

بررسی میزان اثربخشی غلظت‌های مختلف اسانس دو گونه مرزه (*Satureja khuzistanica* Jamzad و *S. spicigera* (C. Koch) Boiss.) در کنترل کنه واروا کندوی عسل

سعید دوازده امامی^{۱*}، رامین انیکازی^۲ و علیرضا جلالی زند^۳

* نویسنده مسئول، استادیار، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران، پست الکترونیک: S.12emami@yahoo.com

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، واحد خوراسگان، دانشگاه آزاد اسلامی، خوراسگان، ایران

۳- دانشیار، واحد خوراسگان، دانشگاه آزاد اسلامی، خوراسگان، ایران

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۷

چکیده

کنه واروا از مهمترین آفات کلنی‌های زنبور عسل در سرتاسر جهان می‌باشد، با تغذیه از همولف لارو زنبور عسل و انتقال برخی ویروس‌ها، خسارت اقتصادی زیادی به صنعت زنبورداری جهان وارد می‌کند. استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی علیه این کنه باعث ایجاد جمعیت‌های مقاوم آفت شده و محصولات کندو را آلوده می‌نماید. میزان سمیت تدخینی غلظت‌های مختلف اسانس دو گونه مرزه (*Satureja khuzistanica* Jamzad و *S. spicigera* (C. Koch) Boiss.) بر مرگ‌ومیر کنه واروا و زنبور عسل پس از جمع‌آوری نمونه از زنبورستان در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. کنه‌های ماده بالغ در دمای ۳۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵۰٪ و تاریکی به مدت ۵ تا ۱۰ ساعت با غلظت‌های صفر، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm اسانس در چهار تکرار تیمار و برای غلظت‌های ۲۰ تا ۱۰۰۰ ppm محاسبه شدند. براساس نتایج این آزمایش، مقادیر LC₅₀ تعیین شده برای اسانس مرزه خوزستانی، در بازه زمانی ۵ و ۱۰ ساعت پس از شروع اسانس‌دهی، برای کنه واروا به ترتیب ۱۴۹/۸ و ۷۸/۶ ppm و برای زنبور عسل کارگر ۷۵۰/۵ و ۴۳۵/۸ ppm بود و غلظت‌های محاسبه شده برای اسانس مرزه اسپسیژرا در همان بازه زمانی بر روی کنه واروا، به ترتیب ۲۵۵/۷ و ۱۵۳/۶ ppm و برای زنبور عسل کارگر ۷۳۷/۶ و ۵۷۳ ppm تعیین شد. نتایج نشان داد اسانس مرزه خوزستانی و مرزه اسپسیژرا هر دو با داشتن حداقل تلفات روی زنبور عسل، از قابلیت بالایی برای کنترل کنه واروا برخوردار بودند و مرزه خوزستانی مزیت بیشتری داشت. تجزیه کیفی نشان داد که میزان کارواکرول در اسانس مرزه خوزستانی ۹۳٪ و میزان کارواکرول و تیمول موجود در اسانس مرزه اسپسیژرا به ترتیب ۴۳ و ۲۹٪ بود.

واژه‌های کلیدی: کنه واروا، زنبور عسل ایرانی، اسانس مرزه، کنترل آفات.

مقدمه

(*Apis mellifera* L.) و مهمترین عامل تهدیدکننده صنعت زنبورداری در سراسر دنیا به‌شمار می‌آید (Anderson & Trueman, 2000). کنه واروا با تغذیه از همولف در

کنه واروا (*Varroa destructor* Anderson & Trueman) به‌عنوان زیان‌آورترین آفت زنبور عسل

پاشش غلظت ۲٪ اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) مرزه یک‌ساله (*Satureja hortensis* L.)، نعناع (*Mentha spicata* L.) و شوید (*Anethum graveolens* L.) بر زنبورهای عسل آلوده به کنه واروا پس از یک هفته با حداقل تلفات ۲/۵٪ به زنبور عسل موجب از بین رفتن ۵۸-۴۳٪ کنه‌های مورد آزمایش شد (Ariana et al., 2002). همچنین بکارگیری ۱۰ میلی‌گرم محلول امولسیون ۳، ۴ و ۵٪ اسانس سه گیاه گل‌جعفری (*Tagetes minuta* L.)، *Heterodera latifolia* Buckey و نوعی اکالیپتوس (*Eucalyptus* sp.) باعث مرگ‌ومیر ۶۳ تا ۸۴ درصدی کنه‌های تیمار شده گردید (Ruffinengo et al., 2005). همچنین این محققان نشان دادند که اسانس گونه اکالیپتوس ۵۸٪ تلفات روی زنبور عسل ایجاد کرده است. همچنین اثر ۵۰۰ ppm از اسانس دو گونه گیاه *Tagetes minuta* L. و *Heterodera latifolia* Buckey. پس از ۴۸ ساعت اسانس‌دهی به روش پاششی با داشتن تلفات کمتر از ۱۰٪ بر روی زنبور عسل منجر به مرگ‌ومیر بیش از ۷۰٪ کنه‌های تیمار گردید. تحقیقات نشان داد که اسانس *Cirtus aurantium* L. و *Cymbopogon flexuosus* L. پس از چهار هفته اسانس‌دهی موجب از بین رفتن تمامی کنه‌های موجود در کندوهای آلوده شد (Abd El-Wahab & Ebada, 2006).

تحقیقات متمرکز بر انواع ترکیب‌های طبیعی نشان داد که غلظت ۱۵-۵ میکروگرم تیمول، ۱۵۰-۵۰ میکروگرم کامفور و ۶۰-۲۰ میکروگرم منتول در هر لیتر هوا بدون داشتن مرگ‌ومیر قابل توجه بر روی زنبور عسل منجر به از بین رفتن حدود ۱۰۰٪ کنه‌های تیمار شد، بر همین اساس فرمولاسیون‌های مختلفی که مواد مؤثره آنها در ترکیب‌های گیاهی تشکیل داده‌اند به بازار عرضه شده است (Imdorf et al., 1995b). فرمولاسیون گیاهی Thymovar® که شامل یک قطعه اسفنج می‌باشد، در سال ۱۹۹۸ در سوئیس به‌عنوان یک ترکیب کنه‌کش بی‌خطر برای کنترل کنه واروا به ثبت رسید که تیمول مهمترین ترکیب شیمیایی این فرمولاسیون تجاری است و فرمولاسیون تجاری

مراحل شفیرگی و بالغ زنبور عسل باعث کاهش آب بدن، پایین آمدن سطح پروتئین و کربوهیدرات و در نهایت مرگ آن می‌شود (Bowen-Walker & Gunn, 2001). استفاده بی‌رویه و نادرست از ترکیب‌های شیمیایی موجب ایجاد مشکلاتی از قبیل باقیمانده سموم در فرآورده‌های حاصل از زنبور عسل و آلودگی‌های زیست محیطی و از همه مهمتر ظهور جمعیت‌های مقاوم کنه واروا در زنبورستان شده است (Elzen et al., 1998). همچنین وجود باقیمانده سموم شیمیایی در فرآورده‌های حاصل از فعالیت زنبور عسل اثر نامطلوبی بر سلامت مصرف‌کنندگان این محصولات گذاشته است (Wallner, 1999). در سال‌های اخیر، کنترل کنه واروا توسط سموم شیمیایی به‌ویژه آفت‌کش‌های پایروتروئیدی (تتو-فلووالینات) با نام تجاری آپیستان، فلومتین، با نام تجاری بایوارول و کومافوس انجام می‌شود (Elzen et al., 1998). گزارش‌هایی در مورد استفاده از تترامایسین و آپیستان اکالیساید برای کنترل کنه واروا در کندوی عسل وجود دارد (Delaplane, 1995).

این مشکلات باعث شد که محققان به دنبال استفاده از روش‌های کم‌خطر برای کنترل این آفت باشند. از جمله می‌توان به کاربرد اسانس‌ها اشاره کرد که از گیاهان معطر استحصال می‌شوند و به دلیل داشتن بوی تند و سمیت کم برای پستانداران، عدم تأثیر سوء بر محیط‌زیست و مقبولیت در میان عامه مردم از جمله ترکیب‌های بسیار مفید برای کنترل آفات به‌شمار می‌آیند. اسانس‌های گیاهی به دلیل داشتن خاصیت انتخابی، تأثیر سوء کم روی محیط‌زیست و موجودات غیر هدف از قابلیت بالایی برای کنترل آفات برخوردار هستند (Isman, 2000). برخی محققان اثرهای حشره‌کشی اسانس درمنه دشتی (*Artemisia sieberi*) جمع‌آوری شده از دشت کرج را گزارش نمودند (Negahban et al., 2006). همچنین تأثیر اختصاصی این اسانس را بر سه حشره آفت انباری اعلام کردند (Negahban et al., 2006). استفاده از خواص ترکیب‌های گیاهی علیه کنه واروا در شرایط آزمایشگاه نشان داد که

انجام شد. در این روش با استفاده از گاز دی‌اکسیدکربن کنه‌ها از روی بدن زنبور عسل جدا شده و کنه‌ها پس از به‌هوش آمدن برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی به پتری‌دیش منتقل شدند.

گیاهان مورد مطالعه و تهیه اسانس‌ها

گونه مرزه خوزستانی (*S. khuzistanica*) و مرزه اسپسیسیژرا (*S. spicigera*) در مهرماه سال ۱۳۹۴ از مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان جمع‌آوری شد. برگ‌های گیاهان پس از جمع‌آوری از محل و خشک شدن کامل، در پاکت‌های کاغذی نگهداری شدند. به‌منظور اسانس‌گیری از سرشاخه‌های گلدار، بخش‌های چوبی از گیاه جدا شده و برگ‌ها و گل‌ها با استفاده از آسیاب برقی خرد شدند و هر بار مقدار ۱۰۰ گرم از برگ‌های خردشده به همراه ۶۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه اسانس‌گیر شیشه‌ای (کلونجر) به مدت ۳/۵ ساعت اسانس‌گیری شد. ترکیب‌های این اسانس طبق گزارش Davazdahemami و همکاران (۲۰۱۴) با دستگاه گاز کروماتوگراف وارین ۳۴۰۰، دارای آشکارساز نوع FID و گاز حامل هلیوم تجزیه شد و شناسایی اجزاء موجود در اسانس به کمک شاخص‌های بازداری آنها در گاز کروماتوگرافی و مقایسه آنها با مقادیری که در منابع مختلف برای هر ترکیب منتشر گردیده بود، به شرح جدول ۱ تعیین شد. محاسبات کمی درصد هر ترکیب به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ مربوط به طیف‌ها انجام شد.

آزمایش‌های زیست‌سنجی

برای ارزیابی خاصیت کنه‌کشی اسانس مرزه خوزستانی و مرزه اسپسیسیژرا بر روی کنه واروا و زنبور عسل، ابتدا آزمایش‌های مقدماتی برای تعیین حدود بالا و پایین غلظت اسانس مورد مطالعه که باعث مرگ‌ومیر بین ۱۰ تا ۹۰٪ کنه‌های تیمار شده می‌شود، انجام گردید (Abbott, 1925).

Apilife VAR® که ماده مؤثره آن را تیمول (۷۶٪)، اکالیپتول (۱۶/۴٪)، منتول (۳/۸٪) و کامفور (۳/۸٪) تشکیل داده طی هشت هفته ۹۷/۷٪ و طی چهار هفته ۹۳/۷٪ اثر کنه‌کشی داشت (Imdorf et al., 1995a). همچنین تحقیقات Floris و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد که دو فرمولاسیون تجاری Apilife VAR® و Apigard® که ترکیب اصلی آنها را تیمول تشکیل می‌دهد، پس از دو هفته کاربرد در کنه‌های آلوده به کنه واروا باعث مرگ‌ومیر بیش از ۸۰٪ کنه‌های مورد آزمایش شد. همچنین تیمار کندوهای زنبور عسل آلوده به کنه واروا با مخلوط اسانس‌های تیمول، اکالیپتوس، منتول و کامفور موجب تلفات ۹۶/۷٪ کنه‌ها می‌شود (Spivak & Calderone, 1995). محقق دیگری نشان داد که اسانس پونه کوهی *Mentha longifolia* L. با داشتن ترکیب تیمول و کارواکرول در مدت ۱۰ ساعت باعث تلفات ۸۲/۵ درصدی کنه‌ها می‌شود و با افزایش غلظت اسانس پونه کوهی، میزان لرزش کلیسرها و پاهای کنه‌های تیمار شده افزایش می‌یابد (Ghasemi, 2009). همچنین اسانس دو گونه گیاهی *Acantholipia seriphioidefs* و *Schinus mole* L. و Mold. خاصیت کنه‌کشی مطلوبی در کنترل کنه واروا دارند. از آنجایی که ترکیب‌های اصلی این دو گونه گیاهی را تیمول و کارواکرول تشکیل می‌دهند خواص کنه‌کشی آنها را به ترکیب‌های فوق نسبت داده‌اند (Ruffinengo et al., 2005). پاشیدن امولسیون آبی کارواکرول روی کنه واروا، پس از ۲۴ ساعت منجر به از بین رفتن بیش از ۹۰٪ کنه‌های تیمار شده می‌شود (Colin et al., 1994). محققان دیگری دریافته‌اند که تیمول، منتول و کارواکرول تلفات قابل توجهی بر کنه‌های تراشه زنبور عسل (*Acarapis woodi*) وارد می‌کند (Ellis & Baxendale, 1997).

مواد و روش‌ها

جداسازی کنه واروا از روی بدن زنبور عسل کارگر در این پژوهش جداسازی کنه واروا از روی بدن زنبور عسل، مطابق روش Ariana و همکاران (۲۰۰۲)

جدول ۱- ترکیب‌های موجود در اسانس دو گونه مرزه مورد استفاده در آزمایش

<i>S. spicigera</i>	<i>S. khuzistanica</i>	شاخص بازداری	ترکیب	ردیف
۰/۵	۰/۲	۹۳۰	α -thujone	۱
۰/۵	.	۹۴۰	α -pinene	۲
۰/۶	.	۹۸۰	sabinene	۳
.	۰/۶	۱۰۱۸	β -pinene	۴
.	.	۱۰۲۶	myrcene	۵
۰/۶	.	۱۰۶۱	α -terpinene	۶
.	۰/۲	۱۰۷۳	<i>p</i> -mentha-3,8-diene	۷
۱۰/۵	۲/۲	۱۰۴۷	<i>p</i> -cymene	۸
.	۰/۶	۱۰۶۰	1,8-cineole	۹
۶/۷	۰/۵	۱۰۸۱	γ -terpinene	۱۰
.	۰/۸	۱۰۹۶	terpinolene	۱۱
.	.	۱۱۰۹	linalool	۱۲
.	۰/۳	۱۱۷۸	terpinen-4-ol	۱۳
.	.	۱۲۱۲	<i>p</i> -cymene-8-ol	۱۴
۲۹/۲	.	۱۲۹۰	thymol	۱۵
۴۳	۹۳/۵	۱۳۰۰	carvacrol	۱۶
۱/۳	.	۱۴۲۵	E-caryophyllene	۱۷
.	۰/۵	۱۴۸۶	germacrene D	۱۸
.	.	۱۵۸۰	spathulenol	۱۹
۰/۳	.	۱۵۸۵	caryophyllene oxide	۲۰

پارافیلیم برای جلوگیری از خروج اسانس از اطراف ظروف استفاده شد و در ژرمیناتور با دمای 30 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی $40 \pm 5\%$ قرار داده شدند. پس حدود بالا و پایین برای تعیین LC_{50} دو گروه ۱۰ تایی دیگر از کنه‌های واروا و زنبورهای عسل کارگر با اسانس دو گونه مرزه به مدت ۵ و ۱۰ ساعت (که در آزمایش‌های مقدماتی درصد مرگ‌ومیر مطلوب را نشان داده بود) در ۴ تکرار تیمار شدند. تیمار شاهد نیز در شرایط مشابه و بدون اعمال اسانس نگهداری شد. عدم حرکت پاها و کلیسر کنه‌های تیمار شده،

بدین‌منظور تعداد ۱۰ عدد زنبور عسل کارگر یک تا سه روزه و ۱۰ کنه ماده بالغ یک تا سه روزه که به تازگی از حجره‌های شفیرگی خارج شده بودند، پس از جدا کردن از روی بدن زنبور عسل به درون ظروف آزمایش (پتری‌های شیشه‌ای به قطر ۹ سانتی‌متر و ارتفاع ۱/۵ سانتی‌متر که کف آنها با کاغذ صافی پوشیده شده بود) منتقل شدند و با اسانس مرزه خوزستانی و مرزه اسپیسیرا با غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm اسانس در چهار تکرار تیمار و برای غلظت‌های ۲۰ تا ۱۰۰۰ ppm محاسبه شدند. از

اسپیسیترا بر کنه واروا و زنبور عسل مورد آزمایش اثر کشندگی دارد (جدول‌های ۲ و ۳). اما میزان تلفات با توجه به غلظت اسانس، مدت زمان اسانس‌دهی، نوع اسانس و گونه حشره مورد آزمایش تغییر پیدا می‌کند. مقدار LC_{50} اسانس مرزه خوزستانی با مقایسه حدود اطمینان ۹۵٪، ۵ و ۱۰ ساعت پس از اسانس‌دهی برای کنه واروا به ترتیب ۱۴۹/۸ و ۷۸/۶ ppm و در زنبورهای عسل کارگر به ترتیب ۷۵۰/۵ و ۴۳۵/۸ ppm و مقدار LC_{50} اسانس مرزه اسپیسیترا با مقایسه حدود اطمینان ۹۵٪، ۵ و ۱۰ ساعت پس از اسانس‌دهی به ترتیب ۲۵۵/۷ و ۱۵۳/۶ ppm و در زنبورهای عسل کارگر به ترتیب ۷۳۵/۶ و ۵۷۳ ppm بود. مقایسه حدود بالا و پایین برای مقادیر LC_{50} در هر دو گونه حشره مورد آزمایش، نشان‌دهنده عدم همپوشانی و وجود تفاوت معنی‌دار بین آنها بود.

که به کمک تحریک توسط سوزن انجام می‌شد به‌عنوان کنه مرده تلقی گردید و زنبورهایی که قادر به حرکت بال و پاهای خود نبودند به‌عنوان زنبورهای مرده در نظر گرفته شدند. در هر آزمایش درصد مرگ‌ومیر پس از اصلاح طبق رابطه Abbott (۱۹۲۵) برای اطمینان از اینکه نتایج بدست‌آمده فقط در اثر عامل اسانس بوده است، بدست‌آمده و بعد توسط آنالیز پروبیت (Crawley, 2013) تجزیه و تحلیل شد. همچنین مقادیر LC_{50} و رسم گراف‌ها در محیط R 2.10.0 انجام گردید.

نتایج

نتایج این تحقیق نشان داد که براساس شاخص LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵٪ هر دو اسانس مرزه خوزستانی و مرزه

جدول ۲- مقادیر LC ‌های محاسبه شده برای اسانس مرزه خوزستانی پس از محلول‌پاشی (برحسب ppm) روی کنه واروا و زنبور عسل کارگر

گونه مورد آزمایش	پس از ۵ ساعت			پس از ۱۰ ساعت			میانگین
	LC_{90}	LC_{50}	LC_{10}	LC_{90}	LC_{50}	LC_{10}	
کنه واروا	۴۱/۱۰	۱۴۹/۸	۴۵۳/۴	۲۱۴/۷	۷۸/۶	۳۲/۲	۱۰۰/۷
زنبور عسل	۳۰۷/۱	۷۵۰/۵	۸۴۵/۹	۶۳۴/۵	۴۳۵/۸	۲۸۷/۱	۵۲۱/۰

جدول ۳- مقادیر LC ‌های محاسبه شده برای اسانس *S. spicigera* پس از محلول‌پاشی (برحسب ppm) روی کنه واروا و زنبور عسل کارگر

گونه مورد آزمایش	پس از ۵ ساعت			پس از ۱۰ ساعت			میانگین
	LC_{90}	LC_{50}	LC_{10}	LC_{90}	LC_{50}	LC_{10}	
کنه واروا	۷۵/۴	۲۵۵/۷	۸۹۵/۳	۴۰۸/۸	۱۵۳/۶	۵۳/۴	۲۰۵/۷
زنبور عسل	۳۹۶	۷۳۷/۶	۲۷۳۵	۱۲۸۹/۵	۵۷۳/۰	۳۱۵/۸	۶۳۴/۶

بود. همچنین کنه واروا در مقایسه با زنبور عسل حساسیت بسیار بالاتری به هر دو اسانس نشان داد. مقایسه LC_{50} ‌ها برای اسانس مرزه خوزستانی حساسیت ۵ برابر در تیمار ۵ ساعت و حساسیت ۳/۸ برابر در تیمار ۱۰ ساعت را

میانگین غلظت‌های کشندگی (جدول‌های ۲ و ۳) نشان داد که با افزایش زمان تیمار، غلظت کشندگی (LC) ۱۰، ۵۰ و ۹۰ به حدود نصف کاهش می‌یابد، به‌عبارت دیگر رابطه بین این دو پارامتر به‌صورت خطی با شیب نسبتاً تند

مانند تهیه امشی از پیرتر و ترکیب‌های سولفات‌ها نیکوتین یا کلره پینن به حشره‌کش‌های با دوام‌تر و قوی‌تری تبدیل می‌شوند. به‌کارگیری ترکیب‌های گیاهی در مقایسه با سموم شیمیایی همیشه موفقیت بیشتری ندارد. مقایسه اثر کشندگی عصاره گیاه حنا و روناس و سموم شیمیایی ایمیداکلوپرید و پرمیکارب بر شته غلات نشان داد که این عصاره‌های گیاهی قابلیت حشره‌کشی بسیار کمتری نسبت به سموم شیمیایی مورد استفاده در تحقیق داشته و در صورت استفاده باید در تلفیق با سایر روش‌ها بکار رود (Rastegari et al., 2016). خانواده‌های گیاهی مانند خانواده نعناعیان، سداب، چربش و ستاره‌ای‌ها منابع استثنایی و قابل توجه حشره‌کش‌های طبیعی هستند که با روش‌های مختلف از جمله ممانعت از تخم‌ریزی و محدودیت باروری، اثرهای ضد تغذیه، هورمونی، سمیت و دورکنندگی بر حشرات تأثیر می‌گذارند (Pavela, 2007). ترکیب‌هایی مانند تانن (به‌ویژه اسید تانیک) بر سیستم گوارش حشرات اثر مخرب و انتراکوینون اثرهای دورکنندگی دارد، تانن در حنا (Rastegari et al., 2016)، چای، خرما و خرمالو (Davazdahemami, 2004) و انتراکوینون در روناس وجود دارد (Rastegari et al., 2016).

شناسایی ترکیب‌های اسانس دو گونه مرزه بکار گرفته شده در این تحقیق، نشان داد که کارواکرول و تیمول دو ماده اصلی تشکیل‌دهنده اسانس هستند که می‌توان خواص کنه‌کشی را به آنها نسبت داد. بنابراین به نظر می‌رسد کارآمدتر بودن اسانس مرزه خوزستانی در کنترل کنه در مقایسه با اسانس مرزه اسپسیژرا به دلیل درصد بالاتر کارواکرول آن باشد (جدول ۱). سایر منابع گیاهی مانند زنیان (Davazdahemami et al., 2013)، انواع آویشن (Safaei et al., 2014) و انواع دیگر مرزه‌های چندساله (Davazdahemami et al., 2014) که در شرایط مختلف آب و هوایی کشور قابل کشت هستند هم دارای این ترکیب‌های طبیعی هستند. پاشش امولسیون آبی کارواکرول روی کنه واروا، پس از ۲۴ ساعت منجر به از بین رفتن بیش از ۹۰٪ کنه‌های تیمار شده می‌شود (Colin et al., 1994).

نشان داد و برای اسانس مرزه اسپسیژرا حساسیت ۲/۸ برابر در تیمار ۵ ساعت و حساسیت ۳/۷ برابر در تیمار ۱۰ ساعت مشاهده شد. نتایج این جدول‌ها نشان داد برای رسیدن میزان کشندگی از ۵۰ به ۹۰ با توجه به نوع اسانس و مدت زمان تیمار، غلظت باید از ۱/۱ تا ۳/۷ برابر تغییر کند.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد اسانس بدست‌آمده از دو گونه مرزه خوزستانی و مرزه اسپسیژرا می‌تواند به‌عنوان آفت‌کش انتخابی بر کنه واروا بسیار کشنده‌تر از تأثیر سوء آن بر زنبور عسل عمل کند. مرزه خوزستانی از گونه‌های مرزه انحصاری ایران محسوب می‌شود (Mozaffarian, 2003). استفاده از گونه‌های مختلف گیاهی مانند تنباکو و توتون، اکالیپتوس، پیرتر، حنظل، کارلا (خیار تلخه) و مانند آن هم به‌عنوان حشره‌کش و هم به‌عنوان فراری‌دهنده حشرات مانند شته، پشه سالک، ملخ و سایر آفات موجود در مزرعه، گلخانه، باغ و انبار در ایران و سایر کشورها سابقه دیرینه دارد (Davazdahemami, 2004). اکولوژیست‌ها معتقدند متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند اسانس‌ها در گیاهان بیش از آنکه نقش فیزیولوژیکی داشته باشند نقش اکولوژیکی دارند و در رویارویی گیاهان با آفات (قارچ‌ها، جوندگان، حشرات و مانند آن) عامل مهمی هستند. از این ترکیب‌ها به روش‌های مختلف تدخین، بخور، محلول‌پاشی، گردپاشی و تله‌گذاری علیه آفات استفاده می‌شود (Davazdahemami & Majnoonhoseini, 2013).

شناسایی و استفاده از ترکیب‌های گیاهی به‌عنوان سموم دفع آفات به موازات پیشرفت علم شیمی و تجهیزات آزمایشگاهی ممکن شده است و توجه به مسئله حفظ محیط‌زیست و سلامت غذا در سال‌های اخیر باعث پیشرفت شگرف این علم شده است. مواد گیاهی مانند نیکوتین، روتتون، آتروپین و ترکیب‌های گروه پیرترین در دفع آفات مرسوم بوده است. این ترکیب‌ها با فرآوری‌های ساده مانند خیس کردن (مثل آب تنباکو) و یا فرآوری‌های پیشرفته‌تر

- species. *Experimental and Applied Acarology*, 24: 165-189.
- Ariana, A., Ebad, R. and Tahmasbi, G.H., 2002. Laboratory evaluation of some plant essences to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Experimental and Applied Acarology*, 27(4): 319-327.
 - Bowen-Walker, P. and Gunn, A., 2001. The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate and lipid levels. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 101(3): 207-217.
 - Colin, M.E., Ciavarella, F., Otero-Colina, G. and Beizunces, L.P., 1994. A method for characterizing the biological activity of essential oil against *Varroa jacobsoni*: 109-114. In: Matheson, A., (Ed.). *New Perspectives on Varroa*. International Bee Research Association, Cardiff, United Kingdom, 164p.
 - Crawley, M.I., 2013. *The Red Book*. John Wiley and Sons, Chichester (UK), 1051p.
 - Davazdahemami, S., 2004. *Medicinal Plants Utilizations*. Nosoo Press, Iran, 111p.
 - Davazdahemami, S. and Majnoonhoseini, N., 2013. *Cultivation and Production of Certain Herbs and Spices*. University of Tehran Press, Iran, 300p.
 - Davazdahemami, S., Sefidkon, F., Jahansooz, M.R. and Mazaheri, D., 2013. Chemical composition of the essential oils from foliage and seeds of ajowan (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague) in two planting dates (spring and summer). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 14(5): 639-642.
 - Davazdahemami, S., Sefidkon, F. and Rezaei, M., 2014. Chemical composition of the essential oils of five cultivated savory species in Iran: *Satureja bachtiarica*, *S. khuzistanica*, *S. sahandica*, *S. spicigera* and *S. hortensis*. *International Journal of Bioscience*, 5(9): 47-50.
 - Delaplane, K.S., 1995. Effects of terramycin and Apistan acaricide on colonies of honey bees (*Hymenoptera: Apidae*) infested with *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae). *Journal of Economic Entomology*, 88(5): 1206-1210.
 - Ellis, M.D. and Baxendale, F.P., 1997. Toxicity of seven monoterpenoids to tracheal mites (Acari: Tarsonomidae) and their honey bee (*Hymenoptera: Apidae*) hosts when applied as fumigants. *Journal of Economic Entomology*, 90(5): 1087-1091.
 - Elzen, P.J., Eischen, F.A., Baxter, J.B., Pettis, J., Elzen, G.W. and Wilson, W.T., 1998. Fluvalinate resistance in *Varroa jacobsoni* from several geographic locations. *American Bee Journal*, 138(9): 674-676.

محققان دیگری دریافته‌اند که تیمول، منتول و کارواکرول تلفات قابل توجهی بر کنه‌های تراشه زنبور عسل (*Acarapis woodi*) وارد می‌کنند (Ellis & Baxendale, 1997).

بر اساس نتایج این تحقیق، می‌توان با تکمیل تحقیقات، کارایی نسبت‌های مختلف این دو ترکیب را به‌عنوان آفت‌کش بررسی نمود و با اضافه نمودن مواد دیگر اثربخشی آن را به‌عنوان یک آفت‌کش تجاری افزایش داد. اضافه کردن اسید سولفوریک به نیکوتین مایع، LD₅₀ آن را کاهش می‌دهد و برای سم‌پاشی کربنات دوسود و در باغ‌های روغن هم اضافه می‌شود تا سم مؤثر و کاربردی بدست آید. ترکیب‌های گیاه پیرتر *Chrysanthemum cinerariaefolium* L. قدیمی‌ترین و کاربردی‌ترین آفت‌کش‌هاست که با نام امشی ارائه می‌شد و جزو سموم کم‌خطر برای انسان و دام می‌باشد. حلال مناسب ایزومرهای مختلف پیرترین، ترکیب‌های نفتی بوده و در گذشته برای کنترل کک و شپش بکار می‌رفته است (Davazdahemami, 2004). غربالگری گیاهان برای تأمین مواد اولیه مورد نیاز برای تولید آفت‌کش‌های طبیعی با توجه به غنای گونه‌ای ایران، وجود گیاه‌شناسان و متخصصان علم مواد، کمک مؤثری به تولید ثروت از علم می‌کند.

در این تحقیق مشخص شد که برای افزایش میزان کشندگی از ۵۰ به ۹۰، میزان ماده مصرفی تا چندین برابر باید افزایش یابد (جدول‌های ۲ و ۳). گرچه ترکیب‌های بکار رفته طبیعی هستند اما باید به جنبه اقتصادی مصرف این گونه مواد هم توجه نمود.

منابع مورد استفاده

- Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Abd El-wahab, T.E. and Ebada, M.A., 2006. Evaluation of some volatile oils and Marvic against *varroa destructor* in honey bee colonies. *Journal of Applied Sciences Research*, 2(8): 521-514.
- Anderson, D.L. and Trueman, J.W.H., 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari Varroidae) is more than one

- Pavela, R., 2007. Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection. *Pest Technologies*, 1: 47-52.
- Rastegari, S., Alich, M., Samih, M.A., Minaei, K. and Saharkhiz, J., 2016. Toxicity effect of henna, *Lawsonia inermis* L. and madder *Rubia tinctorum* L. extracts on *Rhopalosiphum padi* L. versus pesticidal effect of pirimicarb and imidacloprid. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 38(4): 55-67.
- Ruffinengo, S., Eguaras, M., Floris, I., Faverin, C., Bailac, P. and Ponzi, M., 2005. LC₅₀ and repellent effects of essential oils from Argentinian wild plant species on *Varroa destructor*. *Journal of Economic Entomology*, 98(3): 651-655.
- Safaei, L., Sharifi Ashorabadi, E., Afuni, D., Davazdahemami, S. and Shoaii, A., 2014. The effect of different nutrition systems on aerial parts and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(5): 702-713.
- Spivak, M. and Calderone, N.W., 1995. Plant extracts for control of the parasitic mite *varroa jacobsoni* in colonies of the western honey bee. *Journal of Economic Entomology*, 88(5):1211-1215.
- Wallner, K., 1999. Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie*, 30: 235-248.
- Floris, I., Satta, A., Cabras, P., Garau, V.L. and Angioni, A., 2004. Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor* effectiveness, persistence, and residues. *Journal of Economic Entomology*, 97(2): 187-191.
- Ghasemi, V., 2009. Evaluation of respiratory murderous of four species on *Varroa destructor* and *Apis mellifera*. Thesis of M.Sc. College of Agriculture, Tarbiat Modares University.
- Imdorf, A., Bogdanov, S., Kilchenmann, V. and Maquelin, C., 1995a. Apilife var: a new varroacide with thymol as the main ingredient. *Journal of Bee World*, 76(2): 77-83.
- Imdorf, A., Kilchenmann, V., Bogdanov, S., Bachofen, B. and Beretta, C., 1995b. Toxic effects of thymol, camphor, menthol and eucalyptol on *Varroa jacobsoni* oud and *Apis mellifera* L in a laboratory test. *Apidologie*, 26: 27-31.
- Isman, M.B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8-10): 603-608.
- Mozaffarian, V., 2003. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser Press, 671p.
- Negahban, M., Moharrampour, S. and Sefidkon, F., 2006. Insecticidal activity and chemical composition of *Artemisia sieberi* Besser essential oil from Karaj, Iran. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 9: 61-66.

Effectiveness evaluation of different concentrations of *Satureja khuzistanica* Jamzad and *S. spicigera* (C. koch) Boiss. essential oils on the control of hive tick (*Varroa destructor*)

S. Davazdahemami^{1*}, R. Onikazi² and A.R. Jalalizand³

1*- Corresponding author, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Isfahan, Iran, E-mail: S.12emami@yahoo.com

2- M.Sc. graduation, Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Khorasgan, Isfahan, Iran

3- Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Khorasgan, Isfahan, Iran

Received: January 2019

Revised: May 2019

Accepted: June 2019

Abstract

Varroa destructor (VD) tick is one of the most important pests of honey bee colonies around the world, causing a lot of economic damage to the beekeeping industry in the world by feeding on bee larva and transferring some viruses. The use of chemical pesticides against this tick creates resistant populations and infects hive products. In this study, the level of repellent toxicity of different essential oil (EO) concentrations of *Satureja khuzistanica* Jamzad and *S. spicigera* (C. koch) Boiss., on the mortality of VD tick and honey bee (HB) was evaluated under laboratory conditions. Mature female ticks were treated with different EO concentrations including 0, 50, 75, 100, 150 and 200 ppm (at 32 °C, 50% relative humidity and darkness) for 5 and 10 hours, in four replicates, and after determining the equation of concentration vs. VD mortality, LC50 was calculated for concentrations of 20 to 1000 ppm. According to the results, the amount of LC50 at 5 and 10 hours after EO treatment was respectively determined as: for *S. khuzistanica* EO, 149.8 and 78.6 ppm for VD tick and 750.5 and 435.8 ppm for HB, and for *S. Spicigera* EO, 255.7 and 153.6 ppm for VD tick and 737.6 and 573 ppm for HB, indicating the more sensitivity of ticks in comparison with honey bees to applied EOs. The results showed that the EO of both species, especially *S. khuzistanica*, with the least mortality on HB, has a high potential for controlling VD tick. The main component(s) of essential oils was obtained as carvacrol (93%) in *S. khuzistanica* and carvacrol and thymol (43% and 29%, respectively) in *S. spicigera* based on qualitative analysis.

Keywords: *Varroa destructor*, Iranian honey bee, Savory essential oil, pest controlling.