Archive of SID

تحقیقات تولیدات دامی

سال نهم/شماره چهارم/زمستان ۱۳۹۹ (۱۰-۱)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

اثر عصاره برگ درخت اکالیپتوس، دود تیپ ویرجینیا، بارلی و باسما توتون بر کنه واروا زنبور عسل

مهدی کامیاب[۱]، محمد روستائی علی مهر[۲*]، سید حسین حسینی مقدم[۲]، احد صحراگرد[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۳- استاد، گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

(تاریخ دریافت: ۹۹/۰۷/۰۱ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۲۸)

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر عصاره برگ درخت اکالیپتوس و دود توتون بر کنه واروا با استفاده از ۳۶ کندو در یک دوره ۳۴ روزه انجام شد. در یک گروه آزمایشی، هیچ اقدامی برای مبارزه با کنه واروا انجام نشد (شاهد) و در گروه تیمار (شاهد مثبت)، دو نوار آپیستان در کندو به مدت ۳۴ روز قرار داده شد. در سایر گروه‌های آزمایش، مبارزه با کنه واروا با استفاده از دود توتون بارلی، باسما، ویرجنیا و عصاره برگ اکالیپتوس در پنج روز آغازین (نوبت اول) و چهار روز پایانی (نوبت دوم) انجام شد. در تیمار عصاره اکالیپتوس، روزانه ۱۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره (۰/۱ میلی‌لیتر/میلی‌گرم) بین قاب‌ها اسپری شد. در تیمارهای دود برگ توتون (بارلی، باسما و ویرجنیا)، میزان سه گرم برگ توتون به صورت روزانه از راه دریچه پرواز دود داده شد. ریزش کنه به صورت روزانه، تعداد لاروهای هر قاب در روزهای ۵ و ۳۴ و میزان عسل پس از ۱۵۰ روز اندازه‌گیری شد. اثر مستقل نشان داد ریزش کنه واروا در عصاره برگ درخت اکالیپتوس (۲/۰۱±۱۰/۳)، نوار آپیستان (۲/۰۱±۹/۴۱) و دود توتون ویرجنیا (۲/۰۱±۷/۴۱) بیش‌تر از شاهد (۲/۰۱±۰) بود ($P<0/05$). در نوبت اول درمان، ریزش کنه در تیمار عصاره اکالیپتوس (۲/۸۴±۲۰/۷)، نوار آپیستان (۲/۸۴±۱۸/۸) و دود توتون ویرجنیا (۲/۸۴±۱۴/۸) بیش‌تر از شاهد (۲/۸۴±۰) بود ($P<0/05$). میزان تولید عسل در گروه شاهد (۰/۴۵±۲/۳ کیلوگرم) کمتر از سایر تیمارها بود ($P<0/05$). بنابراین عصاره برگ درخت اکالیپتوس و دود برگ توتون در کنترل آلودگی کنه واروا زنبور عسل موثر است.

واژه‌های کلیدی: اکالیپتوس، توتون، زنبور عسل، کنه واروا

* نویسندهٔ مسئول: roostaei@guilan.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2021.17994.1569

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

امروزه، آثار مثبت حضور و فعالیت زنبور عسل بر اکوسیستم و پایداری عملکرد محصولات کشاورزی به اثبات رسیده است. زنبور عسل علاوه بر تولید موم، بره موم، عسل، ژل رویال، نقش مهمی در گرده‌افشانی گیاهان مرتعی، باروری گیاهان و افزایش تولید علوفه دارد (گرزین و همکاران، ۱۳۹۴). به نظر می‌رسد که نقش زنبور عسل در افزایش محصولات کشاورزی به مراتب بیش‌تر از تولیدات مستقیم آن باشد (Moritz and Erler, 2016).

کنه واروا یک آفت جدی برای زنبورهای عسل بوده و عامل اصلی تلفات کلنی در سراسر جهان محسوب می‌شود (Guzman-Novoa *et al*., 2010). شواهد نشان می‌دهد که میزان آلودگی در ایران زیاد است و سالانه میزان زیادی بودجه صرف خرید دارو برای کنترل این انگل می‌شود. کنه واروا در تمام مراحل زندگی خود از همولنف (خون) لاروها، شفیره‌ها و زنبوران بالغ تغذیه می‌نماید (Bowen-Walker *et al*., 1999). آلودگی کندو به کنه واروا باعث کاهش وزن زنبور، تغییر شکل و یا از بین رفتن اندام‌ها و گاهی هم مرگ نوزادان می‌شود (Boot *et al*., 1992). همچنین، کنه واروا با انتقال عوامل بیماری‌زا خصوصاً ویروس‌ها خسارات سنگینی به کندو وارد می‌کند (Koleoglu *et al*., 2017).

ریزش کنه‌ها از زنبور آلوده و اتصال آن به گیاهان، سبب انتشار انگل در یک ناحیه جغرافیایی می‌شود (Sakofski *et al*., 1990). وجود سایر کلنی‌ها تا فاصله ۱/۵ کیلومتر از زنبورستان، احتمال انتشار و انتقال آلودگی را افزایش خواهد داد (Goodwin *et al*., 2006). عواملی مانند: پرواز نرها، تغییر مکان کلنی و زنبورستان، بچه‌دهی، غارت، ورود زنبوران شهدآور به سایر کلنی‌ها، فرار کلنی‌ها، انتقال انگل به وسیله سایر حشرات مثل زنبوران معمولی سبب تسریع در انتقال این انگل می‌شود (Sakofski *et al*., 1990). بررسی‌ها نشان می‌دهد که جمعیت کنه‌ها در کندوهای آلوده بعد از یک سال تا ۱۰۰۰ برابر افزایش می‌یابد (مصدق و همکاران، ۱۳۶۸).

مرسوم‌ترین راه مبارزه با آلودگی‌های کنه واروا قرار دادن نوارهای حاوی سمِ تیوفلووالینات (آپیستان) یا کومافوس (چک مایت) در کندو است. استفاده از این ترکیبات ضمن آلوده کردن محیط زیست باعث باقی ماندن ناخواسته مواد مضر در کلنی و بخصوص در موم شده و مشکلاتی را نیز در تولیدمثل و سلامتی ملکه زنبور عسل ایجاد می‌کند (Williams *et al*., 2015). بنابراین ارایه روش کنترل کنه واروا با مواد کم خطر ضروری به نظر می‌رسد.

گیاه اکالیپتوس خاص مناطق گرم و مرطوب بوده و حاوی ترکیبات ضد باکتریایی و ویروسی است (Perrucci *et al*., 1994). این گیاه سرشار از مونوترپن‌ها است و ۷۳/۴۹ درصد از اسانس برگ و ۸۹ درصد از اسانس میوه این گیاه به مونوترپن‌ها اختصاص دارد (Sebei *et al*., 2015). شواهدی ارایه شده است که نشان می‌دهد عصاره آبی، متانولی و اتانولی اندام‌های هوایی گیاه اکالیپتوس بر قارچ‌های عامل پوسیدگی ریشه و طوقه گیاهان موثر است (عبدالمالکی و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین، اثر ضد انگلی عصاره اکالیپتوس در کنترل کنه قرمز طیور به اثبات رسیده است (رنجبر بهادری و آذرهوش، ۱۳۹۲). از طرفی، گزارش شده است که ترکیبات آلکالوئیدی موجود در توتون مانند نیکوتین و نیکوتئین سبب مرگ کنه واروا می‌شود (حسین‌زاده فشالمی و همکاران، ۱۳۹۴). بنابراین، هدف این تحقیق بررسی عصاره الکلی برگ اکالیپتوس و دود برگ تیپ‌های مختلف توتون در کنترل کنه واروا است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در فصل بهار با شروع فعالیت زنبور عسل و فصل گل و شهد، در فروردین ماه با استفاده از ۳۶ کندوی زنبور عسل استاندارد لانگستروت (طول ۵۰۶ میلی‌متر × عرض ۴۱۶ میلی‌متر × ارتفاع ۲۴۰ تا ۲۴۳ میلی‌متر با قطر ۲۰ تا ۲۲ میلی‌متر) واجد نه قاب در ایستگاه پرورش ملکه زنبور عسل سازمان جهاد کشاورزی استان گیلان انجام شد. برگ توتون ویرجنیا، بارلی و باسما، به صورت خشک از اداره

www.SID.ir

Archive of SID

Fig. 1. Identification of hives infected with Varroa mite using non-invasive sugar method

شکل ۱- شناسایی کندوهای آلوده به کنه واروا با استفاده از روش غیرتهاجی شکر

دخانیات استان گیلان تهیه و عصاره برگ درخت اکالیپتوس با استفاده از برگ تازه و الکل متانول استخراج شد.

به منظور تهیه عصاره برگ درخت اکالیپتوس، مقدار ۱۰۰ گرم برگ تازه درخت اکالیپتوس خرد شده و با ۵۰۰ میلی-لیتر متانول ۸۰ درصد مخلوط شد. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس ذخیره و مخلوط هر ۱۲ ساعت تکان داده شد. سپس، مخلوط با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. بخش مایع جدا و ذخیره شد. استخراج از بخش جامد با استفاده از ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد مجدداً در دو نوبت تکرار شد. میزان ۲۵۰ میلی‌لیتر از عصاره بدست آمده به کمک دستگاه روتاری در درجه حرارت ۴۰ درجه سلسیوس و با سرعت چرخش ۴، تا زمانی که وزن مایع به کمتر از ۵ گرم رسید (۱۵ دقیقه)، تغلیظ شد. سپس با افزودن آب مقطر، وزن عصاره تغلیظ شده، به ۵ گرم رسانده شد.

قبل از انتخاب کندوها، وضعیت ملکه در آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت و با جابجایی قاب‌های دارای تخم روز، ملکه و شفیره، تلاش شد تا کلنی‌ها یکسان شوند. در ضمن ملکه-های مسن (دارای کرک کم، لاغر، با تحرک کم و با تخم-گذاری نامنظم در شان) با ملکه‌های جوان (دارای کرک زیاد، چاق، با تحرک زیاد و با تخم‌گذاری منظم در شان) جایگزین شدند.

میزان آلودگی کندوها به کنه واروا با آزمایش شکر تعیین شد. به این منظور، ۱۰ گرم پودر شکر داخل ظروف شفاف دهان گشاد یک کیلویی ریخته شد (شکل ۱). سپس به کمک یک برس از هر کندو تعداد ۱۰۰ زنبور عسل به صورت تصادفی از روی شانه به داخل ظرف منتقل شد. ظرف به مدت یک دقیقه تکان داده شد تا ضربات دانه‌های شکر، کنه را از زنبور جدا کند. سپس درب ظرف باز شد و به مدت ۴ تا ۵ دقیقه در محلی بدون حرکت گذاشته شد تا زنبورها پرواز کرده و خارج شوند. محتویات داخل ظرف روی یک کاغذ سفید تخلیه شد و با کمک یک ذره‌بین، تعداد کنه‌ها شمارش شدند. آزمایش شکر برای هر کندو دو بار تکرار شد. بدین وسیله میزان آلودگی کندوها تعیین و به سه درجه آلودگی زیاد (زنبور۱۰۰/ کنه ۲ ± ۸)، متوسط (زنبور۱۰۰/ کنه ۲ ± ۴) و کم (زنبور۱۰۰/ کنه ۲ ± ۲) تقسیم شد.

از آنجایی که میزان آلودگی کنه واروا در کندوها یکسان نبود تقسیم‌بندی آن‌ها برای گروه‌های آزمایش به طور تصادفی انجام شد. بدین ترتیب که برای هر گروه ابتدا به طور تصادفی یک کندو با آلودگی زیاد، بعد یک کندو با آلودگی متوسط و نهایتاً یک کندو با آلودگی کم اختصاص یافت. در نهایت ۳۶ کندو به شش گروه (تیمار) تقسیم شدند.

کنترل کنه واروا به روش‌های مختلف در یک دوره ۳۴ روزه انجام شد. در یک گروه آزمایش، هیچ اقدامی برای مبارزه با کنه واروا انجام نشد (شاهد) و در تیمار دیگر به عنوان شاهد مثبت، تعداد دو نوار آپیستان در هر کندو به مدت ۳۴ روز قرار داده شد. در سایر گروه‌های آزمایش، مبارزه با کنه واروا با استفاده از دود توتون بارلی، باسما و ویرجنیا و عصاره برگ اکالیپتوس در پنج روز آغازین (نوبت اول) و چهار روز پایانی (نوبت دوم) انجام شد. در تیمار عصاره اکالیپتوس، عصرها مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ میلی‌لیتر/میلی‌گرم عصاره برگ درخت اکالیپتوس با استفاده از سرنگ ۲۰ میلی‌لیتری و سر سرنگ با گیج ۲۳ بین قاب‌های کندو اسپری شد. در تیمارهای دود برگ توتون (بارلی، باسما و ویرجنیا)، میزان

www.SID.ir

Archive of SID

سه گرم برگ توتون با استفاده از دستگاه دودی، عصرها از راه دریچه پرواز به مدت ۵ ثانیه دود داده شد.

جهت ثبت ریزش کنه‌ها، کاغذ آغشته به گریس در کف تمام کندوها قرار داده شد. در دوره درمان (پنج روز اول و چهار روز آخر)، کاغذها بعد از ۲۴ ساعت (صبح ها) تعویض شدند. روزانه تعداد کنه‌ها روی کاغذ آغشته به گریس شمارش و ثبت شد. درمان در عصر و ثبت اطلاعات ریزش کنه در صبح روز بعد انجام شد.

بعد از پایان هر نوبت درمان، به وسیله یک قاب که به ۴۰ مربع کوچک تقسیم شده بود، تعداد لارو روی قاب‌های هر کندو شمارش و ثبت شد. بعد از ۱۵۰ روز، میزان عسل هر کندو با استفاده از دستگاه اکستراکتور جدا و وزن شد. کیفیت عسل از نظر رنگ، بو، طعم، شفافیت و میزان رضایت (به صورت امتیاز از ۱ تا ۱۰) به وسیله مصرف‌کنندگان (۳۶ نفر) بررسی شد.

نتایج بدست آمده از ریزش کنه‌ها و تعداد لاروهای زنده در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت داده‌های تکرار شده در زمان با کمک رویه MIXED نرم افزار SAS تجزیه شدند. در این تجزیه، کندوها به عنوان subject در نظر گرفته شدند. نتایج بدست آمده از میزان تولید عسل و رضایت مصرف-کنندگان در قالب طرح کاملاً تصادفی و با رویه GLM تجزیه شد. سطح معنی‌داری نیز پنج درصد در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اثر مستقل زمان (نوبت درمان) و روش کنترل بر ریزش کنه موثر بود (جدول ۱، $P<۰/۰۵$). ریزش کنه در نوبت اول درمان بیش‌تر از نوبت دوم درمان بود ($P<۰/۰۵$). ریزش کنه واروا در عصاره برگ درخت اکالیپتوس، نوار آپیستان و دود توتون ویرجنیا بیش‌تر از شاهد بود ($P<۰/۰۵$). ریزش کنه تفاوتی را بین تیمارهای دود توتون بارلی، باسما و شاهد نشان نداد ($P>۰/۰۵$)

اثر متقابل زمان و استعمال مواد ضد کنه بر ریزش کنه معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). در نوبت اول درمان، ریزش کنه در تیمار عصاره اکالیپتوس و نوار آپیستان و دود توتون ویرجنیا بیش‌تر از شاهد بود (شکل ۲، $P<۰/۰۵$)، ولی ریزش کنه در تیمارهای دود توتون بارلی و باسما و شاهد تفاوتی نداشت ($P>۰/۰۵$). در نوبت دوم درمان، تفاوتی بین تیمارها از نظر میزان ریزش کنه وجود نداشت ($P<۰/۰۵$).

در این مطالعه، ریزش کنه در تیمارهای آپیستان، عصاره برگ درخت اکالیپتوس و دود توتون تیپ ویرجینیا در نوبت اول درمان بیش‌تر از شاهد بود. همچنین، تفاوتی بین تیمارهای آپیستان، عصاره برگ درخت اکالیپتوس و دود توتون تیپ ویرجینیا در نوبت اول درمان از نظر میزان ریزش کنه وجود نداشت. لذا به نظر می‌رسد عصاره اکالیپتوس و دود برگ توتون ویرجینیا همانند روش استعمال سموم شیمیایی (آپیستان) در کنترل آلودگی کنه واروا در زنبور عسل موثر هستند.

جدول ۱- اثر اصلی زمان و استعمال مواد ضد کنه (عصاره اکالیپتوس، دود توتون ویرجنیا، بارلی و باسما، و نوار آپیستان) در دو نوبت درمان (نوبت اول: پنج روز آغازین و نوبت دوم: چهار روز پایانی) با فاصله ۲۵ روز بر ریزش کنه واروا (LSMeans ± SE)

Table 1. Main effect of time and use of anti-mite substances (Eucalyptus extract, Virginia, Barley and Basma tobacco smoke and Apistan strip) in two turns (first: initial five days and second: last four days) with 25 days interval on Varroa mite shedding (LSMeans ± SE)

Variable			Varroa mite shedding
Anti-mite substances	Control		$0^{b} \pm 2.01$
	Eucalyptus extract		$10.3^{a} \pm 2.01$
	Apistan strip		$9.4^{a} \pm 2.01$
	Tobacco smoke	Virginia	$7.4^{a} \pm 2.01$
		Barley	$5.7^{ab} \pm 2.01$
		Basma	$5.5^{ab} \pm 2.01$
Time	First turn		$12.4^{a} \pm 1.16$
	Second turn		$0^{b} \pm 1.16$

[a-b] Different superscripts within the same column denote significant differences ($P<0.05$)

www.SID.ir

Archive of SID

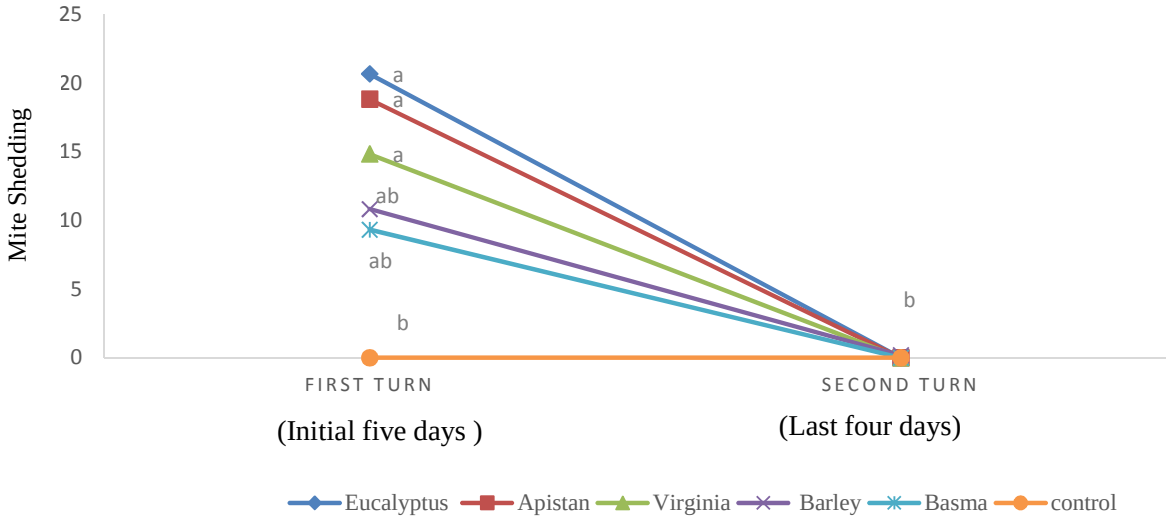

Fig. 2. The intraction effect of time and the use of anti-mite substances (Eucalyptus extract, Virginia, Barley and Basma tobacco smoke and Apistan strip) in two turns (first: initial five days and second: last four days) with 25 days interval on Varroa mite shedding (LSMeans ± SE)

شکل ۲- اثر متقابل زمان و استعمال مواد ضد کنه (عصاره اکالیپتوس، دود توتون ویرجنیا، بارلی، باسما، و نوار آپیستان) در دو نوبت درمان (نوبت اول: پنج روز آغازین و نوبت دوم: چهار روز پایانی) با فاصله ۲۵ روز بر ریزش کنه واروا

گیاهان واجد ترکیبات منوترپنوئیدی مانند کرواکرول، تیمول، فتول و کامنوراکالیپتول هستند (عالی و همکاران، ۱۳۹۶). مشخص شده است که ترکیبات تیمول، منتول و کارواکرول سبب اختلال سیستم عصبی بی مهرگان می‌شوند (Ennan *et al.*, 1993). ترکیبات منوترپنوئیدها بخصوص تیمول و کامفورومنتول اثر کشندگی بر کنه واروا دارند (Imdorf *et al.*, 1955). شواهد نشان می‌دهد که اسپری اسانس جعفری معطر (*Tagetes minuta*)، عشقه (*Heterotheca latifolia*) و اکالیپتوس به میزان ۳ تا ۵ درصد سبب مرگ کنه واروا می‌شوند (Ruffinengo *et al.*, 2007). همچنین اسپری اسانس دو گونه گیاهی شاه‌پسند و درخت فلفل در کندو به میزان ۵۰۰ ppm، بعد از ۴۸ ساعت سبب تلفات زنبور عسل به میزان ۱۰ درصد و مرگ کنه واروا تا ۷۰ درصد می‌شوند (Ruffinengo *et al.*, 2005). اسپری اسانس نارنج با غلظت ۱۰۰ درصد به مدت ۴ هفته، موجب از بین رفتن تمامی کنه‌های واروا موجود در کندوهای آلوده شد (Abd EL, 2006). اثر کنه‌کشی اکالیپتوس ناشی از ترکیباتی مانند سینول (1,8-cineole)، سیترونلال (citronellal)، سیترونول (citronellol)، استات سیترونلیل (acetate citronellyl)، سیمین (*p*-cymene)، اوسمالول (eucamalol)، لینونین (limonene)، اینولول (linalool)، پینین (*α*-pinene)، تری‌پنین (g-terpinene)، تری‌پینول (*α*-terpineol,)، آلوسیمین (alloocimene) و آلومدندرین (aromadendrene) است (Yang *et al.*, 2004). گزارش شده است ۹۷/۵۸ درصد اسانس برگ درخت اکالیپتوس فقط به ۲۰ ترکیب تعلق دارد (Sebei *et al.*, 2015). همچنین، حدود ۹۳/۹۶ درصد اسانس برگ درخت اکالیپتوس از منوترپنوئیدها تشکیل شده است و بیش‌ترین ماده موثره آن با مقدار ۸۳/۵۹ درصد، سینول یا اکالیپتول است (Sebei *et al.*, 2015). سینول علاوه بر اکالیپتوس به مقدار کمتر در اسانس سایر گیاهان مانند نعنایی شیرین بو (*Mesosphaerum suaveolens*) با ۳۵/۸ درصد در اسانس، ریحان میخکی (*Ocimum gratissimum L.*) با ۲۴/۷ درصد در اسانس و زنجبیل (*Alpinia zerumbet*) با ۲۴/۰ درصد در اسانس نیز وجود دارد و اثر کشندگی این اسانس‌ها بر لارو و کنه‌های ماده بالغ *بوفیلوس میکروپلوس* به اثبات رسیده

www.SID.ir

Archive of SID

است (Castro *et al*., 2018). همچنین، استفاده از عصاره اکالیپتوس سبب کاهش محسوس تعداد جرب‌های قرمز در طیور شده است (رنجبر بهادری و همکاران، ۱۳۹۲).

گزارش شده است که اسانس اکالیپتوس در شرایط آزمایشگاهی سبب مرگ کنه‌های آمبلیوما (Amblyomma) و آنوسنتور (Anocentor) می‌شود (Clemente *et al*., 2010). اثر کشندگی اسانس اکالیپتوس بر کنه *ریپیسفالوس انولاتوس* از راه ممانعت از آنزیم استیل کولین و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز به اثبات رسیده است (Arafa *et al*., 2020). به هر حال، استفاده از سموم شیمیایی مانند آپیستان راه‌کار موثری در کنترل آلودگی کنه واروا شناخته شده است، ولی بر اساس بررسی‌های انجام شده در کشور آلمان و بلژیک مشخص شده است که استفاده طولانی‌مدت و بیش از اندازه این مواد سبب انباشت آن‌ها در عسل و موم در ۱۰ تا ۴۰ درصد از کندوها می‌شود (Ravoet *et al*., 2015; Bernal *et al*., 2010). اثبات شده است که سموم شیمیایی علاوه بر آلودگی محیط زیست در مقادیر کم سبب اختلالات گوارشی و جراحات جلدی در انسان می‌شوند (Lodesani *et al*., 1992). بنابراین جایگزینی آپیستان با ترکیبات کم خطر مانند عصاره برگ درخت اکالیپتوس و دود برگ توتون تیپ ویرجیننیا در کنترل کنه واروا بسیار حائز اهمیت است.

شواهد نشان می‌دهد که استفاده از عصاره توتون به صورت تدخینی به مدت پنج روز بدون اثر منفی بر زنبورهای عسل سبب مرگ ۵۰ تا ۷۹ درصد کنه‌ها شده است (de Ruijter and Eijnde, 2015). در تحقیق حاضر، تیمار ویرجینیا در مقایسه با تیمار باسما و بارلی در کنترل واروا موفق‌تر عمل کرده است. در ایران، سه تیپ مختلف از گیاه توتون با نام های بارلی، باسما و ویرجنیا با درصد ترکیبات آلکالوئیدی مختلف در مناطق مختلف اقلیمی کشت می‌شوند. توتون ویرجینیا دارای درصد قند بالا و نیکوتین زیاد در مقایسه با سایر تیپ‌های توتون است (زمانی، ۱۳۸۹). بنابراین، به نظر می‌رسد ترکیبات آلکالوئیدی موجود در توتون مانند نیکوتین و نیکوتئین سبب مرگ کنه واروا می‌شود (حسین زاده و همکاران، ۱۳۹۴).

نتایج نشان داد که اثر زمان و استعمال مواد ضد کنه بر تعداد لارو زنبور عسل معنی‌دار نبود (جداول ۲ و ۳، $P>۰/۰۵$). مطالعات نشان داده است که حشرکش‌ها اثر مخربی بر لارو و ملکه زنبور عسل دارند. متوکسی‌فنوزید از جمله موادی است که در مقادیر کم سبب پوست‌اندازی زود هنگام و مرگ لارو زنبور عسل می‌شود (Carlson *et al*., 2001). همچنین، دی‌فلوبنزون اثر منفی روی بقای ملکه نابالغ زنبور عسل دارد (Johnson and Percel, 2013). به علاوه، استعمال امیتراز، کمافوس و فلوالین سبب کاهش قدرت بقا و مرگ لاروهای زنبور عسل شده است (Johnson *et al*., 2013; Wade *et al*., 2019). سم کمافوس در مقدار درمانی بر ملکه زنبور عسل اثر مخرب داشته و سبب کاهش وزن و قدرت بقای آن می‌شود (Haarmann *et al*., 2002). از طرفی، حشره‌کش‌های ملایم مانند اسید فرمیک و اگزالیک نیز اثر مخرب بر لارو زنبور عسل دارند و سبب مرگ آن‌ها می‌شوند (Gregorc *et al*., 2004). بنابراین یکسان بودن تعداد لاروها در گروه شاهد و تیمارهای آزمایش، نشان‌دهنده فقدان آثار مضر روش استعمال عصاره برگ درخت اکالیپتوس و دود برگ توتون در این تحقیق است.

نتایج بدست آمده از بررسی کیفیت عسل بر خلاف کمیت آن (جدول ۴)، نشان داد که میزان رضایت‌مندی مصرف-کنندگان از عسل تولید شده گروه‌های آزمایشی یکسان بود و مواد معطر موجود در عصاره برگ درخت اکالیپتوس و دود برگ توتون اثر نامطلوبی بر طعم و بوی عسل نداشت ($P>۰/۰۵$). البته میزان تولید عسل تیمار عصاره اکالیپتوس، و دود توتون ویرجنیا، بارلی و باسما و نوار آپیستان نسبت به شاهد بیش‌تر بود ($P<۰/۰۵$). رشد بهره‌وری و بقای یک کلنی زنبور عسل وابسته به عملکرد ده‌ها هزار زنبور کارگر و سلامتی و توانایی ملکه است (Rangel *et al*., 2013). یکی از خسارات کنه واروا تغذیه آن از بافت نرم و همولنف زنبور عسل است (Ramsey *et al*., 2018). آلودگی کندو به کنه واروا با کاهش جمعیت کندو، رفته رفته میزان ذخیره گرده و عسل را کاهش می‌دهد (Rangel *et al*., 2013). بنابراین استعمال عصاره برگ درخت اکالیپتوس و دود توتون در کندوهای آلوده به کنه واروا مانع از کاهش تولید عسل شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- اثر مستقل زمان و استعمال مواد ضد کنه (عصاره اکالیپتوس، دود توتون ویرجنیا، بارلی، باسما، و نوار آپیستان) در دو نوبت درمان (نوبت اول: پنج روز آغازین و نوبت دوم: چهار روز پایانی) با فاصله ۲۵ روز بر لارو زنبور عسل (LSMeans ± SE)

Table 2. Main effect of time and the use of anti-mite substances (Eucalyptus extract, Virginia, Barley and Basma tobacco smoke and Apistan strip) in two turns (first: initial five days and second: last four days) with 25 days interval on bee larva (LSMeans ± SE)

Variable			Numder of bee larva
Anti-mite substances	Control		729.2 ± 56.05
	Eucalyptus extract		704.2 ± 56.05
	Apistan strip		712.5 ± 56.05
	Tobacco smoke	Virginia	691.7 ± 56.05
		Barley	700.0 ± 56.05
		Basma	766.7 ± 56.05
Time	First turn		745.8 ± 32.36
	Second turn		688.9 ± 32.36

جدول ۳- اثر متقابل زمان و استعمال مواد ضد کنه (عصاره اکالیپتوس، دود توتون ویرجنیا، بارلی و باسما، و نوار آپیستان) در دو نوبت درمان (نوبت اول: پنج روز آغازین و نوبت دوم: چهار روز پایانی) با فاصله ۲۵ روز بر لاررو زنبور عسل (LSMeans ± SE)

Table 3. The intraction effect of time and the use of anti-mite substances (Eucalyptus extract, Virginia, Barley and Basma tobacco smoke and Apistan strip) in two turns (first: initial five days and second: last four days) with 25 days interval on bee larva (LSMeans ± SE)

Time	Anti-mite substances		Numder of bee larva
First turn	Control		766.7 ± 79.27
	Eucalyptus extract		766.7 ± 79.27
	Apistan strip		766.7 ± 79.27
	Tobacco smoke	Virginia	700.0 ± 79.27
		Barley	816.7 ± 79.27
		Basma	766.6 ± 79.27
Second turn	Control		691.7 ± 79.27
	Eucalyptus extract		641.7 ± 79.27
	Apistan strip		644.7 ± 79.27
	Tobacco smoke	Virginia	725.0 ± 79.27
		Barley	566.7 ± 79.27
		Basma	766.7 ± 79.27

جدول ۴- اثر استعمال مواد ضد کنه (عصاره اکالیپتوس، دود توتون ویرجنیا، بارلی و باسما، و نوار آپیستان) در دو نوبت درمان (نوبت اول: پنج روز آغازین و نوبت دوم: چهار روز پایانی) با فاصله ۲۵ روز بر کمیت و کیفیت عسل تولید شده (LSMeans ± SE)

Table 4. Effect of the use of anti-mite substances (Eucalyptus extract, Virginia, Barley and Basma tobacco smoke and Apistan strip) in two turns (first: initial five days and second: last four days) with 25 days interval on the quantity and quality of produced honey (LSMeans ± SE)

Treatments		Produced honey (Kg)	Consumer satisfaction (Out of 10 points)
Control		2.30^{b} ± 0.45	6.16 ± 0.35
Eucalyptus extract		5.45^{a} ± 0.45	6.33 ± 0.35
Apistan strip		6.08^{a} ± 0.45	6.16 ± 0.35
Tobacco smoke	Virginia	5.45^{a} ± 0.45	6.33 ± 0.35
	Barley	5.28^{a} ± 0.45	5.83 ± 0.35
	Basma	5.97^{a} ± 0.45	6.33 ± 0.35

[a-b] Different superscripts within the same column denote significant differences (P<0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از عصاره برگ درخت اکالیپتوس و دود برگ توتون در کنترل آلودگی کنه واروا زنبور عسل موثر بود. به نظر می‌رسد عصاره برگ درخت اکالیپتوس و دود برگ توتون در صورتی که به روش ارایه شده در این تحقیق برای کنترل کنه واروا استفاده شوند ضمن اثر مثبت در کنترل آلودگی کنه واروا و کمیت عسل تولید شده، اثری بر سلامتی کلنی و کیفیت عسل ندارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از جناب آقای دکتر نوید قوی حسین‌زاده که در تجزیه اطلاعات، راهنمایی و کمک با ارزشی نمودند، قدردانی می‌شود. همچنین از مسئولین محترم ایستگاه پرورش ملکه زنبور عسل سازمان جهاد کشاورزی استان گیلان به منظور در اختیار قرار دادن کندوها و امکانات تشکر می‌شود.

فهرست منابع

حسین‌زاده فشالمی ن.، زین العابدین شهادتی م.، کیانی غ.، محمدرضا صلواتی م.، زمانی پ.، مهدوی ع.، و علینژاد ر.، ۱۳۹۴. بررسی تنوع ژنتیکی و طبقه بندی ارقام مختلف توتون تیپ شرقی. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، ۷: ۱۲۶-۱۳۴.

رنجبربهادری ش.، و آذرهوش ف.، ۱۳۹۲. مطالعه ترکیبات گیاهی (دارچین، نعناع و اکالیپتوس) موثر در کنترل جرب قرمز طیور (*درمانیسوس گالینه*). تحقیقات دامپزشکی، ۶۸: ۲۰۳-۲۰۸.

عالی ن.، محمودی ر.، کاظمینیا م.، حضرتی ر. و آذرپی ف. ۱۳۹۶. اسانسهای گیاهی به عنوان ترکیبات دارویی طبیعی. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۷۵: ۴۸۰-۴۸۷.

عبدالملکی م.، بهرام نژاد ص.، و عباسی س. ۱۳۹۰. بررسی اثرات ضد قارچی عصاره های برخی گیاهان علیه چهار قارچ بیماری زای گیاهی. گیاهان داوری، ۱۰: ۱۴۸- ۱۵۵.

گرزین ز.، نهضتی غ.، و مروج ح.، ۱۳۹۴. سیستم ایمنی زنبور عسل (*Apis melifera*). علوم و فنون زنبور عسل ایران، ۶: ۲۲-۲۶.

مصدق م. س.، و کمیلی بیرجندی ع. ۱۳۷۰. کنه‌های زیان آور زنبور عسل. مرکز انتشارات و چاپ دانشگاه شهید چمران.

Arafa W. M., Aboelhadid S. M., Moawad A., Shokeir K. M. and Ahmed O. 2020. Toxicity, repellency and anti-cholinesterase activities of thymol-eucalyptus combinations against phenotypically resistant *Rhipicephalus annulatus* ticks. Experimental and Applied Acarology, 81: 265-277.

Boot W. J., Calis J. N. M. and Beetsma J. 1992. Differential periods of varroa mite invasion into worker and drone cells of honeybees. Experimental and Applied Acarology, 16: 295-301.

Bowen-Walker P. L., Martin S. J. and Gunn A. 1999. The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera L.*) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. Journal of Invertebrate Pathology, 73: 101-106.

Carlson G. R., Dhadialla T.S., Hunter R., Jansson R. K., Jany C. S., Lidert Z. and Slawecki R. A. 2001. The chemicaland biological properties of methoxyfenozide, a new insecticidal ecdysteroid agonist. Pest Management Science, 57: 115-119.

Clemente M. A., de Oliveira Monteiro C. M., Scoralik M. G., Gomes F. T., de Azevedo Prata M. C. and Daemon E. 2010. Acaricidal activity of the essential oils from Eucalyptus citriodora and Cymbopogon nar-dus on larvae of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) and Anocentor nitens (Acari: Ixodidae). Parasitology Reseacher, 107: 987-992.

de Ruijter A. and Eijnde J. V. D. 2015. Detection of varroa mites in the Netherlands using tobacco smoke. Bee World, 65: 151-154.

Goodwin R. M., Taylor M. A., McBrydie H. M. and Cox H. M. 2006. Drift of *Varroa destructor* infested worker honeybees to neighbouring colonies. Journal of Apicultural Research, 45: 155-156.

Gregorc A., Poganik A. and Bowen I. D. 2004. Cell death in honeybee (*Apis mellifera*) larvae treated with oxalic or formic acid. Apidologie, 35: 453-460.

www.SID.ir

Archive of SID

Guzman-Novoa E., Eccles L., Calvete Y., McGowan J., Kelly P. G. and Correa-Benitez 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.

Haarmann T., Spivak M., Weaver D., Weaver B. and Glenn T. 2002. Effects of fluvalinate and coumaphos on queen honey bees (Hymenoptera: Apidae) in two commercial queen rearing operations. Journal of Economic Entomology, 95: 28-35.

Imdorf A., Kilchenmann V., Bogdanov S., Bachofen B. and Beretta C. 1995. Toxic effects of thymol, camphor, menthol and eucalyptol on *Varroa jacobsoni* oud and Apis mellifera L in a laboratory test. Apidologie, 26: 27-31.

Johnson R. M., Dahlgren L., Siegfried B. D. and Ellis M. D. 2013. Acaricide, fungicide and drug interactions in honey bees (*Apis mellifera*). PloS One, 8: e54092.

Johnson R. M. and Percel E. G. 2013. Effect of a fungicide and spray adjuvant on queen-rearing success in honey bees (Hymenoptera: Apidae). Journal of Economic Entomology, 106: 1952-1957.

Koleoglu G., Goodwin P. H., Reyes-Quintana M., Hamiduzzaman M. M. and Guzman-Novoa E. 2017. Effect of *Varroa destructor*, wounding and Varroa homogenate on gene expression in brood and adult honey bees. PloS One, 12: e0169669.

Moritz R. F. A. and Erler S. 2016. Lost colonies found in a data mine: Global honey trade but not pests or pesticides as a major cause of regional honeybee colony declines. Agriculture, Ecosystems & Environment, 216: 44-50.

Perrucci S., Marcianti F. and Cionti P. L. 1994. In vitro antifungal activity of essential oils against some isolates of *Microsperum canis* and *M. gypseum*. Planta Medica, 60: 84-87.

Ramsey S. D., Gulbronson C., Mowery J., Ochoa R., van Engelsdorp D. and Bauchan G. R. 2018. A multi-microscopy approach to discover the feeding site and host tissue consumed by *Varroa destructor* on host honey bees. Microscopy and Microanalysis, 24 supplement s1.

Rangel J., Keller J. J. and Tarpy D. R. 2013 The effects of honey bee (*Apis mellifera L.*) queen reproductive potential on colony growth. Insectes Sociaux, 60: 65-67.

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: 651-655.

Ruffinengo S., Maggi M., Faverin C., Rosa S. B., Bailac P., Principal J. and Eguaras M. 2007. Essential oils toxicity related to *Varroa destructor* and Apis mellifera under laboratory conditions. Zootecnia Tropical, 25: 63-69.

Sakofski F., Koeniger N. and Fuchs S. 1990. Seasonality of honey bee colony invasion by *Varroa jacobsoni* Oud. Apidologie, 21: 547-550.

Sebei K., Sakouhi F., Herchi W., Larbi Khouja M. and Boukhchina S. 2015. Chemical composition and antibacterial activities of seven *Eucalyptus* species essential oils leaves. Biological Research, 48: 7.

Wade A., Lin C., Kurkul C., Ravasz Regan E. and Johnson R. M. 2019. Combined toxicity of insecticides and fungicides applied to California almond crchards to honey bee larvae and adults. Insects, 10: 1-11.

Williams G. R., Shafer A. B. A., Rogers R. E. L., Shutler D. and Stewart D. T. 2008. First detection of Nosema ceranae, a microsporidian parasite of European honey bees (*Apis mellifera*), in Canada and central USA. Journal of Invertebrate Pathology, 97: 189-192.

Yang Y. C., Choi H. Y., Choi W. S., Clark J. and Ahn Y. J. 2004. Ovicidal and adulticidal activity of *Eucalyptus globulus* leaf oil terpenoids against Pediculus humanus capitis (Anoplura: Pediculidae). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 2507-2511.

www.SID.ir

Archive of SID

Animal Production Research

Vol. 9, No. 4, 2020 (1-10)

University of Guilan

Research paper

Effect of eucalyptus leaf extract, Virginia, Barley and Basma tobacco smoke on Varroa mite of honey bee

M. Kamiab[1], M. Roostaei-Ali Mehr[2*], S. H. Hosseini Moghadam[2], A. Sahragard[3]

1. Graduated MSc. in Animal Physiology, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
3. Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: 22-09-2020 – Accepted: 17-01-2021)

Abstract

The present study was performed to investigate the effect of eucalyptus leaf extract and tobacco smoke on Varroa mite using 36 hives for 34 days. In one experimental group, no action was taken to control Varroa mite (control), and the other one (positive control) Apistan Strip was placed in a hive for 34 days. In the other experimental groups, Varroa mite was controlled using Barley, Basma, Virginia leaf tobacco smoke, and Eucalyptus leaf extract in the first five days (first time) and the last four days (second time) during the control period. In the eucalyptus extract treatment, 15 mL of the extract solution (0.1 mL/mg) was sprayed between frames daily. In tobacco leaf smoke treatments (Barley, Basma, and Virginia), the amount of 3 g of tobacco leaf was smoked. Tick shedding (daily), the number of larvae in each frame (on days 5 and 34), and the amount of honey (after 150 days) were measured. The main effect showed that mite shedding was higher in eucalyptus leaf extract (10.3±2.01), Apistan (9.41±2.01), and Virginia tobacco smoke (7.41±2.01) than the control (0±2.01, $P<0.05$). In the first time of treatment, mites shedding was higher in eucalyptus extract treatment (20.7±2.84) and Apistan (18.8±2.84) and Virginia tobacco smoke (14.8±2.84) than the control (0±2.84, $P<0.05$). The amount of honey production in the control (2.3±0.45 kg) was lower than other treatments ($P<0.05$). Therefore, eucalyptus leaf extract and tobacco leaf smoke are effective in controlling bee Varroa mite infestation.

Keywords: Eucalyptus, Tobacco, Bee, Varroa mite

*Corresponding author: roostaei@guilan.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2021.17994.1569

www.SID.ir