری شده در وزن هر اینچ مربع ذخیره گرده ضرب و محاسبه شد. مقدار ذخیره عسل بر حسب گرم نیز از ضرب مساحت ذخیره عسل اندازه‌گیری شده هر قاب بر حسب سانتی‌متر مربع در عدد ۱/۷۹ محاسبه شد (Murilhas, 2002).

داده‌های آزمایش با استفاده از نسخه ۹/۴ نرم‌افزار SAS (2013) در قالب طرح تکرار در زمان بر اساس رویه Mixed آنالیز شدند. مقایسه میانگین تیمارها و دوره‌های مختلف پرورش با استفاده از آزمون تی محافظت شده (Protected t-test) انجام شد. نتایج به صورت میانگین حداقل مربعات به همراه خطای استاندارد گزارش شد.

نتایج و بحث

مقایسه کنه‌ریزی در تیمارها

اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کنه‌ریزی در جدول ۱ گزارش شده است. میزان کنه‌ریزی در دوره‌های مختلف زمانی اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، ولی در دوره‌ی چهارم آزمایش تیمار اسید اگزالیک دارای بیشترین درصد کنه‌ریزی بود که در مقایسه با تیمار نوار ضد کنه (فلووالینات) اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). اما در تیمار اسید اگزالیک با شاهد اختلاف معنی‌داری دیده شد که تیمار اسید اگزالیک دارای بیشترین درصد کنه‌ریزی بود ($P<۰/۰۵$) ولی بین تیمار نوار ضد کنه فلووالینات با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در موافقت با نتایج حاضر (۲۰۱۰) Baker نیز گزارش کرد استفاده از اسید اگزالیک به میزان ۶ گرم و گلیسیرین به میزان ۵ میلی‌لیتر سبب کاهش جمعیت کنه در مقایسه با تیمار شاهد شد ($P<۰/۰۵$). همچنین در پژوهشی که توسط (Maggi *et al*, 2016) در مورد کاربرد اسید اگزالیک با گلیسیرین انجام شد به‌این نتیجه رسیدند که فرمولاسیون اسید اگزالیک (۴۰ گرم اسید اگزالیک +۲۰ میلی‌لیتر گلیسرین و ابعاد دستمال مورد استفاده ۴۵ × ۱۲ سانتی‌متر)کارایی (۹۳ درصد) بالایی داشت و می‌توان شاخص‌های شیوع کنه واروآ را در کلنی‌ها پایین نگه داشت. ماتریس نوار اسید اگزالیک ممکن است به حفظ غلظت اسید کافی در داخل کلنی‌ها برای مدت طولانی (۴۲ روز) کمک کند. علاوه بر این، ترکیب گلیسیرین با اسید اگزالیک می‌تواند به نگهداری دارو برای مدت طولانی‌تری در داخل کندو و در نتیجه کنه‌ها (از جمله آن‌هایی که از سلول‌های نوزادی بیرون می‌آیند) کمک کند. همچنین در پژوهشی دیگر، ۷۲گرم اسید اگزالیک در ۳۰ میلی‌لیتر آب داغ حل شد و سپس با ۷۸ میلی‌لیتر گلیسیرین مخلوط شد که بر روی هر کندو دو دستمال (۱۳/۸ × ۲۶/۴ سانتی متر) قرار دادندکه باعث ریزش ۷۹ درصدی کنه شد (Sabahi *et al*., 2020).

جدول ۱. میانگین حداقل مربعات (± خطای معیار) میزان کنه واروا بر حسب درصد

Table 1. The least-square means (± standard error) of Varva mite rate as percentage

دوره‌ی آزمایش Period of experiment	شاهد Control	نوار فلووالینات Fluvalinate	اسید اگزالیک Oxalic acid	میانگین دوره‌ها Average of periods
دوره اول First period	4.5 ± 1.43	4.5 ± 1.43	4.5 ± 1.43^{ab}	4.5 ± 0.82
دوره دوم Second period	7.25 ± 1.43	5.5 ± 1.43	5.75 ± 1.43^{a}	6.16 ± 0.82
دوره سوم Third period	4.5 ± 1.43	3.75 ± 1.43	4.75 ± 1.43^{ab}	4.23 ± 0.82
دوره چهارم Fourth period	4.5 ± 1.43 ^{A}	5.0 ± 1.43 ^{A}	1.0 ± 1.43$^{b, B}$	4.58 ± 0.82
میانگین تیمارها Average of treatments	6.0 ± 0.71^{A}	4.68 ± 0.71^{AB}	4.0 ± 0.71^{B}	

^{a,b} حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در دوره‌های مختلف هستند (P<0.05).

^{a,b} Dissimilar letters in each column indicate a significant difference in different periods (P<0.05).

^{A,B} حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایش هستند (P<0.05).

^{A,B} Dissimilar letters in each row indicate a significant difference between different treatments (P<0.05).

مقایسه تعداد شفیره در تیمارها

تاثیر تیمارهای آزمایش بر میزان شفیره در جدول ۲ گزارش شده است. هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در میزان شفیره وجود نداشت ولی دوره‌های مختلف با هم اختلاف معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵) که دوره اول دارای بیشترین میزان شفیره بود. علت معنی‌دار بودن اختلاف تیمارها در زمان‌های مختلف به این علت است که ژنوتیپ زنبورعسل، تغییرات دمایی، میزان شهد (*et al.*, Kel l er 2005)، میزان و ترکیب گرده (Schmi ckl and Crai l shei m, 2002) عامل بسیار مهم و تاثیرگذار بر میزان شفیره می‌باشد. همچنین گزارش شده است دمای محیط، در دسترس بودن عسل و گرده عوامل تعیین‌کننده حداکثر نرخ پرورش نوزاد بودند (Schmickl., and Crai l shei m2004).

جدول ۲. میانگین حداقل مربعات (± خطای معیار) میزان شفیره بر حسب تعداد سلول

Table 2. The least-square means (± standard error) of pupa as number of cell

دوره‌ی آزمایش Period of experiment	شاهد Control	نوار فلووالینات Fluvalinate	اسید اگزالیک Oxalic acid	میانگین دوره‌ها Average of periods
دوره اول First period	5778.5 ± 522.03^{a}	8193.7 ± 522.03^{a}	8491.5 ± 522.03^{a}	8472.9 ± 301.39^{a}
دوره دوم Second period	5500.0 ± 522.03^{b}	6462.5 ± 522.03^{b}	5468.7 ± 522.03^{b}	5810.4 ± 301.39^{b}
دوره سوم Third period	3981.2 ± 522.03^{c}	4156.2 ± 522.03^{c}	3468.7 ± 522.03^{c}	3868.7 ± 301.39^{c}
میانگین تیمارها Average of treatments	6889.6 ± 301.39	6270.8 ± 301.39	5791. 7 ± 301.39	

^{a,b} حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در دوره‌های مختلف هستند (P<0.05).

[a,b] Dissimilar letters in each column indicate a significant difference in different periods (P<0.05).

مقایسه میزان تولید لارو در تیمارها: تاثیر تیمارهای آزمایش بر میزان تولید لارو در جدول ۳ نشان می‌دهد بین تیمارها هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. میزان تولید لارو در دوره اول نسبت به دوره دوم و سوم بیشتر بود. در پژوهشی که توسط (Ilyasov *et al*, 2021) انجام شد تولید لارو در تیمار نوار ضد کنه فلووالینات نسبت به تیمار شاهد ۹/۷ درصد کمتر بود. یکی از دلایل اختلاف تولید لارو در دوره‌های مختلف می‌تواند به واسطه سلول‌های خالی جهت تخم‌گذاری ملکه باشد (Leat hwi ck, 1997). با توجه به اینکه محدوده دمای طبیعی کلنی ۳۳ تا ۳۶ درجه سانتی-گراد می‌باشد و گرمای بیرون کلنی در دوره‌ی دوم و مصادف با مرداد ماه حدود ۳۶ تا ۴۲ درجه سانتی‌گراد بود، می‌توان به نقش تنش گرمایی در میزان تولید لارو اشاره کرد (,Abou-Shaara 2017).

جدول ۳. میانگین حداقل مربعات (± خطای معیار) میزان تولید لارو بر حسب تعداد سلول

Table 3. The least-square means (± standard error) of larva production as the number of cells

دوره‌ی آزمایش Period of experiment	شاهد Control	نوار فلووالینات Fluvalinate	اسید اگزالیک Oxalic acid	میانگین دوره‌ها Average of periods
دوره اول First period	18031.0 ± 946.02[a]	17569.0 ± 946.02[a]	18406.0 ± 946.02[a]	18002.0 ± 546.19[a]
دوره دوم Second period	10431.0 ± 946.02[b]	11475.0 ± 946.02[b]	9375.0 ± 946.02[b]	10427.0 ± 546.19[b]
دوره سوم Third period	10444.0 ± 946.02[b]	10808.0 ± 946.02[b]	9093.0 ± 946.02[b]	10115.0 ± 546.19[b]
میانگین تیمارها Average of treatments	12969.0 ± 546.19	13284.0 ± 546.19	12292.0 ± 546.19	

[a,b] حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در دوره‌های مختلف هستند (P<0.05).

[a,b] Dissimilar letters in each column indicate a significant difference in different periods (P<0.05).

مقایسه میزان گرده در تیمارها: تاثیر تیمارهای آزمایش بر میزان گرده در جدول ۴ گزارش شده است، میانگین تیمارها با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند ولی در دوره دوم تیمار اسید اگزالیک بیشترین میزان جمع‌آوری گرده را دارا بود که اختلاف معنی‌داری با دو تیمار دیگر داشت (P<۰/۰۵). در دوره سوم بین تیمار شاهد و ا سید اگزالیک اختلاف معنی‌داری بود اما تیمار ا سید اگزالیک با نوار ضدکنه اختلاف معنی‌داری با هم ندا شتند. با توجه به‌اینکه ا سید اگزالیک می‌تواند بر شفیره‌ها تاثیر منفی بگذارد (Sabová et al., 2019)، می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که میزان گرده جمع‌آوری شده مربوط به زنبورهای کارگری است که بیش از ۲۱ روز پیش متولد شده‌اند و در دوران لاروی تحت تاثیر اسید اگزالیک قرار نگرفته‌اند در نتیجه کمترین تاثیر پذیری را از اسید اگزالیک دریافت کرده‌اند و از طرفی کاهش تعداد کنه نسبت به سایر تیمارها می‌تواند عاملی تاثیرگذار بر میزان گرده درکلنی تیمار اسید اگزالیک باشد.

جدول ٤. میانگین حداقل مربعات (± خطای معیار) میزان ذخیره گرده بر حسب گرم

Table 4. The least-square means (± standard error) of pollen storage as gram

دوره‌ی آزمایش Period of experiment	شاهد Control	نوار فلووالینات Fluvalinate	اسید اگزالیک Oxalic acid	میانگین دوره‌ها Average of periods
دوره اول First period	21.7 ± 12.45^{b}	19.7 ± 12.45^{b}	20.2 ± 12.45^{c}	20.6 ± 7.19^{b}
دوره دوم Second period	$90.2 \pm 12.45^{b,B}$	$87.7 \pm 12.45^{a,B}$	$130.7 \pm 12.45^{a,A}$	102.9 ± 7.19^{a}
دوره سوم Third period	$106.5 \pm 12.45^{a,A}$	$77.7 \pm 12.45^{a,AB}$	$69.0 \pm 12.45^{b,B}$	84.4 ± 7.19^{a}
میانگین تیمارها Average of treatments	72.8 ± 7.19	61.7 ± 7.19	73.3 ± 7.19	

^{a,b} حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در دوره‌های مختلف هستند ($P<0.05$).

^{a,b} Dissimilar letters in each column indicate a significant difference in different periods ($P<0.05$).

^{A,B} حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایش هستند ($P<0.05$).

^{A,B} Dissimilar letters in each row indicate a significant difference between different treatments ($P<0.05$).

مقایسه میزان عسل در تیمارها: تاثیر تیمارهای آزمایش بر میزان عسل در جدول ۵ گزارش شده است، میزان تولید عسل بسته به ژنوتیپ زنبورعسل، شدت آلودگی به کنه واروآ و میزان نوزادان در کندو می‌تواند متفاوت باشد. دوره‌های مختلف از نظر میزان تولید عسل با هم اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<۰/۰۵$) ولی تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P>۰/۰۵$). در این آزمایش میزان کاهش عسل تیمار نوار ضد کنه فلووالینات نسب به شاهد ۷ درصد بود در حالیکه در پژوهشی که توسط سایر محققان انجام شد میزان تولید عسل در زنبورهای عسل تیمار شده با فلووالینات نسبت به شاهد ۲۱/۹ درصد کاهش یافت (Ilyasov., 2021).

جدول ۵. میانگین حداقل مربعات (± خطای معیار) میزان تولید عسل بر حسب گرم

Table 5. The least-square means (± standard error) of honey production as gram

دوره‌ی آزمایش Period of experiment	شاهد Control	نوار فلووالینات Fluvalinate	اسید اگزالیک Oxalic acid	میانگین دوره‌ها Average of periods
دوره اول First period	3177.2 ± 1165.37^{c}	3016.1 ± 1165.37^{b}	3157.3 ± 1165.37^{b}	3116.9 ± 672.83^{c}
دوره دوم Second period	13318.0 ± 1165.37^{a}	11506.0 ± 1165.37^{a}	13948.0 ± 1165.37^{a}	12924.0 ± 672.83^{a}
دوره سوم Third period	9488.3 ± 1165.37^{b}	9657.5 ± 1165.37^{a}	11528.0 ± 1165.37^{a}	10225.0 ± 672.83^{b}
میانگین تیمارها Average of treatments	8661.1 ± 672.83	8059.9 ± 672.83	9544.9 ± 672.83	

^{a,b} حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در دوره‌های مختلف هستند ($P<0.05$).

^{a,b} Dissimilar letters in each column indicate a significant difference in different periods ($P<0.05$).

استفاده از ماده شیمیایی فلووالینات در طی سال‌های گذشته منجر به مقاومت دارویی در کنه شده است و از طرف دیگر تمام نوارهای کنه‌کش موجود در بازار ممکن است استاندارد بهداشتی را نداشته باشند و با ماندگاری در عسل و سایر تولیدات زنبور عسل سلامت انسان و زنبور را به خطر اندزند. از این آزمایش چنین می‌توان نتیجه گرفت که اســتفاده از کنه‌کش‌های طبیعی مانند اســیداگزالیک می‌تواند جایگزین مناسـبی برای مواد شـیمیایی باشـد که اثر منفی در میزان شـفیره و گرده و عسـل ندارند. با توجه به اینکه ا ستفاده از د ستمال کاغذی حاوی گلی سیرین و ا سیداگزالیک ن سبت به نوار فلووالینات جمعیت کنه واروا را کاهش داد و از طرفی گلیسیرین خاصیت کنه‌کشی دستمال کاغذی را تا ۳ ماه حفظ می‌کند می‌توان نتیجه گرفت که در صورت حفظ د ستمال کاغذی می‌توان آلودگی کنه را در کلنی‌ها به حداقل ممکن رساند.

References

Kozac, P., Eccles, L., Tam, J., Kemper, M., Rawn, D., Guzman, E., & Kelly, P. (2012). Varroa-mite sampling and monitoring infestation *levels. OMAFRA Infosheet. Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs*.

Abou-Shaara, H. F., Owayss, A. A., Ibrahim, Y. Y., & Basuny, N. K. (2017). A review of impacts of temperature and relative humidity on various activities of honey bees. *Insectes Sociaux*, 64(4), 455-463. https://doi.org/10.1007/s00040-017-0573-8

Aliano, N. P. (2008). An investigation of techniques for using oxalic acid to reduce Varroa mite populations in honey bee colonies and package bees. *The University of Nebraska-Lincoln.*

Aliano, N. P., Ellis, M. D., & Siegfried, B. D. (2006). Acute contact toxicity of oxalic acid to Varroa destructor (Acari: Varroidae) and their Apis mellifera *(Hymenoptera:Apidae*) hosts in laboratory bioassays. *Journal of Economic Entomology*, *99*(5), 1579-1582. https://doi.org/10.1093/jee/99.5.1579

Baker, R. A. (2010). The parasitic mites of honeybees–past, present and future. *Apidologie*,28(2),91-96

Baker, C. (2020). Evaluating the effects of novel application methods of oxalic acid on Varroa destructor and *Apis mellifera* in the Southeastern United States (Master's thesis, Auburn University).

Boecking, O., & Genersch, E. (2008). Varroosis–the ongoing crisis in bee keeping. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, *3(2)*, 221-228. https://doi.org/10.1007/s00003-008-0331-y

Delaplane, K. S., Van Der Steen, J., & Guzman-Novoa, E. (2013). Standard methods for estimating strength parameters of Apis mellifera colonies. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-12. https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.0

Hashemi, M. (2001). A complete guide to bee breeding. Tehran, Complete Culture Publications. [In Persian]

Ilyasov, R., Sooho, L. İ. M., Lee, M. L., Kwon, H. W., & Nikolenko, A. (2021). Effect of miticides amitraz and fluvalinate on reproduction and productivity of honey bee Apis mellifera. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, *21*(1), 21-30. https://doi.org/10.31467/uluaricilik.883775

Keller, I., Fluri, P., & Imdorf, A. (2005). Pollen nutrition and colony development in honey bees: part 1. *Bee World, 86(1), 3-10*. https://doi.org/10.1080/0005772x.2005.11099641

Leathwick, D. M. (1997). Growth and development of queen colonies of Vespula germanica and V. vulgaris. New Zealand Journal of Zoology, 24(1), 17-23. https://doi.org/10.1080/03014223.1997.9518102

Maggi, M., Tourn, E., Negri, P., Szawarski, N., Marconi, A., Gallez, L., M edici, S., Ruffinengo, S., Brasesco, C., & Eguaras, M. (2016). A new formulation of oxalic acid for Varroa destructor control applied in Apis mellifera colonies in the presence of brood. *Apidologie*, *47(4)*, 596-605. https://doi.org/10.1007/s13592-015-0405-7

Moosbeckhofer, R., Pechhacker, H., Unterweger, H., Bandion, F., & Heinrich-Lenz, A. (2003). Investigations on the oxalic acid content of honey from oxalic acid treated and untreated bee

colonies. *European Food Research and Technology*, *217*, 49-52. https://doi.org/10.1007/s00217-003-0698-z

Murilhas, A. M. (2002). Varroa destructor infestation impact on *Apis mellifera* carnica capped worker brood production, bee population and honey storage in a Mediterranean climate. *Apidologie*, 33(3), 271-281. https://doi.org/10.1051/apido:2002013

Mutinelli, F., Baggio, A., Capolongo, F., Piro, R., Prandin, L., & Biasion, L. (1997). A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of varroosis. *Apidologie*, 28(6), 461-462. https://doi.org/10.1051/apido:19970612

Rademacher, E., Harz, M., & Schneider, S. (2017). Effects of oxalic acid on Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae). *Insects*, *8*(3), 84. https://doi.org/10.3390/insects8030084

Sabahi, Q., Morfin, N., Emsen, B., Gashout, H. A., Kelly, P. G., Otto, S., ... & Guzman-Novoa, E. (2020). Evaluation of dry and wet formulations of oxalic acid, thymol, and oregano oil for varroa mite (Acari: Varroidae) control in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Journal of Economic Entomology*, *113*(6), 2588-2594. https://doi.org/10.1093/jee/toaa218

Sabová, L., Sobeková, A., Staroň, M., Sabo, R., Legáth, J., Staroňová, D., Lohajová, L., Javorský, P. (2019). Toxicity of oxalic acid and impact on some antioxidant enzymes on invitro–reared honeybee larvae. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*, 19763-19769. https://doi.org/10.1007/s11356-019-05247-2

Samadian, F., Bahreni Behzadi, M., Keshavarznia, A. (2019). Bee Breeding. Agricultural Education Research Publications. [In Persian]

SAS (Statistical Analysis System). 2013. SAS User's Guide: Statistics, Release 9.4. Cary, NC: SAS Institute Incorporation.

Schmickl, T., & Crailsheim, K. (2004). Inner nest homeostasis in a changing environment with special emphasis on honey bee brood nursing and pollen supply. *Apidologie*, 35(3), 249-263. https://doi.org/10.1051/apido:2004019

Schmickl, T., & Crailsheim, K. J. B. E. (2002). How honeybees (*Apis mellifera* L.) change their broodcare behaviour in response to non-foraging conditions and poor pollen conditions. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 51, 415-425. https://doi.org/10.1007/s00265-002-0457-3

Segur, J. B., & Oberstar, H. E. (1951). Viscosity of glycerol and its aqueous solutions. *Industrial & Engineering Chemistry*, 43(9), 2117-2120. https://doi.org/10.1021/ie50501a040

Weinberg, K. P., & Madel, G. (1985). The influence of the mite Varroa jacobsoni Oud. on the protein concentration and the haemolymph volume of the brood of worker bees and drones of the honey bee *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 16(4), 421-436. https://doi.org/10.1051/apido:19850407