

Research Article

ارزیابی کارایی هایوکلین® در کنترل کنه واروا (*Varroa destructor*) و اثرات جانبی احتمالی آن روی کلنی‌های زنبورعسل (*Apis mellifera*) در استان البرز

مصطفی امینی^۱، وحید قاسمی^۱، علیرضا عرب^۱ و زهرا زرباف^۱^۱. بخش زنبورعسل، گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

چکیده: هایوکلین® کنه‌کشی است با ماده مؤثره اصلی اسید اگزالیک، که برای کنترل کنه واروا (*Varroa destructor*) توصیه می‌شود. این پژوهش با هدف ارزیابی کارایی این کنه‌کش و اثرات جانبی آن روی کلنی‌های زنبورعسل (*Apis mellifera*) از اواسط تابستان تا اواسط پاییز سال ۱۴۰۴ در شهرستان کرج انجام شد. شانزده کلنی آلوده به کنه به طور تصادفی به دو گروه تیمار و شاهد تقسیم شدند. کلنی‌های تیمار سه مرتبه و با فاصله هر هفت روز با هایوکلین® درمان شدند. کلنی‌های شاهد در طی این سه هفته با هیچ ترکیب کنه‌کشی تیمار نشدند. پس از اتمام این دوره، سطح آلودگی کلنی‌ها به روش شستشو با الکل برآورد شد. کارایی هایوکلین® بر اساس میزان تغییر در سطح آلودگی کلنی‌ها برآورد شد. اثرات جانبی این کنه‌کش روی جمعیت نوزاد و زنبور بالغ کلنی‌ها و همچنین زنده‌مانی ملکه‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد که پس از مصرف هایوکلین®، سطح آلودگی کلنی‌های تیمار از 0.72 ± 2.25 درصد به 0.63 ± 1.85 درصد تغییر پیدا کرد که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.999$). میزان کارایی هایوکلین®، 23.06 ± 36.04 درصد برآورد شد. این کنه‌کش اثر جانبی قابل‌ملاحظه‌ای روی جمعیت کلنی‌ها و زنده‌مانی ملکه به همراه نداشت. در مجموع، نتایج پژوهش حاضر بیانگر کارایی پایین هایوکلین® در کنترل کنه واروا بود. توصیه می‌شود، کارایی این کنه‌کش در سایر فصول سال و نقاط دیگر کشور نیز ارزیابی شود.

اطلاعات مقاله**دریافت:** ۱۴۰۴/۰۸/۲۷**پذیرش:** ۱۴۰۵/۰۳/۲۴**انتشار:** ۱۴۰۵/۰۴/۱۷**دبیر تخصصی:** نجمه صاحبزاده**نویسنده مسئول:** وحید قاسمی**ایمیل:** vghasemi@ut.ac.ir**کلمات کلیدی:** کنه واروا، هایوکلین®، کارایی کنه‌کشی، جمعیت کلنی، زنده‌مانی ملکهDOI: <https://doi.org/10.61186/jesi.46.3.10>

مقدمه

زنبورعسل اروپایی (*Apis mellifera* L.) مفیدترین حشره در زیست‌بوم‌های کشاورزی و طبیعی است که با گرده‌افشانی بیش از ۸۵ درصد گیاهان گل‌دار، نقش بسیار مهمی در تأمین امنیت غذایی و تنوع زیستی ایفا می‌کند (Kevan et al., 2007; Hung et al., 2018; Zhang et al., 2022; Papa et al., 2022). این حشره محصولات ارزشمندی مانند عسل، ژله رویال، گرده، بره‌موم، موم و زهر را نیز در اختیار بشر قرار می‌دهد. کلنی‌های زنبورعسل در سراسر جهان همواره با تهدیدات متعددی از قبیل خشکسالی، کمبود منابع شهد و گرده، مسمومیت به آفت‌کش‌های کشاورزی، شرایط نامساعد آب و هوایی، انگل‌ها، عوامل بیماری‌زا و آفات روبرو هستند که سلامت و بهره‌وری آن‌ها را به خطر می‌اندازد (vanEngelsdorp et al., 2009; Brodschneider et al., 2019; Ostiguy et al., 2019). در میان این موارد، بیماری انگلی وارواآزیس که توسط کنه واروا (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) ایجاد می‌شود، بزرگ‌ترین چالش زنبورداری دنیا به شمار می‌آید (Rosenkranz et al., 2010; Guzman-Novoa et al., 2010; McMenamin & Genersch, 2015).

استفاده از کنه‌کش‌های شیمیایی، راه‌حل کوتاه و آسانی برای کنترل کنه واروا بوده و تا همین چند سال پیش هم نیاز زنبورداران را به خوبی مرتفع می‌کرد (Haber et al., 2019)، اما دهه‌ها استفاده مداوم و اغلب نادرست از آن‌ها منجر به توسعه مقاومت در این انگل شد؛ به طوری که اخیراً اثربخشی پایین بسیاری از این ترکیبات گزارش شده است (Rinkevich, 2020; Benito-Murcia et al., 2021; Mitton et al., 2022). به عنوان مثال، از اوایل دهه جاری، گزارش‌های مکرری از سوی زنبورداران مبنی بر عدم کارایی آپیستان®، که یکی از پرمصرف‌ترین فرمولاسیون‌های موجود در بازار بود، به دست رسید؛ که دلیل اصلی آن را می‌توان به مقاومت کنه نسبت به این کنه‌کش نسبت داد (Elzen et al., 1999; Bahreini et al., 2023). علاوه بر این، ماهیت چربی‌دوستی ترکیبات شیمیایی باعث می‌شود که باقی‌مانده آن‌ها در محصولات کندو، به ویژه موم، تجمع پیدا کند که این امر نگرانی‌هایی را برای سلامت کلنی زنبورعسل (Gregorc et al., 2018) و مصرف‌کنندگان این محصولات در پی دارد (Albero et al., 2023). عدم کارایی کنه‌کش‌های شیمیایی باعث شد که زنبورداران به طور فزاینده‌ای به استفاده از اسیدهای آلی روی آورند؛ طوری که هم‌اکنون، اسید اگزالیک و اسید فرمیک جزو پرمصرف‌ترین ترکیبات آلی برای کنترل کنه واروا محسوب می‌شود. کارایی کنه‌کشی این دو اسید آلی و ایمن‌بودن آن‌ها برای زنبورعسل در پژوهش‌های متعددی نشان داده شده است (Kanelis et al., 2023; Prouty et al., 2023; Papežíková et al., 2017; Giusti et al., 2017; Rashid et al., 2020; 2023)، و خوشبختانه تاکنون گزارشی از بروز مقاومت کنه واروا به آن‌ها نیز منتشر نشده

است (Maggi *et al.*, 2017). متأسفانه اکثر زنبورداران ایران به اسیدهای آلی مرغوب و باکیفیت دسترسی ندارند و وجود انواع غیرمجاز و غیراستاندارد از آن‌ها، سردرگمی و نارضایتی زنبورداران را در پی داشته‌است.

طی سال‌های اخیر، چند فرمولاسیون حاوی اسید اگزالیک با تأیید و نظارت سازمان دامپزشکی وارد کشور شده است که از جمله می‌توان به هایوکلین® (HiveClean®)، آپی-بیوکسال® (Api-Bioxal®)، واروکسان® (VarroSan®) و آلون کپ® (Aluen CAP®) اشاره کرد. علی‌رغم مصرف این فرمولاسیون‌ها در زنبورستان‌ها، تاکنون هیچ گونه گزارش علمی موثقی در ارتباط با کارایی کنه‌کشی آن‌ها علیه کنه واروا منتشر نشده است. با توجه به نیاز مبرم زنبورداران به کنه‌کش‌های مؤثر و ایمن، ارزیابی کارایی این فرمولاسیون‌ها در شرایط مختلف آب و هوایی ایران ضروری به نظر می‌رسد. هایوکلین® یکی از فرمولاسیون‌هایی است که علاوه بر اسید اگزالیک به عنوان ماده مؤثره اصلی، حاوی اسید فرمیک، اسید سیتریک، عصاره بره‌موم، اسانس‌های گیاهی، شکر و آب نیز می‌باشد. این ترکیب توسط شرکت بی‌ویتال کشور اتریش تولید و به بازار زنبورداری دنیا معرفی شد. تاکنون، چند پژوهش در خصوص کارایی کنه‌کشی این ترکیب و اثرات جانبی آن برای کلنی زنبورعسل صورت گرفته است که نتایج حاصل بیانگر کارایی بالای آن در کنترل کنه واروا و عدم سمیت برای زنبورعسل می‌باشد (Tlak Gajger, 2019; & Susec, 2008; Akyol and Yeninar). علی‌رغم این گزارش‌ها و گذشت بیش از یک دهه از حضور هایوکلین® در داروخانه‌های دامپزشکی کشور، این فرمولاسیون نتوانسته جایگاه خود را در بین زنبورداران پیدا کند. در کنار ملاحظات اقتصادی، شاید مهم‌ترین دلیل این مسأله عدم وجود نتایج معتبر از کارایی این فرمولاسیون در داخل کشور باشد. بر همین اساس، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی کارایی کنه‌کشی هایوکلین® علیه کنه واروا و اثرات جانبی احتمالی آن روی کلنی‌های زنبورعسل در شرایط آب و هوایی استان البرز طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان انجام آزمایش. این آزمایش از اواسط مرداد ماه ۱۴۰۴ در ایستگاه آموزشی و پژوهشی گروه علوم دامی دانشگاه تهران واقع در شهرستان کرج (طول جغرافیایی: ۵۰ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی؛ عرض جغرافیایی: ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی؛ ارتفاع از سطح دریا: ۱۳۰۰ متر) آغاز شد و تا اواسط آبان ماه همان سال به طول انجامید.

کنه‌کش‌های مورد آزمایش. هایوکلین® (ماده مؤثره اصلی: اسید اگزالیک) از شرکت کُرپا و فلووموار® (ماده مؤثره: فلومتترین) از یکی از داروخانه‌های دامپزشکی تهران تهیه شد.

انتخاب کلنی‌های آزمایشی. در این آزمایش از ۱۶ فروند کلنی زنبورعسل با جمعیت و ذخیره عسل و گرده تقریباً یکسان استفاده شد. از آنجایی که جمعیت‌های زنبورعسل موجود در ایران معمولاً ترکیبی از نژادهای مختلف هستند، نژاد دقیق ملکه‌های کلنی‌های آزمایشی مشخص نبود. با این حال، به منظور کاهش خطای آزمایشی، از ملکه‌های نیمه‌خواهری هم‌سن (متولد بهار ۱۴۰۳) در کلنی‌ها استفاده شد. این کلنی‌ها از ابتدای بهار سال ۱۴۰۴ تا شروع آزمایش با هیچ ترکیب کنه‌کشی درمان نشده بودند تا جمعیت کنه واروا در آن‌ها به آستانه مورد نیاز برسد. کلنی‌ها از نظر جمعیت شفیره، زنبور بالغ و سطح آلودگی به کنه واروا ارزیابی شد. برای برآورد جمعیت شفیره و زنبور بالغ، یک قاب ۲۰ × ۴۰ سانتی‌متری که با نخ سفید به ۳۲ خانه ۵ × ۵ سانتی‌متری تقسیم شده بود، روی طرفین هر یک از شان‌های کلنی قرار داده شد. از قبل، با استفاده از تصویربرداری، میانگین تعداد شفیره و زنبور بالغی که در هر خانه ۲۵ سانتی‌متر مربعی قاب اندازه‌گیری جا می‌گیرد، برآورد شد. بدین ترتیب، تعداد حجره‌های شفیره و زنبورهای بالغ موجود در طرفین شان‌ها و نهایتاً در کل کلنی برآورد شد (Delaplane *et al.*, 2013). میزان آلودگی اولیه زنبورهای بالغ هر کلنی به کنه واروا بر اساس روش (Dietemann *et al.*, 2013) و با استفاده از اتانول ۷۰ درصد برآورد شد. برای این کار، ابتدا شانی که ملکه روی آن قرار داشت، از کندو خارج شد تا در حین نمونه‌گیری آسیب نبیند. سپس، سه شان دارای لارو و شفیره از هر کلنی انتخاب و زنبورهای روی آن‌ها که عموماً زنبورهای جوان پرستار بودند، داخل یک ظرف پلاستیکی (طول: ۶۰ عرض: ۴۰ و ارتفاع: ۲۰ سانتی‌متر) تکان داده شد. ظرف حاوی زنبور به مدت یک دقیقه کنار گذاشته شد تا زنبورهای چراگر به کلنی خود بازگردند و تنها زنبورهای پرستار در ظرف باقی بمانند. با استفاده از یک فنجان پلاستیکی ۸۰ میلی‌لیتری، حدود ۲۵۰ زنبور از داخل ظرف برداشته شد و به دستگاه سنجش کنه واروا منتقل شد. این دستگاه از دو ظرف پلاستیکی شفاف ۴۰۰ میلی‌لیتری و یک قطعه پلاستیکی متصل‌کننده تشکیل شده است. این قطعه طوری طراحی شده که از دو سمت به دهانه ظروف پیچ می‌شود و مرکز آن با توری فلزی مغروش شده است. در یکی از ظروف دستگاه، ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ریخته شد و حدود ۲۵۰ زنبور نمونه‌برداری‌شده به آن اضافه شد. ظرف دوم با کمک قطعه متصل‌کننده به این ظرف پیچ شد. محتویات ظرف به مدت ۳۰ ثانیه به شدت هم زده شد و بلافاصله به صورت قائم نگه داشته شد. بدین ترتیب، زنبورها در ظرف بالایی و پشت توری باقی ماندند و کنه‌ها به همراه الکل از منافذ توری عبور کرده و در ظرف زیرین جمع شدند. این عمل چندین بار تکرار شد تا تقریباً تمام کنه‌ها از روی بدن زنبورها جدا شوند. تعداد کنه‌های جداشده و تعداد زنبورهای نمونه‌برداری‌شده شمارش شد و سطح آلودگی زنبورهای بالغ هر کلنی مطابق معادله زیر برآورد گردید (Dietemann *et al.*, 2013):

$$\% \text{VIL} = \frac{M}{B} \times 100$$

که در این معادله، VIL (*Varroa* Infestation Level) = سطح آلودگی به کنه واروا، M (number of Mites) = تعداد کنه و B (number of Bees) = تعداد زنبور می‌باشد.

جمعیت این ۱۶ کلنی به کندوهای لانگستروت کفباز مجهز به کفی پلاستیکی منتقل شد. این کفی مشبک است و کنه‌ها پس از جداسازی از روی بدن زنبورها از منافذ آن عبور کرده و روی یک سینی پلاستیکی ریخته می‌شوند. سطح داخلی سینی به وازلین آغشته شد تا کنه‌ها پس از سقوط از روی بدن زنبورها به وازلین بچسبند و نتوانند مجدداً به کلنی برگردند. یک هفته قبل از شروع آزمایش، تعداد کنه‌هایی که روزانه به طور طبیعی از کلنی‌ها جدا و روی سینی ریخته می‌شد، شمارش شد. برای شمارش راحت‌تر کنه‌ها، سطح سینی‌ها به خانه‌های پنج سانتی‌متر مربعی تقسیم شد. پس از هفت روز، میانگین ریزش طبیعی روزانه کنه در هر کلنی برآورد شد.

طراحی آزمایش و گروه‌بندی کلنی‌ها. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی طراحی شد. کلنی‌ها به طور تصادفی به دو گروه تیمار و شاهد (هر گروه شامل ۸ کلنی) تقسیم شد، به طوری که بین گروه‌ها از نظر سطح آلودگی به کنه واروا (میانگین گروه تیمار = 0.72 ± 2.25 درصد و میانگین گروه شاهد = 0.56 ± 2.35 درصد؛ $F = 1.65$; $df = 14$; $P = 0.914$)، جمعیت شفیره (میانگین گروه تیمار = 70.2 ± 44.5 شفیره و میانگین گروه شاهد = 43.0 ± 41.0 شفیره؛ $F = 5.01$; $df = 14$; $P = 0.856$)، جمعیت زنبور بالغ (میانگین گروه تیمار = 94.0 ± 10.75 زنبور و میانگین گروه شاهد = 41.9 ± 10.625 زنبور؛ $F = 1.28$; $df = 14$; $P = 0.905$) و ریزش طبیعی روزانه کنه (میانگین گروه تیمار = 9.45 ± 33.75 کنه و میانگین گروه شاهد = 8.36 ± 35.66 کنه؛ $F = 1.28$; $df = 14$; $P = 0.882$) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

تیمار کلنی‌ها. هر یک از کلنی‌های گروه تیمار، سه مرتبه و با فاصله هر هفت روز با هایوکلین® به روش پاششی تیمار شدند (به ازای هر قاب ۱/۵ میلی‌لیتر از فرمولاسیون بین‌شان‌ها و روی بدن زنبورها ریخته شد). کلنی‌های گروه شاهد در طی این سه هفته با هیچ ترکیب کنه‌کشی تیمار نشدند. تعداد کنه‌های ریخته‌شده روی سینی کف کندوهای تیمار و شاهد شمارش شد. برای راحتی کار، شمارش کنه‌ها در هفته اول به صورت روزانه و در هفته دوم و سوم به صورت دو مرتبه در هفته (روز سوم و هفتم) انجام شد. پس از هر بار شمارش، کنه‌ها و سایر خرده بقایای روی سینی‌ها تمیز و سطح آن‌ها مجدداً به وازلین آغشته شد و در محل خود در کف کندوها قرار گرفتند. بدین ترتیب، مجموع تعداد کنه‌های ریخته‌شده از هر یک از کلنی تیمار و شاهد در طی دوره سه‌هفته‌ای درمان با هایوکلین® به دست آمد. پس از اتمام دوره درمان با این کنه‌کش، سطح آلودگی زنبورهای بالغ همه کلنی‌ها مطابق روش (Dietemann et al., 2013) برآورد شد. مطابق روش‌های استاندارد توصیه‌شده برای تحقیقات کنه واروا (Dietemann et al., 2013)، برای تعیین تعداد کنه‌هایی که پس از اتمام دوره درمان با کنه‌کش موردآزمایش هنوز زنده مانده‌اند، همه کلنی‌های تیمار و شاهد می‌بایست بلافاصله با یک کنه‌کش با کارایی کنه‌کشی بالای ۹۵ درصد که حاوی ماده مؤثره متفاوت از کنه‌کش تحت آزمایش است، درمان شوند. بر همین اساس، پس از اتمام دوره درمان با هایوکلین®، کلنی‌های تیمار و شاهد به مدت شش هفته دیگر با یک نوار فلوموار® تیمار شدند (نوار از وسط به صورت طولی بریده شد و نصف آن در روز اول و نصف دیگر آن در روز هشتم این دوره در مرکز کلنی بین قاب‌ها آویزان شد). بر اساس اطلاعات مندرج روی برچسب این کنه‌کش، نصف نوار به ازای هر کلنی ده‌شان به مدت ۴۵ روز توصیه می‌شود. فرضیه ما این بود که با مصرف دو برابر دُز توصیه‌شده فلوموار® به عنوان تیمار شوک (Shock treatment)، تقریباً تمام کنه‌های باقی‌مانده در کلنی‌ها از بین خواهند رفت. مجدداً، تعداد کنه‌های ریخته‌شده روی سینی کف کندوها شمارش شد (هفته اول به صورت روزانه و در هفته‌های بعدی به صورت دو مرتبه در هفته) و مجموع تعداد کنه‌های ریخته‌شده از هر یک از کلنی تیمار و شاهد در طی دوره شش‌هفته‌ای درمان با فلوموار® نیز به دست آمد. بلافاصله پس از اتمام این دوره و همچنین سه هفته پس از آن، سطح آلودگی زنبورهای بالغ کلنی‌ها برآورد شد.

برآورد کارایی هایوکلین®. با توجه به اندازه‌گیری مکرر سطح آلودگی کلنی‌ها و تعداد کنه‌های ریخته‌شده روی سینی کف کندوها، از دو روش به شرح زیر برای برآورد کارایی هایوکلین® استفاده شد.

الف) بر اساس تغییر در سطح آلودگی کلنی‌ها. میزان تغییر در سطح آلودگی کلنی‌ها از مقایسه میزان آلودگی آن‌ها قبل از دوره درمان با هایوکلین® با میزان آلودگی آن‌ها بعد از دوره درمان با این کنه‌کش مطابق معادله زیر برآورد شد (Dietemann et al., 2013):

$$\% \text{CIL} = \frac{I_b - I_a}{I_b} \times 100$$

که در این معادله، CIL (Change in Infestation Level) = تغییر در سطح آلودگی، I_b (Infestation before treatment) = سطح آلودگی قبل از درمان و I_a (Infestation after treatment) = سطح آلودگی بعد از درمان می‌باشد.

به دلیل ریزش طبیعی کنه در کلنی‌ها، کارایی اصلاح‌شده هایوکلین® مطابق معادله Sun-Shepard (Sun & Shepard, 1947) برآورد شد:

$$\% \text{CE} = \frac{\text{CIL}_t - \text{CIL}_c}{100 - \text{CIL}_c} \times 100$$

که در این معادله، CE (Corrected Efficacy) = کارایی اصلاح‌شده، CIL_t (mean Change in Infestation Level in treatment group) = میانگین تغییر در سطح آلودگی گروه تیمار و CIL_c (mean Change in Infestation Level in control group) = میانگین تغییر در سطح آلودگی گروه شاهد می‌باشد.

ب) بر اساس میزان ریزش کنه. کارایی کنه‌کشی هایوکلین® بر اساس تعداد کنه ریخته‌شده از کلنی‌ها در طی دوره درمان با هایوکلین® و دوره درمان با فلوموار® مطابق معادله زیر محاسبه شد (Dietemann et al., 2013):

$$\% E = \frac{FM_{HC}}{FM_{HC} + FM_F} \times 100$$

که در این معادله، E (Efficacy) = کارایی، FM_{HC} (number of Fallen Mites during treatment with HiveClean®) = تعداد کنه ریخته شده در دوره درمان با هایوکلین® و FM_F (number of Fallen Mites during treatment with Flumevar®) = تعداد کنه ریخته شده در دوره درمان با فلوموار® می باشد.

به دلیل ریزش طبیعی کنه در کلنی ها، کارایی هایوکلین® مطابق معادله Sun-Shepard (1947) (Sun and Shepard, 1947) اصلاح شد:

$$\% CE = \frac{E_t - E_c}{100 - E_c} \times 100$$

که در این معادله، CE (Corrected Efficacy) = کارایی اصلاح شده، E_t (mean Efficacy in treatment group) = میانگین کارایی در گروه تیمار و E_c (mean Efficacy in control group) = میانگین کارایی در گروه شاهد می باشد.

ارزیابی اثرات جانبی کنه کش ها روی کلنی زنبور عسل. جمعیت شفیره و زنبور بالغ کلنی های تیمار و شاهد هر سه هفته یکبار از ابتدا تا انتهای آزمایش مطابق روش (Delaplane *et al.* (2013) برآورد شد. زندهمانی ملکه ها نیز در حین انجام آزمایش ارزیابی شد.

تجزیه آماری داده ها و ترسیم گراف ها. تجزیه آماری داده ها و ترسیم گراف ها با کمک نسخه 8.0.2 نرم افزار GraphPad Prism انجام شد. روند تغییر در میانگین سطح آلودگی، جمعیت شفیره و زنبور بالغ و ریزش کنه در کلنی های تیمار و شاهد در زمان های مختلف به روش تجزیه واریانس با اندازه گیری های مکرر (Repeated-measures ANOVA) بررسی شد. مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون بنفرونی و در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار گزارش شد.

نتایج

کارایی هایوکلین® بر اساس تغییر در سطح آلودگی کلنی ها. با ملاک قرار دادن میزان تغییر در سطح آلودگی کلنی های تیمار پس از دوره درمان با هایوکلین®، میزان کارایی این کنه کش $23/06 \pm 36/04$ درصد برآورد شد (جدول ۱).

کارایی هایوکلین® بر اساس میزان ریزش کنه. با در نظر گرفتن میانگین تعداد کنه های ریخته شده روی سینی کف کندوهای تیمار و شاهد در طی دوره درمان با هایوکلین® و دوره درمان با فلوموار®، میزان کارایی هایوکلین® $18/05 \pm 5/98$ درصد برآورد شد (جدول ۲).

روند تغییر در سطح آلودگی به کنه. اثر مستقل تیمار روی سطح آلودگی کلنی ها به کنه واروا معنی دار نبود ($F = 1.23$; $df_{t,c} = 1,14$; $P = 0.286$)، اما اثر زمان روی این متغیر معنی دار بود ($F = 21.42$; $df_{t,c} = 2.39, 33.52$; $P < 0.0001$). اثر متقابل تیمار و زمان روی سطح آلودگی کلنی ها معنی دار نبود ($F = 0.29$; $df_{t,c} = 4, 56$; $P = 0.883$). روند تغییر در سطح آلودگی کلنی ها پس از درمان با هایوکلین® و فلوموار® در شکل ۱ الف نشان داده شده است. درمان با هایوکلین® باعث شد که سطح آلودگی زنبورهای بالغ از $2/25 \pm 0/72$ درصد به $1/85 \pm 0/63$ درصد کاهش پیدا کند، اما این تغییر معنی دار نبود ($P > 0.999$). در انتهای دوره درمان با این کنه کش، سطح آلودگی کلنی های تیمار $1/85 \pm 0/63$ درصد و شاهد $2/85 \pm 0/38$ درصد اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشت ($P = 0.675$). سه هفته پس از مصرف نوار فلوموار® در کلنی هایی که قبلاً با هایوکلین® درمان شده بودند، سطح آلودگی به $1/38 \pm 0/41$ درصد کاهش یافت که این تغییر معنی دار نبود ($P = 0.825$). در همین زمان، سطح آلودگی کلنی های شاهد $2/30 \pm 0/5$ درصد بود که اختلاف معنی داری با کلنی های تیمار نداشت ($P = 0.632$). در انتهای دوره درمان با فلوموار®، سطح آلودگی کلنی های تیمار و شاهد به ترتیب به $3/24 \pm 0/86$ و $3/43 \pm 0/49$ درصد رسید که اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند ($P > 0.999$). سه هفته پس از پس از اتمام دوره درمان با فلوموار®، سطح آلودگی کلنی های تیمار $5/90 \pm 0/72$ درصد و شاهد $5/59 \pm 6/54$ درصد) به طور معنی داری افزایش پیدا کرد (به ترتیب $P = 0.023$ و $P < 0.0001$).

جدول ۱- کارایی کنه کشی هایوکلین® (میانگین $\pm$ خطای معیار) بر اساس تغییر در سطح آلودگی به کنه واروا

Table 1. Miticidal efficacy of HiveClean® (mean $\pm$ S.E.) based on the change in *Varroa* mite infestation level

Groups	Infestation level (%)		Change in infestation level (%)	Corrected efficacy (%)
	Initial	Final		
HiveClean®	2.25 $\pm$ 0.72 ^{ns}	1.85 $\pm$ 0.63 ^{ns}	-8.15 $\pm$ 38.98 ^{ns}	36.04 $\pm$ 23.06
Control	2.35 $\pm$ 0.56	2.85 $\pm$ 0.38	-69.09 $\pm$ 38.05	

ns: non-significant difference between the means of HiveClean® and control groups within each column (t test, $P < 0.05$)

جدول ۲- کارایی کنه کشی هاپوکلین® (میانگین $\pm$ خطای معیار) بر اساس تعداد کنه‌های ریخته‌شده روی کف کندو

Table 2. Miticidal efficacy of HiveClean® (mean $\pm$ S.E.) based on the number of fallen mites on the hive floor

Groups	No. of fallen mite			Efficacy (%)	Corrected efficacy (%)
	with HiveClean®	with Flumevar®	Total		
Treatment	873.8 $\pm$ 337.3 ^{ns}	839.5 $\pm$ 240.6 ^{ns}	1714 $\pm$ 567.4 ^{ns}	49.71 $\pm$ 3.67 ^{ns}	18.05 $\pm$ 5.98
Control	748.8 $\pm$ 201.5	973.8 $\pm$ 304.1	1649 $\pm$ 548.8	38.63 $\pm$ 4.33	

ns: non-significant difference between the means of the treatment and control groups within each column (*t* test, $P < 0.05$)

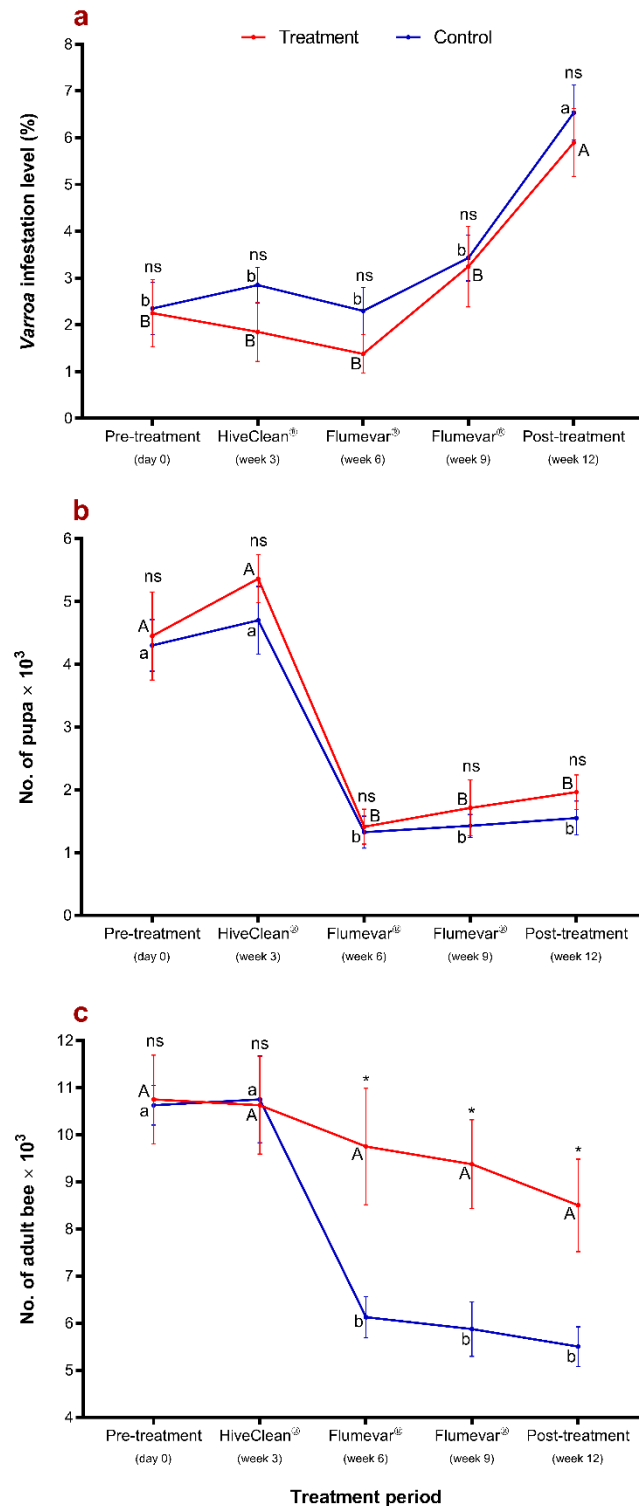
روند تغییر در جمعیت شفیره. اثر مستقل تیمار روی جمعیت شفیره کلنی‌ها معنی‌دار نبود ($F = 0.70$; $df_{t,c} = 1,14$; $P = 0.418$)، اما اثر زمان روی این متغیر معنی‌دار بود ($F = 54.78$; $df_{t,c} = 2.65, 37.07$; $P < 0.0001$). اثر متقابل تیمار و زمان روی جمعیت شفیره کلنی‌ها معنی‌دار نبود ($F = 0.24$; $df_{t,c} = 4,56$; $P = 0.916$). در شکل ۱ ب، روند تغییر در جمعیت شفیره کلنی‌های تیمار و شاهد در دوره‌های مختلف آزمایش نشان داده شده است. جمعیت شفیره کلنی‌های تیمار و شاهد در هیچ یک از دوره‌های درمان اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. مصرف هاپوکلین® تأثیر معنی‌داری روی جمعیت شفیره کلنی‌های تیمار نداشت ($P = 0.876$) و بین جمعیت شفیره کلنی‌های تیمار ($5363 \pm 381/2$ شفیره) و شاهد ($4700 \pm 540/2$ شفیره) در پایان دوره درمان با هاپوکلین® اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P = 0.870$). نکته قابل توجه در خصوص فلوموار® این بود که پس از مصرف این کنه‌کش، جمعیت شفیره در هر دو گروه تیمار ($1713 \pm 444/2$ شفیره) و شاهد (1425 ± 181 شفیره) به طرز چشمگیری افت کرد و تا انتهای آزمایش در هر همین وضعیت باقی ماند.

روند تغییر در جمعیت زنبور بالغ کلنی‌ها. اثر مستقل تیمار ($F = 4$; $df_{t,c} = 1,14$; $P = 0.041$)، زمان ($F = 25.88$; $df_{t,c} = 3.52, 49.25$; $P < 0.0001$) و همچنین اثر متقابل تیمار و زمان روی جمعیت زنبور بالغ کلنی‌ها معنی‌دار بود ($F = 7.21$; $df_{t,c} = 4,56$; $P < 0.0001$). روند تغییر در جمعیت زنبور بالغ کلنی‌های تیمار و شاهد در دوره‌های مختلف آزمایش در شکل ۱ ج ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، جمعیت زنبور بالغ کلنی‌های تیمار در طی آزمایش روند نزولی پیدا کرد اما، بین میانگین جمعیت این کلنی‌ها در ابتدا ($10750 \pm 940/2$ زنبور) و انتهای آزمایش (8500 ± 982 زنبور) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P = 0.472$). در گروه شاهد، بین جمعیت کلنی‌ها در ابتدای آزمایش و پایان دوره هاپوکلین® اختلافی مشاهده نشد ($P > 0.999$)، اما سه هفته پس از درمان با فلوموار®، جمعیت این کلنی‌ها به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($P = 0.002$). به طوری که در پایان آزمایش به طور متوسط $422/2 \pm 5500$ زنبور (کمتر از سه شان جمعیت) در کلنی‌ها باقی ماند. ضمناً، پس از اتمام دوره درمان با هاپوکلین®، ملکه تمام کلنی‌های تیمار و شاهد زنده بودند.

روند تغییر در میزان ریزش کنه در کلنی‌ها. اثر مستقل تیمار روی میزان ریزش کنه در کلنی‌ها معنی‌دار نبود ($F = 0.02$; $df_{t,c} = 1,14$; $P = 0.878$)، اما اثر زمان روی این متغیر معنی‌دار بود ($F = 8.57$; $df_{t,c} = 1.17, 13.25$; $P = 0.001$). اثر متقابل تیمار و زمان روی میزان ریزش کنه معنی‌دار نبود ($F = 0.75$; $df_{t,c} = 9,102$; $P < 0.662$). در تمام دوره‌های درمان، اختلاف معنی‌داری بین میانگین تعداد کنه‌های ریخته‌شده روی سینی کف کندوهای تیمار و شاهد مشاهده نشد (شکل ۲). بین میانگین ریزش کنه در هفته اول، دوم و سوم درمان با هاپوکلین® اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما میزان ریزش در هفته دوم درمان با این کنه‌کش به طور معنی‌داری بیشتر از میانگین ریزش در دوره هفت‌روزه قبل از درمان بود ($P = 0.032$). نکته قابل ملاحظه در خصوص این کنه‌کش این بود که ریزش کنه در ۲۴ ساعت اول دوره درمان ($11/75 \pm 86/75$ کنه در روز) به طور معنی‌داری بیشتر از شش روز دیگر دوره و همچنین دوره هفت‌روزه قبل از درمان بود ($F = 2.90$; $df_{t,c} = 13,98$; $P < 0.001$) (شکل ۳). ریزش کنه در کلنی‌های تیمار، طی دو هفته اول مصرف فلوموار® با همان شدت دوره درمان با هاپوکلین® ادامه یافت، اما از هفته سوم به بعد به طور معنی‌داری کاهش یافت. در گروه شاهد، میزان ریزش طبیعی کنه در هر سه هفته دوره درمان با هاپوکلین® اختلاف معنی‌داری با دوره هفت‌روزه قبل از درمان نداشت. طی دو هفته اول مصرف فلوموار® در کلنی‌های این گروه، میزان ریزش به طور معنی‌داری افزایش یافت، اما از هفته سوم به بعد، میزان ریزش روند کاهش به خود گرفت.

بحث

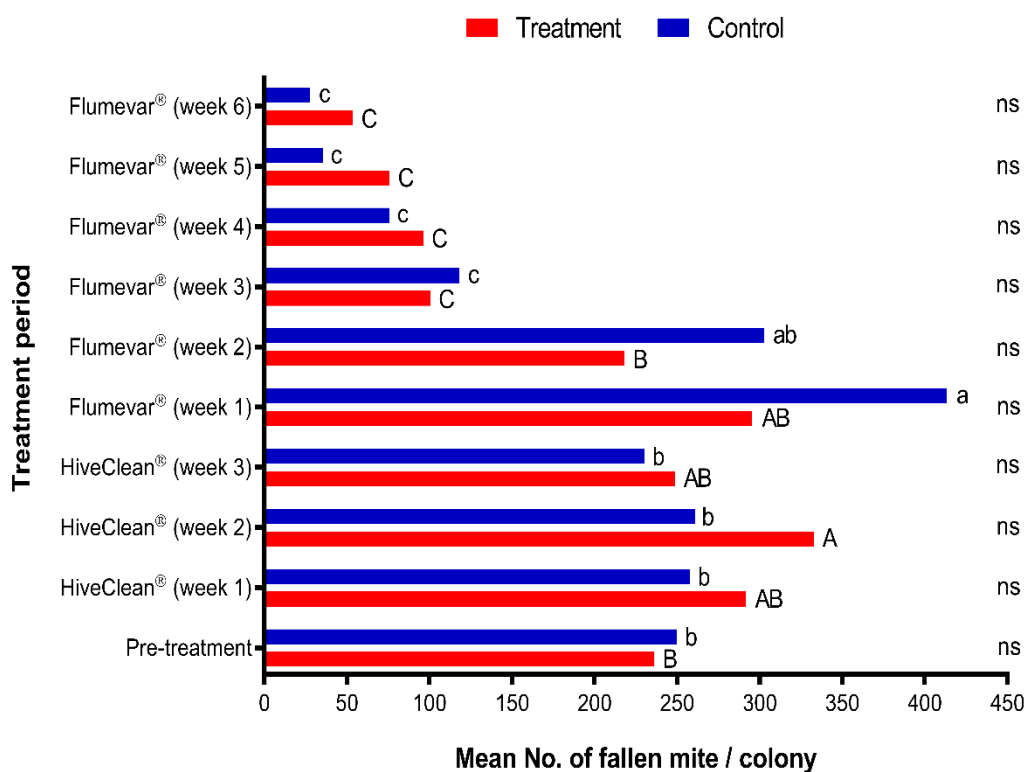
در پژوهش حاضر کارایی کنه کشی هاپوکلین® علیه کنه واروآ و اثرات جانبی آن روی کلنی‌های زنبورعسل در شرایط آب و هوایی شهرستان کرج ارزیابی شد. کارایی این کنه‌کش تقریباً ۳۶ درصد بود و سه هفته درمان کلنی‌های آلوده به کنه با این کنه‌کش، تغییر معنی‌داری در سطح آلودگی آن‌ها ایجاد نکرد. با توجه به این که حداقل کارایی کنه کشی ترکیبات سنتتیک و غیرسنتتیک به ترتیب ۹۵ و ۹۰ درصد گزارش شده است (Dietemann et al., 2013)، می‌توان گفت که هاپوکلین®، در مطالعه حاضر، از اثربخشی مطلوبی برخوردار نبود. بررسی‌های Rodriguez-Dehaibes et al. (2017) نیز نشان داد که کارایی این کنه‌کش در کلنی‌های زنبورعسل آفریقایی‌شده در شرایط گرمسیری، ۱۹/۷ درصد بود. بر خلاف این دو گزارش، Akyol & Yeninar (2008) نشان دادند که این کنه‌کش باعث از بین رفتن ۸۸/۶۶ درصد کنه‌ها در کلنی‌های زنبورعسل شد. در پژوهش دیگری، استفاده از هاپوکلین® در شرایط آب و هوایی کشور کرواسی در فصل تابستان، منجر به ریزش ۹۱/۵۱ درصد کنه‌ها شد (Tlak Gajger & Susec, 2019). کارایی کنه کشی فرمولاسیون وارومد® (که از نظر ساختار شیمیایی و ترکیب مواد مؤثره شباهت بسیار زیادی به هاپوکلین® دارد)، در چند کشور اروپایی مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که اثربخشی این کنه‌کش در فصل تابستان و پاییز بین ۷۱/۲ تا ۸۹/۳ درصد و در فصل زمستان از ۷۱/۸ تا ۹۵/۶ درصد متغیر بود (Smodiš Škerl et al., 2021).



شکل ۱- روند تغییر در (الف) سطح آلودگی به کنه واروا، (ب) جمعیت شفیره و (ج) حشرات بالغ زنبور عسل (میانگین $\pm$ خطای معیار) کلنی‌های تیمار و شاهد قبل، حین و بعد از درمان با هایوکلین® و فلووموار®. میانگین‌های با حروف متفاوت در هر گروه آزمایشی (حروف بزرگ برای تیمار و حروف کوچک برای شاهد) اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند (آزمون بُنفرونی، سطح احتمال ۵ درصد). تفاوت آماری بین میانگین گروه‌های تیمار و شاهد در هر زمان با استفاده از آزمون بُنفرونی تعیین شد (*: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار).

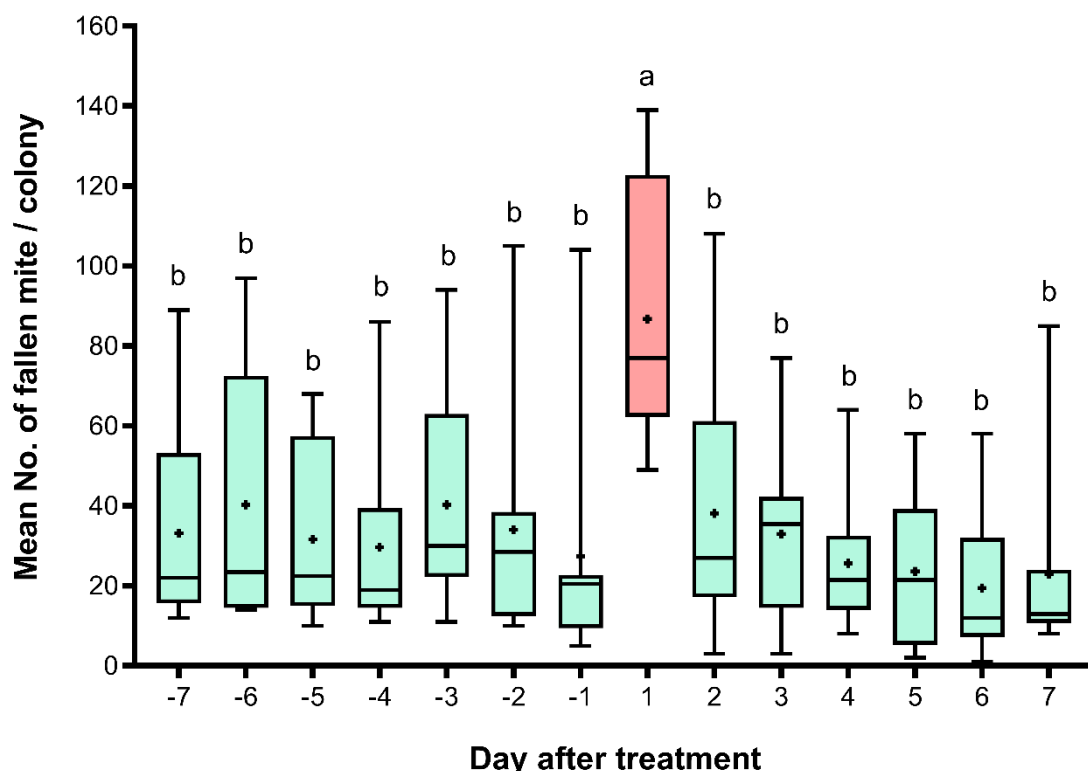
Fig. 1. Trends in (a) *Varroa* mite infestation level, (b) pupal population, and (c) adult honey bee population (mean $\pm$ S.E.) in treatment and control colonies before, during, and after treatment with HiveClean® and Flumevar®. Means marked with different letters within each experimental group (capital letters for the treatment, lowercase letters for the control) are significantly different (Bonferroni's test, $F < 0.05$). Statistical differences between treatment and control groups for each time point was determined using Bonferroni's test (*: $P < 0.05$; ns: not significant).

نکته حائز اهمیت در ارتباط با هایپوکلین® این بود که کارایی این کنه کش در هشت کلنی تیمار از واریانس بسیار بالایی برخوردار بود (از ۹۲/۲۱- تا ۱۰۰ درصد)، که این موضوع از روی خطای معیار میانگین کارایی برآورد شده ($23/06 \pm 36/04$ درصد) کاملاً مشهود است. به عنوان مثال، در دو کلنی این گروه، سطح آلودگی از ۶/۸ و ۳/۲ درصد به ترتیب به ۱/۶ و صفر درصد کاهش پیدا کرد، و کارایی کنه کش در این دو کلنی به ترتیب ۸۶/۰۸ و ۱۰۰ درصد برآورد شد. بر عکس، در دو کلنی دیگر، سطح آلودگی از ۱/۶ و ۲/۴ به ترتیب به ۵/۲ و ۳/۶ درصد افزایش یافت و کارایی هایپوکلین® به ترتیب ۹۲/۲۱- و ۱۱/۲۹ به دست آمد. بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته، کارایی کنه کش‌ها تابع عوامل متعددی بالاخص شرایط آب و هوایی (دما و رطوبت نسبی)، نحوه استعمال و حضور یا عدم حضور نوزاد در کلنی می‌باشد (Bahreini et al., 2004; Berry et al., 2023; Kovacic et al., 2023; Büchler et al., 2020; Rashid et al., 2013; Coffey & Breen, 2013; Floris et al., 2004). در پژوهش ما، شرایط محیطی برای تمام کلنی‌های آزمایشی یکسان بود، و کلنی‌ها به صرف نداشتن اختلاف معنی‌دار بین میانگین سطح آلودگی به کنه، جمعیت شفیره، جمعیت زنبورهای بالغ و ریزش طبیعی روزانه کنه به دو گروه تیمار و شاهد تقسیم شدند، در حالی که واقعیت امر این است که واریانس بالایی بین این متغیرها در هشت کلنی گروه تیمار وجود داشت. مثلاً، سطح آلودگی اولیه کلنی‌ها به کنه بین ۰/۴ تا ۶/۸ درصد، جمعیت شفیره بین ۲۷۰۰ تا ۸۷۰۰ حشره، جمعیت زنبور بالغ بین ۷۰۰۰ تا ۱۴۰۰۰ زنبور و ریزش طبیعی روزانه کنه ۱۲/۲۹ تا ۹۱/۸۶ کنه متغیر بود. در عمل، یکسان کردن این متغیرها در کلنی‌های آزمایشی غیرممکن است، اما شاید کاهش واریانس بین آن‌ها، بتواند به کاهش واریانس درصد کارایی کنه کش بین کلنی‌ها بیانجامد. با این حال، با فرض اینکه کلنی‌های متعلق به هر گروه از لحاظ متغیرهای اشاره شده، حداقل واریانس را با هم داشته باشند، تفاوت‌های ذاتی بین کلنی‌ها از نظر خصوصیات رفتاری زنبورها، نرخ تخم‌ریزی ملکه، ساختار سنی جمعیت، فعالیت چراگری زنبورها و همچنین الگوی توزیع مولکول‌های سمی کنه کش در بین زنبورها مسائل غیرقابل کنترلی هستند که واریانس کارایی کنه کش بین کلنی‌ها را توجیه می‌کند.



شکل ۲- میانگین تعداد کنه‌های ریخته شده از کلنی‌های تیمار و شاهد قبل و حین درمان با هایپوکلین® و فلووموار®. میانگین‌های با حروف متفاوت در هر گروه آزمایشی (حروف بزرگ برای تیمار و حروف کوچک برای شاهد) از اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند (آزمون بنفرونی، سطح احتمال ۵ درصد). تفاوت آماری بین میانگین گروه‌های تیمار و شاهد در هر دوره درمان با استفاده از آزمون بنفرونی تعیین شد (*: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار).

Fig. 2. Mean number of fallen mites from the treatment and control colonies before and during treatment with HiveClean® and Flumevar®. Means marked with different letters within each experimental group (capital letters for the treatment, lowercase letters for the control) are significantly different (Bonferroni's test, $P < 0.05$). Statistical differences between treatment and control groups from each treatment period was determined using Bonferroni's test (*: $P < 0.05$; ns: not significant).



شکل ۳- میانگین تعداد روزانه کنه‌های ریخته‌شده طی دوره هفت‌روزه قبل و بعد از درمان با هایوکلین®. میانگین‌های (علامت + داخل کادرها) با حروف متفاوت اختلاف معنی‌داری یا یکدیگر دارند (آزمون بُنفرونی، سطح احتمال ۵ درصد).

Fig. 3. Mean daily number of fallen mites during the seven-day periods before and after treatment with HiveClean®. Means (indicated by + inside the boxes) followed by different letters are significantly different (Bonferroni's test, $P < 0.05$).

این مسأله صرفاً به پژوهش حاضر محدود نیست و آزمایش Coffey (2007) نیز نشان داد که استفاده از ژل کنه‌کش آپیگارد® در اوایل پائیز تحت شرایط آب و هوایی کشور ایرلند، به طور متوسط ۸۵ درصد اثربخشی داشت، اما واریانس زیادی بین کلنی‌ها مشاهده شد. ایشان این اتفاق را این گونه توجیه کردند که میزان کارایی آپیگارد® به فعالیت کلنی بستگی دارد؛ طوری که در برخی از کلنی‌ها در پایان دوره درمان، مقدار قابل‌توجهی از ژل خشک حاوی کریستال‌های تیمول در ظروف باقی مانده بود و نتوانسته بود اثربخشی مطلوبی روی کنه‌ها داشته باشد. بنابراین، شاید اختلاف چشمگیر بین کارایی هایوکلین® در بین کلنی‌های موردآزمایش به واریانس بالای متغیرهای اندازه‌گیری‌شده مرتبط باشد، و به همین دلیل نمی‌توان ادعای قاطعی در خصوص نتایج پژوهش حاضر ارائه کرد. در همین راستا، پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده (۱) از کلنی‌های با حداقل ۳ درصد آلودگی در آزمایش استفاده شود؛ (۲) واریانس متغیرها از میانگین همان متغیر در هر گروه تا حد ممکن به حداقل برسد؛ و (۳) تعداد کلنی (تکرار) بیشتری به ازای هر گروه آزمایشی (حداقل ۱۰ کلنی) در نظر گرفته شود. به نظر نگارندگان، در بین این سه مورد، نکته اول از اهمیت بالاتری برخوردار است، چون استفاده از کلنی‌های با سطح آلودگی پائین در آزمایش ممکن است برآورد درصد کارایی کنه‌کش را با خطای زیادی مواجه کند. به طور مثال، سه کلنی گروه تیمار که سطح آلودگی اولیه آن‌ها ۱/۲، ۰/۴ و ۱/۲ درصد بود، پس از درمان با هایوکلین® به ترتیب به ۱/۶، صفر و ۰/۸ تغییر پیدا کرد. اختلاف این مقادیر به خاطر مشاهده تنها یک کنه بیشتر یا کمتر در نمونه گرفته‌شده از کلنی‌ها به وجود آمده است، پیشامدی که ممکن است به طور معمول حتی در چند بار نمونه‌گیری همزمان از یک کلنی نیز اتفاق بیفتد. بنابراین، نمی‌توان اختلاف ناچیز بین سطح آلودگی کلنی‌ها قبل و بعد از تیمار را به اثر کنه‌کشی ترکیب موردآزمایش نسبت داد.

نکته قابل تأمل در خصوص اسید اگزالیلیک و فرمولاسیون‌های بر پایه این اسید این است که مولکول‌های این ماده آلی قادر به عبور از درپوش مومی حجره‌های شفیرگی و کشتن کنه‌های داخل حجره‌ها نیست و صرفاً کنه‌های موجود روی بدن زنبورهای بالغ را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Rosenkranz *et al.*, 2010; Charrière & Imdorf, 2002). بنابراین، حتی مصرف چندباره این ترکیبات مادامی که پرورش نوزاد در کلنی ادامه دارد، ممکن است نتواند اثربخشی بالایی به همراه داشته باشد و صرفاً بتواند زمان رسیدن جمعیت کنه واروا به سطح زیان اقتصادی را به تأخیر بیندازد (Berry *et al.*, 2022, 2023). در خصوص این قبیل کنه‌کش‌ها که مرحله تولیدمثلی کنه را تحت تأثیر قرار نمی‌دهند، دفعات مصرف آن‌ها در هر دوره درمان باید به گونه‌ای باشد که عمر طبیعی انگل را پوشش دهد. تعداد دفعاتی که یک کنه ماده بالغ در طول عمر خود می‌تواند به سلول‌های نوزادی حمله کند، بین ۱/۵ تا ۳ بار است (Martin & Kemp, 1997; Fries & Rosenkranz, 1996). با توجه به اینکه دوره درمان هایوکلین® ۲۱ روز است، احتمال پوشش‌دادن کل طول عمر طبیعی کنه‌ها با این ترکیب کم است و

این امر می‌تواند کارایی این کنه‌کش را کاهش دهد. بنابراین، مصرف هایوکلین® در مواقعی از سال که میزان پرورش نوزاد در کلنی به دلایل طبیعی و غیرطبیعی متوقف شده یا به حداقل رسیده است، ممکن است نتایج پایدارتر و قابل قبول‌تری به همراه داشته باشد. در تأیید این موضوع، نتایج پژوهش‌های انجام‌شده نشان داد که تیمار کلنی‌ها با اسید اگزالیک و فرمولاسیون‌های حاوی این ترکیب آلی پس از ایجاد وقفه در تخم‌ریزی ملکه و عدم حضور نوزاد در کلنی نتایج به مراتب رضایت‌بخش‌تری را در پی خواهد داشت (Gregorc & Büchler *et al.*, 2020; Kovacic *et al.*, 2023; Berry *et al.*, 2023; Zarbaf *et al.*, Unpublished data). در صورتی که، کارایی این اسید آلی زمانی که نوزاد در کلنی حضور دارد، حدود ۶۰ درصد برآورد شد (Rademacher & Harz, 2006).

در آزمایش (Tlak Gajger and Susec, 2019) که کلنی‌های آلوده سه مرتبه و با فاصله هر هفت روز با هایوکلین® تیمار شدند، بیشترین میزان ریزش کنه در هفته سوم دوره درمان اتفاق افتاد. در پژوهش حاضر، اختلاف معنی‌داری بین میانگین ریزش کنه در هفته اول، دوم و سوم درمان با هایوکلین® مشاهده نشد، اما شدت ریزش کنه در هفته دوم درمان نسبت به دوره هفت‌روزه قبل از درمان بیشتر بود. نکته قابل ملاحظه در نتایج پژوهش حاضر، میزان ریزش طبیعی کنه قبل از تیمار کلنی‌ها بود که میانگین آن در ۱۶ کلنی تحت آزمایش طی دوره هفت‌روزه پیش از درمان با هایوکلین®، تقریباً ۳۵ کنه در روز بود. در آزمایش صورت‌گرفته در کشور اسلونی، میانگین ریزش طبیعی کنه در طی دوره ۵۵ روزه پیش از درمان با اسید اگزالیک (از ماه آوریل تا آگوست سال ۲۰۰۱)، ۱/۲۵ کنه در روز برآورد شد (Gregorc & Planinc, 2004). این مقدار در طی دوره ۳۰ روزه پیش از درمان با هایوکلین® در کشور کرواسی در فصل تابستان، ۱/۷۶ کنه در روز برآورد شد (Tlak Gajger & Susec, 2019). در آزمایش Coffey & Breen (2013) در ایرلند، به طور متوسط ۲/۲ کنه در روز به طور طبیعی از کلنی‌های آزمایشی ریخته شد. بررسی‌های Rashid *et al.* (2020) نشان داد که میانگین ریزش طبیعی کنه در طی دوره سه‌روزه پیش از درمان در آزمایش فصل تابستان و پاییز به ترتیب ۱۰/۸۱ و ۱۹/۴۸ کنه در روز گزارش شد. در پژوهش حاضر، ضریب همبستگی پیرسون بین سطح آلودگی اولیه کلنی‌ها و ریزش طبیعی روزانه کنه معنی‌دار نبود ($r = 0.294$; $P = 0.269$)، اما ریزش حدود ۳۵ کنه در روز از هر کلنی مسأله قابل توجهی است که بررسی بیشتر و دقیق‌تری را می‌طلبد. در همین ارتباط و با توجه به نتایج ارائه‌شده در جدول ۱، ملاحظه شد که سطح آلودگی کلنی‌های شاهد در طی سه هفته اول آزمایش تغییر معنی‌داری پیدا نکرد. می‌شود این گونه تلقی کرد که آن‌چه در طی این سه هفته مانع از افزایش سطح آلودگی در کلنی‌های شاهد شد، می‌تواند مرتبط به ریزش طبیعی کنه و البته نقش مکمل کندوهای کف‌باز باشد.

در این پژوهش، درصد کارایی کنه‌کشی هایوکلین® بر مبنای تغییر در سطح آلودگی (روش اول) و میزان ریزش کنه (روش دوم) برآورد شد. بر اساس روش اول، میزان کارایی این کنه‌کش ۳۶/۰۴ درصد و طبق روش دوم، ۱۸/۰۵ درصد برآورد شد؛ که این دو میانگین اختلاف زیادی با یکدیگر دارند. اکثر پژوهشگران از روش دوم (Lodesani *et al.*, 2019; Rashid *et al.*, 2020; Büchler *et al.*, 2020; Sabahi *et al.*, 2020; Prouty *et al.*, 2023; Thurston *et al.*, 2025; Maggi *et al.*, 2016; Dietemann *et al.*, 2013; Coffey & Breen, 2013; Bahreini, 2003) و برخی نیز از روش اول (Kovacic *et al.*, 2023; Berry *et al.*, 2023; Kanelis *et al.*, 2023; Gregorc *et al.*, 2017) برای برآورد کارایی ترکیبات کنه‌کش استفاده می‌کنند. در روش اول، تأثیر کنه‌کش از طریق کاهش میزان آلودگی کلنی برآورد می‌شود و این دقیقاً همان هدفی است که زنبوردار از درمان کلنی‌های خود انتظار دارد. در صورتی که در روش دوم، صرفاً نرخ مرگ و میر و تعداد کنه‌های ریخته‌شده در طی دوره درمان مد نظر است. مسأله اصلی در روش دوم این است که امکان برآورد کارایی کنه‌کش صرفاً از روی شمارش تعداد کنه‌های ریخته‌شده در طی دوره درمان امکان‌پذیر نیست و برای این منظور باید تعداد کنه‌های باقی‌مانده در کلنی نیز تعیین شود، که این امر مستلزم اعمال یک دوره درمان دیگر روی کلنی‌ها است. بدیهی است که این امر باعث طولانی شدن دوره آزمایش و احتمالاً افزایش خطای آزمایشی می‌شود. در حالی که در روش اول، امکان برآورد کارایی کنه‌کش بدون نیاز به اعمال دوره درمان دوم وجود دارد. در آزمایش حاضر، برآورد کارایی هایوکلین® بر اساس روش اول تنها سه هفته و بر اساس روش دوم نه هفته به طول انجامید. نکته قابل توجه این بود که وضعیت کلنی‌ها از نظر جمعیت نوزاد و زنبورهای بالغ در طول دوره حدوداً سه‌ماهه آزمایش دستخوش تغییرات زیادی شد. همان‌طور که میدانیم، اکثر ترکیبات کنه‌کش صرفاً کنه‌های خارج از حجره‌های نوزادی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، و کاهش جمعیت نوزاد در کلنی، به هر دلیلی، می‌تواند کارایی آن‌ها را به طور چشمگیری افزایش دهد (Dietemann *et al.*, 2013). در آزمایش حاضر، در طول دوره سه‌هفته‌ای درمان با هایوکلین®، تغییر معنی‌داری در جمعیت شفیره و زنبور بالغ کلنی‌های تیمار و شاهد رخ نداد، اما، در طول دوره شش‌هفته‌ای درمان با فلوومار®، جمعیت کلنی‌ها به ویژه تعداد شفیره‌ها به طور چشمگیری کاهش پیدا کرد. این تغییر، شرایط نابرابری را برای دو کنه‌کش موردآزمایش ایجاد کرد، چون که اولاً در دوره دوم درمان، بیشتر کنه‌ها در مرحله انتشار بودند و راحت‌تر در معرض فلوومار® قرار گرفتند، و دوماً نرخ تولیدمثل و تکثیر جمعیت کنه‌ها در این دوره نسبت به دوره اول کمتر بود. نکته قابل توجه دیگر این‌که، برآورد کارایی کنه‌کش‌ها بر اساس روش دوم، صرفاً در کندوهای کف‌باز مجهز به کفی مخصوص که امکان شمارش تعداد کنه‌های ریخته‌شده را فراهم می‌کند، قابل اجرا است، در حالی که در روش اول چنین محدودیتی وجود ندارد و از هر نوع کندویی می‌توان برای انجام آزمایش استفاده کرد. علاوه بر این، در طول دوره درمان با هایوکلین®، ۱۱ مرتبه تعداد کنه‌های ریخته‌شده روی سینی کف کندوها شمارش شد که این کار بسیار وقت‌گیر می‌باشد. در مجموع، برآورد کارایی کنه‌کش‌ها بر اساس تغییر در سطح آلودگی کلنی، مسیر کوتاه‌تر، کاربردی‌تری و شاید دقیق‌تری برای تعیین میزان موفقیت روش درمان باشد. اگر در حین برآورد سطح آلودگی زنبورهای بالغ هر کلنی، میزان آلودگی شفیره‌ها هم سنجیده شود و میانگین سطح آلودگی کلنی برآیندی از سطح آلودگی زنبورهای بالغ و شفیره‌ها باشد (Dietemann *et al.*, 2013)، بسیار می‌تواند در افزایش دقت و تفسیر عمیق‌تر نتایج مؤثر باشد.

هایوکلین®، اثر جانبی قابل توجهی روی جمعیت کلنی‌ها و زنده‌مانی ملکه به همراه نداشت و بین جمعیت شفیره و زنبور بالغ کلنی‌های تیمار و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در تأیید این موضوع، آزمایش (Tlak Gajger & Susec, 2019) نیز نشان داد که هایوکلین® هیچ‌گونه سمیت یا عوارض جانبی قابل-ملاحظه‌ای روی نوزادان و حشرات بالغ زنبورعسل نداشته است.

نتیجه‌گیری کلی

اکثر زنبورداران ایران از کنه‌کش‌های شیمیایی مختلف در قالب یک برنامه تقویمی عموماً برخاسته از تجربه برای کنترل کنه واروا استفاده می‌کنند. نتایج پژوهش حاضر به گونه‌ای رقم خورد که ناخواسته با مسأله‌ای که اکثر زنبورداران کشور با آن مواجه هستند، همسو شد. عدم حصول رضایت از کارایی یک کنه‌کش و رفتن ناآمیدانه به سراغ یک کنه‌کش دیگر، مشکلی است که اکثر زنبورداران ایران با آن دست به گریبانند. همان گونه که ملاحظه شد، سه هفته تیمار با هایوکلین® و بلافاصله شش هفته تیمار با فلوموار® نتوانست مانع از رشد جمعیت کنه شود. با این حال، پیشنهاد می‌شود کارایی هایوکلین® در سایر فصول و نقاط مختلف جغرافیایی کشور به صورت مستقل یا در تلفیق با روش حبس ملکه مورد بررسی قرار گیرد.

Author's Contributions

Mostafa Amini: methodology, investigation, draft preparation; **Vahid Ghasemi:** conceptualization, formal analysis, final review and edit, supervision, project administration, funding acquisition; **Alireza Arab:** conceptualization, investigation, draft preparation, final review and edit; **Zahra Zarbaf:** methodology, visualization.

Author's Information

Mostafa Amini	✉ mostafaamini@ut.ac.ir
Vahid Ghasemi	✉ vghasemi@ut.ac.ir
Alireza Arab	✉ alirezaarab94@ut.ac.ir
Zahra Zarbaf	✉ zarbaf.zahra@ut.ac.ir

 <https://orcid.org/0009-0000-6725-090X>
 <https://orcid.org/0000-0002-0616-1791>
 <https://orcid.org/0000-0003-0267-8504>
 <https://orcid.org/0009-0001-9734-5878>

Funding

This work was funded by the Research Deputy of the University of Tehran.

Data Availability Statement

All data supporting the findings of this study are available within the paper.

Acknowledgments

The authors wish to thank the reviewers for their comments, which improved the quality of this work.

Ethics Approval and Consent to Participate

Bees and mites were used in this study. All applicable international, national, and institutional guidelines for the care and use of animals were followed. This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors.

Consent for Publication

Not applicable.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.

Generative AI statement

The authors declare that no Gen AI was used in the creation of this manuscript.

REFERENCES

- Akyol, E. & Yeninar, H. (2008) Controlling *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies by using 'Thymovar' and 'BeeVital'. *Italian Journal of Animal Science*, 7, 237-242.
<https://doi.org/10.4081/ijas.2008.237>

- Albero, B., Miguel, E. & García-Valcárcel, A. I. (2023) Acaricide residues in beeswax. Implications in honey, brood and honeybee. *Environmental Monitoring and Assessment*, 195, 454. <https://doi.org/10.1007/s10661-023-11047-6>
- Bahreini, R. (2003) A comparison of two methods of applying oxalic acid for control of varroa, *Journal of Apicultural Research*, 42:4, 82-83. <http://dx.doi.org/10.1080/00218839.2003.11101098>
- Bahreini, R., Docherty, C., Feindel, D. & Muirhead, S. (2023) Comparing the efficacy of synthetic Varroacides and *Varroa destructor* phenotypic resistance using Apiarium and Mason jar bioassay techniques. *Pest Management Science*, 80(3), 1577-1592. <https://doi.org/10.1002/ps.7891>
- Bahreini, R., Tahmasebi, G. H., Nowzari, J. & Talebi, M. (2004) A study of the efficacy of formic acid in controlling *Varroa destructor* and its correlation with temperature in Iran. *Journal of Apicultural Research*, 43(4), 158-161. <https://doi.org/10.1080/00218839.2004.11101129>
- Benito-Murcia, M., Bartolomé, C., Maside, X., Bernal, J., Bernal, J. L., del Nozal, M. J., Meana, A., Botías, C., Martín-Hernández, R. & Higes, M. (2021) Residual Tau-Fluvalinate in honey bee colonies is coupled with evidence for selection for *Varroa destructor* resistance to pyrethroids. *Insects*, 12, 731. <https://doi.org/10.3390/insects12080731>
- Berry, J. A., Bartlett, L. J., Bruckner, S., Baker, C., Braman, S. K., Delaplane, K. S. & Williams, G. R. (2022) Assessing repeated oxalic acid vaporization in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies for control of the ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Journal of Insect Science*, 22(1), 15. <https://doi.org/10.1093/jisesa/icab089>
- Berry, J. A., Braman, S. K., Delaplane, K. S. & Bartlett, L. J. (2023) Inducing a summer brood break increases the efficacy of oxalic acid vaporization for *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) control in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Journal of Insect Science*, 23(6), 14. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iead085>
- Brodschneider, R., Brus, J. & Danihlik, J. (2019) Comparison of apiculture and winter mortality of honey bee colonies (*Apis mellifera*) in Austria and Czechia. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 274, 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.01.002>
- Büchler, R., Uzunov, A., Kovačić, M., Prešern, J., Pietropaoli, M., Hatjina, F., Pavlov, B., Charistos, L., Formato, G., Galarza, E., Gerula, D., Gregorc, A., Malagnini, V., Meixner, M., Nedić, N., Puškadija, Z., Rivera-Gomis, J., Jenko, M. R., Smodiš Škerl, M. I., Vallon, J., Vojt, D., Wilde, J. & Nanetti, A. (2020) Summer brood interruption as integrated management strategy for effective Varroa control in Europe. *Journal of Apicultural Research*, 59, 5,764-773. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1793278>
- Charrière, J. D. & Imdorf, A. (2002) Oxalic acid treatment by trickling against *Varroa destructor*: Recommendations for use in central Europe and under temperate climate conditions. *Bee World*, 83(2), 51-60. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2002.11099541>
- Coffey, M. F. & 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. <https://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.5.07>
- Coffey, M. F. (2007) Biotechnical methods in colony management, and the use of Apiguard[®] and Exomite[™] *Apis* for the control of the varroa mite (*Varroa destructor*) in Irish honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Apicultural Research*, 46, 4, 213-219. <https://dx.doi.org/10.1080/00218839.2007.11101397>
- Delaplane, K. S., Van der Steen, J. & Guzman, N. 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.1.52.1.03>
- Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S. J., Anderson, D. L., Locke, B., Delaplane, K. S., Wauquiez, Q., Tannahil, C., Frey, E., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P. & Ellis, J. D. (2013) Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-54. <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.09>
- Elzen, P. J., Eischen, F. A., Baxter, J. R., Elzen, G. W. & Wilson, W. T. (1999) Detection of resistance in US *Varroa jacobsoni* Oud. (Mesostigmata: Varroidae) to the acaricide fluvalinate. *Apidologie*, 30(1), 13-17. <https://doi.org/10.1051/apido:19990102>
- Floris, I., Satta, A., Cabras, P., Garau, V. L. & Angioni, A. (2004) Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: effectiveness, persistence, and residues. *Journal of Economic Entomology*, 97, 187-191. <https://doi.org/10.1093/jee/97.2.187>
- Fries, I. & Rosenkranz, P. (1996) Number of reproductive cycles of *Varroa jacobsoni* in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental and Applied Acarology*, 20, 103-112 (1996). <https://doi.org/10.1007/BF00051156>
- Giacomelli, A., Pietropaoli, M., Carvelli, A., Iacoponi, F. & Formato, G. (2016) Combination of thymol treatment (Apiguard[®]) and caging the queen technique to fight *Varroa destructor*. *Apidologie*, 47(4), 606-616. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0408-4>

- Giusti, M., Sabelli, C., Di Donato, A., Lamberti, D., Paturzo, C. E., Polignano, V., Lazzari, R. & Felicioli, A. (2017) Efficacy and safety of Varterminator, a new formic acid medicine against the varroa mite. *Journal of Apicultural Research*, 56(2), 162-167. <http://dx.doi.org/10.1080/00218839.2017.1291207>
- Gregorc, A. & Planinc, I. (2004) Dynamics of falling Varroa mites in honeybee (*Apis mellifera*) colonies following oxalic acid treatments. *Acta Veterinaria Brno*, 73, 385-391. <https://doi.org/10.2754/AVB200473030385>
- Gregorc, A., Alburaki, M., Sampson, B., Knight, P. R. & Adamczyk, J. (2018) Toxicity of selected acaricides to honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa* (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) and their use in controlling Varroa within honey bee colonies. *Insects*, 9, 55. <https://doi.org/10.3390/insects9020055>
- Gregorc, A., Alburaki, M., Werle, C., Knight, P. R. & Adamczyk, J. (2017) Brood removal or queen caging combined with oxalic acid treatment to control varroa mites (*Varroa destructor*) in honey bee colonies (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 48(6), 821-832. <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0526-2>
- Guzman-Novoa, E., Eccles, L., Calvete, Y., McGowan, J., Kelly, P. G. & Correa-Benítez, A. (2010) *Varroa destructor* is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Ontario, Canada. *Apidologie*, 41, 443-450. <https://doi.org/10.1051/apido/2009076>
- Haber, A. I., Steinhauer, N. A. & vanEngelsdorp, D. (2019) Use of chemical and nonchemical methods for the control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and associated winter colony losses in U.S. beekeeping operations. *Journal of Economic Entomology*, 112, 1509-1525. <https://doi.org/10.1093/jee/toz088>
- Hung, K-L. J., Kingston, J. M., Albrecht, M., Holway, D. A. & Kohn, J. R. (2018) The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. *Proceedings of the Royal Society B*, 285, 20172140. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2017.2140>
- Kanelis, D., Tananaki, C., Liolios, V. & Rodopoulou, M. A. (2023) Evaluation of oxalic acid with glycerin efficacy against *Varroa destructor* (Varroidae): a four-year assay. *Journal of Apicultural Research*, 1-9. <https://doi.org/10.1080/00218839.2023.2169368>
- Kevan, P. G., Eisikowitch, D., Kinuthia, W., Martin, P., Mussen, E. C., Partap, U., Taylor, O. R., Thomas, V. G., Thorp, R.W., Vergara, C. H. & Winter, K. (2007) High quality bee products are important to agriculture: why, and what needs to be done. *Journal of Apicultural Research*, 46(1), 59-64. <https://doi.org/10.1080/00218839.2007.11101368>
- Kovacic, M., Uzunov, A., Tlak Gajger, I., Pietropaoli, M., Soroker, V., Adjlane, N., Benko, V., Charistos, L., Dall' Olio, R., Formato, G., Hatjina, F., Malagnini, V., Freda, F., Otmi, A., Puškadija, Z., Villar, C. & Büchler, R. (2023) Honey vs. mite: a trade-off strategy by applying summer brood interruption for *Varroa destructor* control in the Mediterranean region. *Insects*, 14, 751. <https://doi.org/10.3390/insects14090751>
- Lodesani, M., Costa, C. Besana, A., Dall'Olio, D., Franceschetti, S., Tesoriero, D. & Vaccari, G. (2014) Impact of control strategies for *Varroa destructor* on colony survival and health in northern and central regions of Italy. *Journal of Apicultural Research*, 53(1), 155-164. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.1.17>
- Lodesani, M., Franceschetti, S. & Dall'Olio, R. (2019) Evaluation of early spring bio-technical management techniques to control varroosis in *Apis mellifera*. *Apidologie*, 50, 131-140. <https://doi.org/10.1007/s13592-018-0621-z>
- Maggi, M., Tourn, E., Negri, P., Szawarski, N., Marconi, A., Gallez, L., Medici, S., Ruffinengo, S., Brasesco, C., De Feudis, L., Quintana, S., Sammataro, D. & 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, 596-605. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0405-7>
- Maggi, M., Damiani, N., Ruffinengo, S. R., Brasesco, M. C., Szawarski, N., Mitton, G. A., Mariani, F., Sammataro, D., Quintana, S. & Eguaras, M. J. (2017) The susceptibility of *Varroa destructor* against oxalic acid: a study case. *Bulletin of Insectology*, 70(1), 39-44.
- Martin, S. J. & Kemp, D. (1997) Average number of reproductive cycles performed by *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Apicultural Research*, 36(3-4), 113-123. <https://doi.org/10.1080/00218839.1997.11100937>
- McMenamin, A. J. & Genersch, E. (2015) Honey bee colony losses and associated viruses. *Current Opinion in Insect Science*, 8, 121-129. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.01.015>
- Mitton, G. A., Meroi Arcerito, F., Cooley, H., Fernández de Landa, G., Eguaras, M. J., Ruffinengo, S. R. & Maggi, M. D. (2022) More than sixty years living with *Varroa destructor*: a review of acaricide resistance. *International Journal of Pest Management*, 68, 1-18. <https://doi.org/10.1080/09670874.2022.2094489>
- Ostiguy, N., Drummond, F. A., Aronstein, K., Eitzer, B., Ellis, J. D., Spivak, M. & Sheppard, W. S. (2019) Honey bee exposure to pesticides: a four-year nationwide study. *Insects*, 10(1), 13. <https://doi.org/10.3390/insects10010013>

- Papa, G., Maier, R., Durazzo, A., Lucarini, M., Karabagias, I. K., Plutino, M., Bianchetto, E., Aromolo, R., Pignatti, G., Ambrogio, A., Pellicchia, M. & Negri, I. (2022) The honey bee *Apis mellifera*: an insect at the interface between human and ecosystem health. *Biology*, 11, 233. <https://doi.org/10.3390/biology11020233>
- Papežíková, I., Palíková, M., Kremserová, S., Zachová, A., Peterová, H., Babák, V. & Navrátil, S. (2017) Effect of oxalic acid on the mite *Varroa destructor* and its host the honey bee *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 56(4), 1-9. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1327937>
- Prouty, C., Abou-Shaara, H. F., Stanford, B., Ellis, J. D. & Jack, C. (2023) Oxalic acid application method and treatment intervals for reduction of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) populations in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Journal of Insect Science*, 23(6), 13, 1-8. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iead086>
- Rademacher, E. & Harz, M. (2006) Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies - a review. *Apidologie*, 37, 98-120. <https://doi.org/10.1051/apido:2005063>
- Rashid, B., Khani, A., Ghasemi, V., Ghadamyari, M., Sahebzadeh, N. & Moharramipour, S. (2020) Evaluation of a new plant-based formulation for the treatment of varroosis in the honey bee colonies: efficacy and safety. *Apidologie*, 51, 1074-1090. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00786-x>
- Rinkevich, F. D. (2020) Detection of amitraz resistance and reduced treatment efficacy in the *Varroa* mite, *Varroa destructor*, within commercial beekeeping operations. *PLoS ONE*, 15(1), e0227264. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227264>
- Rodriguez-Dehaibes, S. R., Parido Sedas, V. T., Luna-Olivars, G. & Villanueva-Jimenez, J. A. (2017) Two commercial formulations of natural compounds for *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) control on Africanized bees under tropical climatic conditions. *Journal of Apicultural Research*, 56, 58-62. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1268323>
- Rosenkranz, P., Aumeier, P. & Ziegelmann, B. (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, S96-119. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>
- Sabahi, Q., Morfin, N., Emsen, B., Gashout, H. A., Kelly, P. G., Otto, S., Merrill, A. R. & 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>
- Smodiš Škerl, M. I., Rivera-Gomis, J., Tlak Gajger, I., Bubnic, J., Talakic, G., Formato, G., Baggio, A., Mutinelli, F., Tollenaers, W., Laget, D., Malagnini, V., Zanotelli, L. & Pietropaoli, M. (2021) Efficacy and toxicity of Varromed[®] used for controlling *Varroa destructor* infestation in different seasons and geographical areas. *Applied Sciences*, 11, 8564. <https://doi.org/10.3390/app11188564>
- Sun, Y. P. & Shepard, H. H. (1947) Methods of calculating and correcting the mortality of insects. *Journal of Economic Entomology*, 40(5), 710-715. <https://doi.org/10.1093/jee/40.5.710>
- Thurston, D., Eccles, L., Kempers, M., Borges, D., Ducsharm, K., Ovinge, L., Stotesbury, D., Scarlett, R., Kozak, P., Petukhova, T., Guzman-Novoa, E. & Morfin, N. (2025) Efficacy and safety of an oxalic acid and glycerin formulation for *Varroa destructor* control in honey bee colonies during summer in a northern climate. *Pathogens*, 14, 724. <https://doi.org/10.3390/pathogens14080724>
- Tlak Gajger, I. & Susec, P. (2019) Efficacy of varroacidal food additive appliance during summer treatment of honeybee colonies (*Apis mellifera*). *Veterinarski Arhiv*, 89, 87-96. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0441>
- vanEngelsdorp, D., Evans, J. D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B. K., Frazier, M., Frazier, J., Cox-Foster, D., Chen, Y., Underwood, R., Tarpy, D. R. & Pettis, J. S. (2009) Colony collapse disorder: a descriptive study. *PLoS ONE*, 4(8): e6481. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006481>
- Zhang, S., Ma, J., Zhang, L., Sun, Z., Zhao, Z. & Khan, N. (2022) Does adoption of honeybee pollination promote the economic value of kiwifruit farmers? Evidence from China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19, 8305. <https://doi.org/10.3390/ijerph19148305>

Citation: Amini, M., Ghasemi, V., Arab, A. & Zarbaf, Z. (2026) Evaluating the efficacy of HiveClean[®] in controlling the *Varroa* mite (*Varroa destructor*) and its potential side effects on the honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Alborz province. *J. Entomol. Soc. Iran*, 46 (3), 371-384.

DOI: <https://doi.org/10.22034/jesi.46.3.10>

URL: https://jesi.areeo.ac.ir/article_135792.html



Evaluating the efficacy of HiveClean® in controlling the Varroa mite (*Varroa destructor*) and its potential side effects on the honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Alborz province

Mostafa Amini¹, Vahid Ghasemi¹, Alireza Arab¹ & Zahra Zarbaf¹

1. Division of Honey Bee, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Science and Engineering, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Abstract. HiveClean® is a miticide with oxalic acid as its main active ingredient, recommended for controlling the *Varroa* mite (*Varroa destructor*). This study evaluated the efficacy of this miticide and its side effects on honey bee (*Apis mellifera*) colonies from mid-summer to mid-autumn of 2025 in Karaj, Iran. Sixteen mite-infested colonies were randomly assigned to treatment (n = 8) and control (n = 8) groups. Treatment colonies received HiveClean® three times at seven-day intervals, while control colonies were left untreated. Mite infestation levels were estimated using the alcohol wash method after the treatment period. Efficacy was assessed based on by the change in infestation levels. Side effects on brood and adult bee populations, as well as queen survival, were also monitored. After HiveClean® application, infestation levels in treated colonies changed from $2.25 \pm 0.72\%$ to $1.85 \pm 0.63\%$, a difference that was not statistically significant ($P > 0.999$). The estimated efficacy of HiveClean® was $36.04 \pm 23.06\%$. No significant side effects on colony populations or queen survival were observed. Overall, these results indicate the low efficacy of HiveClean® in controlling *Varroa* mites under the tested conditions. Further evaluation of this miticide in other seasons and regions is recommended.

Article info

Received: 18 November 2025
Accepted: 14 June 2026
Published: 08 July 2026

Subject Editor: Najmeh Sahebzadeh

Corresponding author: Vahid Ghasemi

E-mail: vghasemi@ut.ac.ir

DOI: <https://doi.org/10.22034/jesi.46.3.10>

Keywords: *Varroa* mite, HiveClean®, miticidal efficacy, colony populations, queen survival