



# مطالعه اثر اسید فرمیک بر کنه واروآ *Varroa destructor* A.&T. درون سلولهای مرحله شفیرگی زنبور عسل

- رسول بحرینی، عضو هیأت علمی بخش زنبور عسل و کرم ابریشم موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج
- غلامحسین طهماسبی، عضو هیأت علمی بخش زنبور عسل و کرم ابریشم موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج
- جاماسب نوذری، عضو هیأت علمی گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج
- مصطفی طالبی، عضو هیأت علمی بخش زنبور عسل و کرم ابریشم موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج

تاریخ دریافت: شهریورماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: مهرماه ۱۳۸۲

## چکیده

مرحله زاد و ولد کنه واروآ درون حجرات شفیرگی زنبوران عسل طی می شود که در این مرحله کنه ها با تغذیه از همولنف شفیره زبان جبران ناپذیری را به زنبور وارد می سازند. هم اکنون در دنیا مواد شیمیائی مختلفی همانند اسید فرمیک جهت کنترل این اکتو پارازیت به کار می رود. در این مطالعه تاثیر بخار حاصل از اسید فرمیک ۶۵٪ بر روی کنه های درون حجرات شفیرگی زنبور عسل بررسی گردید. بدین منظور قطعاتی از شان مومی حاوی سلولهای شفیرگی در بسته سلولی از کلنی های آلوده به کنه واروآ انتخاب گردید. این شانها به دو گروه تیمار و یک گروه شاهد تقسیم و در انکوباتور (۳۲ درجه سانتیگراد و ۵۰ درصد رطوبت نسبی) نگهداری شدند. تیمار اول ۲۴ ساعت و تیمار دوم و شاهد به مدت ۹۶ ساعت جداگانه در معرض بخار اسید فرمیک ۶۵٪ قرار گرفتند. نهایتاً تعداد حجرات شفیرگی در بسته، تعداد کنه زنده و یا مرده هر سلول و تعداد حجرات آلوده، بدون کنه، با کنه زنده و یا با کنه مرده شمارش شد. میانگین درصد تعداد سلول های با کنه تلف شده در تیمار اول، دوم و شاهد به ترتیب ۱۵/۸۳، ۵۶/۳۲ و ۷/۳۶ درصد بود. محاسبات آماری نشان داد که بین تیمار دوم و شاهد در سطح ۵٪ اختلاف معنی دار می باشد ولی بین دو تیمار اول و دوم، و بین تیمارهای اول و شاهد اختلاف معنی دار نبود. همچنین مشاهدات نشان داد که بخار اسید فرمیک میتواند در مدت ۹۶ ساعت ۸۹ درصد از کنه های مادر و بازماندگان را در حجرات شفیرگی از میان ببرد. کلمات کلیدی: زنبور عسل، حجرات در بسته، کنه واروآ، اسید فرمیک

Pajouhesh & Sazandegi No 60 pp: 12-16

**The survey of formic acid effects on varroa mite *Varroa destructor* A.&T. in sealed brood cells of honey bee**

By: R. Bahreini, Gh. Tahmasebi, and Talebi, M. members of Scientific Board of Research Institute of Animal Sciences, Iran.

Nowzari J. member of Scientific Board of Agriculture College of Tehran University, Iran.

The ectoparasite varroa reproduction is only in the honey bee capped brood cells. Chemicals materials had been used to control parasitic bee mites, such as formic acid. In this survey, influence of formic acid 65% on varroa mites mortality

in sealed broods of honey bee considered in incubator. The combs (sealed broods) selected from infested colonies, and divided to three groups: 1- treated with acid at 24 h, 2- treated with acid at 96 h, and 3- control at 96 h. The combs incubated in 32 °C and 50 Rh%. Then, sealed broods with and without mites, alive and dead mites counted.

The data were analysed ( $p < 0.05$ ) and it was shown that mean of number of cells with dead mites for treatments were 15.83, 56.32 and 7.36%, respectively. The second and the third treatments had significant difference. But did not have significant difference between the first and the second, and between the first and control. Results showed that formic acid as during applied effectively 89% kills mother and nymphs of mites in sealed brood cells, during 96 h.

**Key words:** Honey bee, Sealed brood, Varroa mite, Formic acid

## مقدمه

کنه واروا<sup>۱</sup> یکی از آفات و انگلهای مهم زنبورعسل معمولی<sup>۲</sup> می باشد. کنه های ماده از همولنف زنبوران بالغ و نابالغ تغذیه کرده، اما مرحله تکثیر و تولید مثلی آن تنها در سلولهای شفیرگی در بسته زنبور عسل صورت می پذیرد. کنه ماده بارور (کنه مادر) قبل از بسته شدن در سلولی وارد حجرات شده و سپس در طی مدت دوره شفیرگی زنبورعسل تولید مثل کرده، در نهایت کنه مادر به همراه بازماندگان خود در هنگام تولد زنبوران بالغ سلول را ترک می نمایند. بنابراین حساس ترین و بحرانی ترین مرحله در سیکل زندگی کنه، زمان تکثیر و تولید مثل آن بوده و مرحله ای مناسب برای کنترل جمعیت این انگل است (۴، ۱۷، ۱۸، ۲۵، ۲۶، ۳۴).

از گذشته تا کنون داروهای مختلف کنه کش از جمله فولبکس - و<sup>۳</sup> (بوموپروپیلات)<sup>۴</sup>، پریزین<sup>۵</sup> (کومافوس)<sup>۶</sup>، آپیستان<sup>۷</sup> (تئو-فلووالینات)<sup>۸</sup>، بای وارول<sup>۹</sup> (فلومترین)<sup>۱۰</sup> و... برای مبارزه با کنه واروا توسط زنبورداران مصرف می شده است. اما متأسفانه کاربرد غیر اصولی این داروها علاوه بر عدم کنترل موثر کنه، باعث بروز مقاومت در جمعیت کنه ها، گذاشتن اثر باقیمانده در فرآورده های زنبورعسل و همچنین بالا رفتن هزینه های تولید شده است. به طوری که اخیراً بروز مقاومت کنه واروا به تئو-فلووالینات از ایالات متحده، ایتالیا و فلسطین اشغالی، و نیز مقاومت به کومافوس از ایتالیا و به آمیتراز از ایالات متحده گزارش شده است (۲، ۳، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۲۴، ۲۸، ۲۹، ۳۳).

در سالهای اخیر برای کاهش اثرات سوء استفاده از مواد شیمیایی از روشهای دیگر کنترل همانند روش های بیولوژیکی، ژنتیکی و یا مواد کم خطر استفاده می شود. در میان مواد کم خطر می توان به اسید فرمیک اشاره کرد. مصرف اسیدفرمیک برای کنترل کنه های واروا<sup>۱۱</sup>، کلارآ<sup>۱۲</sup> و تراشه ای<sup>۱۳</sup> در کلنیهای زنبورعسل پس از ظهور کنه واروا در اروپای غربی سالهاست که مورد توجه بوده و در طیف گسترده ای در زنبورداریها استفاده می گردد. از معایب بزرگ اسیدفرمیک آسیب رساندن به زنبوران تازه متولد شده است (۲۲). اثرات تاخیری اسید فرمیک روی مرگ و میر کنه ها در هنگام درمان کلنی های دارای مرحله شفیرگی در بسته با اسیدفرمیک توسط Leibig مورد توجه قرار گرفت. او نتیجه گرفت که درمان با اسیدفرمیک سبب تلفات کنه در سلولهای در بسته نوزادی می شود (۲۳).

Kinmich در آزمایشگاه اثبات نمود که تلفات کنه در حجرات در بسته تا اندازه ای به غلظت اسیدفرمیک مصرفی بستگی دارد. کارائی اسیدفرمیک در حجرات شفیرگی در کندو، تا اندازه ای با فاصله

فیما بین منبع انتشار اسید تا حجرات سلولهای نوزادی در بسته تناسب دارد (۲۰). برخی محققین معتقدند که زمان استفاده از اسید فرمیک بر تلفات کنه واروا در سلولهای در بسته از اهمیت کمتری برخوردار است (۲۱)، اما اکثر مطالعات اثبات نموده اند که اثرات کنه کشی اسیدفرمیک بر کنه های درون حجرات و چسبیده به بدن زنبوران بالغ قابل توجه است (۱۲، ۱۴، ۲۷، ۳۱).

درمان آلودگی به کنه با اسیدفرمیک میتواند ملکه کشتی و زیان وارده به زنبوران تازه متولد شده و لاروهای مسن را افزایش دهد. اختلافات موجود در راندمان کنه کشی اسیدفرمیک ممکن است تحت اثر عوامل خارجی مثل درجه حرارت و رطوبت نسبی محیط و یا عوامل داخل همانند جمعیت زنبوران کارگر و میزان آلودگی به کنه باشد (۵، ۱۴). Hoppe و همکاران با یکبار درمان کلنی های آلوده به کنه کلارآ توسط ۲۰ میلی لیتر اسید فرمیک ۶۵٪ به طور متوسط تلفات در لارو، پروتومف<sup>۱۴</sup>، دنوتونمف<sup>۱۵</sup> و بالغین کنه در حجرات در بسته به ترتیب ۱۰۰، ۹۹/۳، ۸۸ و ۹۵ درصد تعیین کردند. در حالیکه تلفات این مراحل در گروه شاهد به ترتیب ۹، ۱۶، ۲۵ و ۲۲ درصد بود. همچنین میزان تلفات کنه کلارآ در حجرات در تمامی نقاط کندو برابر نبوده، به طوری که در نزدیکی منبع انتشار اسید مرگ و میر تا ۱۰۰ درصد نیز دیده شده است، این نشان دهنده توزیع نامنظم اسید در فضای کندوست (۱۶). ظاهراً کنه کلارآ نسبت به کنه واروا به اسید فرمیک حساستر است (۳۰).

بر اساس نتایج یک مطالعه انجام یافته کنترل جمعیت کنه توسط روش به دام انداختن<sup>۱۱</sup> کنه ها در سلولهای نوزادی و درمان با اسید فرمیک به مدت ۱/۵ ساعت در خارج از کلنی، ۹۷ و ۸۵ درصد تلفات به ترتیب در کنه های حجرات نر و کارگر مشاهده گردید (۶).

Fries نشان داد که درمان حجرات در بسته نوزادی با اسید فرمیک موثر بوده در حالیکه بیش از ۹۰ درصد از نوزادان زنده می مانند. البته کنه های بدام افتاده در سلولهای در بسته را می توان با گرمای زیاد نیز از بین برد (۱۱، ۱۳).

Calderon و همکاران با استفاده از اسید فرمیک ۸۵٪ در کندو تلفاتی در کنه های موجود در حجرات در بسته مشاهده نمودند. آنان ۵۵/۶ و ۹/۳۷ و ۱/۰۵ درصد تلفات را برای تیمارهای ۱۰ و ۱۵ میلی لیتر اسید و گروه شاهد برآورد نمودند. ایشان همچنین معتقدند که استفاده از اسید در مناطق گرمسیری محدودیت داشته ولی با افزایش دوز اسید مصرفی راندمان آن نیز بالا رفته اما اثرات منفی آن بر زنبوران بالغ و نوزادان نیز افزایش می یابد (۵). با توجه به اثرات مثبت اسیدفرمیک در کنترل

انگل ها به ویژه تاثیر بر مراحل رشدی کنه واروآ در درون حجرات در بسته شفیگی زنبور عسل، آرزان قیمت و سهل الوصول بودن و همچنین وجود طبیعی آن در عسل، در این تحقیق تلاش گردید تا اثرات اسید را بر مرگ و میر کنه واروآ در سلولهای در بسته شفیگی در آزمایشگاه تحت بررسی قرار گیرد.



### مواد و روشها

در این طرح اثرات کنه کشی اسید فرمیک بر کنه های درون سلولهای در بسته زنبور عسل در آزمایشگاه بررسی گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در موسسه تحقیقات علوم دامی انجام پذیرفت. بدین منظور از بین چند کلنی آلوده به کنه واروآ و دارای قاب شفیره کافی، قطعاتی از شان مومی حاوی سلولهای در بسته شفیگی از کلنی های آلوده به کنه واروآ انتخاب و جدا شد. این قطعات (۵ × ۵ سانتی متر) که به طور متوسط هر یک دارای ۲۰۰ عدد شفیره در بسته و حجره خالی بودند به دو گروه تیمار و یک گروه شاهد تقسیم بندی شدند. در آزمایشگاه شان ها در انکوباتور با دمای ۳۲ درجه سانتیگراد و ۵۰ درصد رطوبت نسبی قرار گرفتند. تیمار اول ۲۴ ساعت و تیمار دوم به مدت ۹۶ ساعت به ترتیب در معرض ۳۰ و ۱۲۰ میلی متر اسید فرمیک ۶۵٪ و شانهای گروه شاهد نیز به مدت ۹۶ ساعت در انکوباتور فاقد هرگونه ماده شیمیائی قرار داده شدند. مقادیر مورد نظر اسید در پتری دیش ریخته شد و جهت تبخیر مناسب تر اسید یک تکه پارچه نظیف درون هر پتری دیش قرار گرفت. در نهایت پس از اتمام آزمایشات تعداد حجرات شفیگی در بسته، تعداد حجرات آلوده و یا بدون کنه، تعداد کنه بالغ و نابالغ زنده و یا مرده شمارش و ثبت گردید.

در هنگام شمارش، سلولهای در بسته کارگری (با سن حدود ۱۸ روزگی) را باز نموده و در زیر بینو کولر با بزرگنمایی ۴۰ - ۲۰ برابر شفیره و کنه ها بیرون کشیده شدند. کنه ها بر اساس متحرک بودن و تحرک کلیسرها<sup>۱۱</sup> و پاها و یا عدم بروز این رفتارها به دو گروه زنده و مرده تقسیم بندی می شدند. جهت اجتناب از تاثیر متقابل تیمارها بر یکدیگر قطعات شان مومی مربوط به هر تیمار در زمانهای متفاوت و جداگانه در انکوباتور قرار داده می شدند. پس از جمع آوری اطلاعات و ثبت داده ها مقایسه میانگین ها با استفاده از روش دانکن و نرم افزار SAS انجام گردید.

### نتایج و بحث

اسید فرمیک یکی از اسیدهای طبیعی در عسل بوده به طوریکه در عسل شاه بلوط ۶۰۰ ppm و در عسل حاصل از عسلک ۱۰۰۰ ppm اسید فرمیک وجود دارد. سطوح طبیعی اسید فرمیک در عسل به گیاه و منبع شهدی آن بستگی دارد. میزان باقیمانده اسید فرمیک در عسل نیز به میزان و مدت زمان مصرف اسید در کلنی وابسته است. اما با این حال اسید فرمیک بسیار فرار بوده و در نتیجه به مرور زمان مقدار آن در عسل سریعاً کاهش می یابد (۱۵، ۳۵).

فرمولاسیونهای متنوعی از اسید فرمیک امروزه در بسیاری از کشورهای آمریکائی، اروپائی، آسیائی و آفریقائی برای کنترل

کنه های انگل استفاده می شود. از این فرمولاسیونها می توان به ژل اسید فرمیک، Kramer Plates و Illertseen Mite Plates (IMP) اشاره نمود (۱۲، ۱۹، ۳۲). در این مطالعه تاثیر بخار اسید فرمیک ۶۵٪ در دوزهای متفاوت ۳۰ و ۱۲۰ میلی لیتر به مدت ۲۴ و ۹۶ ساعت و گروه شاهد در آزمایشگاه با یکدیگر مقایسه گردیدند. نتایج حاصل در جدول ۱ نشان می دهد که میانگین درصد سلولها با کنه تلف شده در تیمارهای اول، دوم و شاهد به ترتیب ۱۵/۸۳، ۵۶/۳۲ و ۷/۳۶ درصد می باشد. مقایسه میانگین تیمارها با یکدیگر در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار داشته به طوریکه بین تیمار دوم و شاهد اختلاف معنی دار مشاهده شده، اما دو تیمار اول و تیمارهای اول و شاهد فاقد اختلاف معنی دار هستند ( $p < 0/05$ ).

بیشترین درصد تلفات کنه در تکرارهای ۱ و ۲ تیمار دوم به ترتیب با ۸۹ و ۸۷ درصد دیده شده که نشان دهنده مرگ و میر شدید در جمعیت کنه ها در اثر استفاده از ۱۲۰ میلی لیتر اسید فرمیک ۶۵٪ به مدت ۹۶ ساعت می باشد. همچنین بیشترین درصد سلول با کنه تلف شده هنگامی که ۲۴ و ۹۶ ساعت در معرض اسید فرمیک قرار می گرفتند به ترتیب ۲۱/۴۳ و ۹۰ درصد بود. اسید فرمیک یکی از کنه کش هائی است که به دلیل مزایائی همچون بهای ارزان، تاثیر مطلوب بر کنه تراشه ای و حداقل اثر باقیمانده در عسل در دنیا مصرف می گردد. علاوه بر این اسید فرمیک قادر است از در مومی سلول ها عبور کرده و کنه های بالغ و نابالغ واروآ را در درون سلولها از میان برده، که این خود یک از مزایای استفاده از اسید فرمیک در کنترل انگلهاست.

نتایج تحقیقات Fries نشان داد که درصد مرگ و میر کنه حجرات در بسته که در معرض اسید فرمیک ۸۵٪ قرار گرفته بودند برای تیمارهای A (۵۰ میلی لیتر اسید به مدت یک ساعت)، B (۵۰ میلی لیتر اسید به مدت دو ساعت) C (۱۰۰ میلی لیتر اسید به مدت یک ساعت) و D (بدون اسید به مدت دو ساعت) به ترتیب ۹۹، ۱۰۰، ۱۰۰ و ۴ درصد می باشد. در تیمار A بازماندگان کنه نسبت به اسید مقاومتی بوده در حالیکه در تیمارهای B و C تمامی بازماندگان کشته شده بودند. بررسی میزان زنده مانده<sup>۱۳</sup> شفیره های زنبور نیز نشان داد که زنبوران در سن ۹ - ۸ روزگی پس از تخمگذاری (زمان تبدیل مرحله لاروی به مرحله شفیگی) بیشترین حساسیت را به اسید فرمیک دارند. علاوه بر این بایست به دوز مصرفی اسید توجه نمود (۱۳).

در آزمایشات ما نزدیک به ۹۰ درصد مرگ و میر در پی مصرف اسید فرمیک ۶۵٪ حاصل شد اما در بررسی های Fries ۱۰۰ درصد تلفات در جمعیت کنه در حجرات در بسته با استفاده از اسید فرمیک ۸۵٪ مشاهده شد. لذا دوز اسید و مدت زمان در معرض بودن، از عوامل اصلی تلفات کنه در سلول های در بسته می باشند. بر اساس نتایج بحرینی و همکاران مصرف ۱۲۰ میلی لیتر اسید فرمیک ۶۵٪ در یک دوره ۱۶ روزه یا به عبارت دیگر ۷/۵ میلی لیتر اسید در هر روز بهترین راندمان کنه کشی (۹۵ درصد) بدست می آید. این بررسی آزمایشگاهی موید این مطلب است که در صورت استفاده از اسید فرمیک ضمن ازمیان رفتن کنه های واروآ مستقر بر سطح بدن میزبان، کنه های وجود در حجرات شفیگی نیز منهدم خواهند شد (۱).

مطالعات نشان می دهد که در صورت مصرف اسید در فصل تخم ریزی و

جدول ۱ - مقایسه تاثیر اسید فرمیک ۶۵٪ بر کنه های واروا درون حجرات شفیرگی زنبورعسل

تیمار	تکرار	تعداد سلول					تعداد کنه در کل سلولها			درصد کل تلفات کنه	درصد سلول با کنه تلف شده	میانگین تیمار
		بررسی شده	آلوده	بدون کنه	باکنه زنده	باکنه مرده	کل	زنده	مرده			
A	۱	۸۴	۱۴	۷۰	۱۱	۳	۳۷	۱۶	۳۰	۲۱/۴۳		
	۲	۱۰۰	۱۹	۸۱	۱۵	۴	۷۹	۱۱	۱۲	۲۱/۰۵		
	۳	۱۸۴	۲۰	۱۶۴	۱۹	۱	۱۰۲	۳	۳	۵/۰۰	۱۵/۸۳ab	
B	۱	۸۰	۱۰	۷۰	۱	۹	۶	۴۸	۸۹	۹۰/۰۰		
	۲	۱۸۴	۲۱	۱۶۳	۳	۱۸	۱۵	۹۹	۸۷	۸۵/۷۱		
	۳	۱۱۵	۷	۱۰۸	۶	۱	۳۰	۷	۱۹	۱۴/۲۹		
	۴	۶۵	۱۷	۴۸	۱۱	۶	۴۹	۲۲	۳۱	۳۵/۲۹	۵۶/۳۲a	
C	۱	۳۰	۶	۲۴	۵	۱	۲۳	۴	۱۵	۱۶/۶۷		
	۲	۵۰	۳۰	۲۰	۳۰	۰	۱۲۵	۰	۰	۰/۰۰		
	۳	۱۰۹	۴۷	۶۲	۴۱	۶	۱۶۳	۳۵	۱۸	۱۲/۷۷		
	۴	۱۳۵	۳۹	۹۶	۳۹	۰	۱۵۵	۰	۰	۰/۰۰	۷/۳۶b	

A: تیمار حجرات درب بسته با ۳۰ میلی لیتر اسید فرمیک ۶۵٪ به مدت ۲۴ ساعت

B: تیمار حجرات درب بسته با ۱۲۰ میلی لیتر اسید فرمیک ۶۵٪ به مدت ۹۶ ساعت

C: گروه شاهد به مدت ۹۶ ساعت

- میانگین ها با حرف مشابه فاقد اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد هستند.

11 - Trap - Combs Method

12 - Chelicerae

13 - Brood Survival

### منابع مورد استفاده

۱- بحرینی، رسول، غلامحسین طهماسبی، جاماسب نوذری، ۱۳۷۹. مقایسه کارایی فلووالینات و اسید فرمیک ۶۵٪ در کنترل کنه واروا. خلاصه مقالات چهارمین سمینار پژوهشی زنبورعسل کشور، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج، ۵۷-۵۶.

2 - Baxter, J., F. Eischen, J. Pettis, W. T. Wilson and H. Shimanuki . 1998 . Detection of fluvalinate - resistant varroa mites in U.S honey bees . Am. Bee J, 138 ( 4 ) : 291 - 301 .

3 - Bell, JR., D. A., S. Gloor and S. M. Camazine . 1999 . Biochemical mechanisms of fluvalinate resistance in *Varroa jacobsoni* mites . Am. Bee J. 139 ( 4 ) : 308 - 309.

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

5 - Calderon , R. A. , R. A. , Ortiz , H. G. , Arce , J. W. , Van Veen , J. , Quan . 2000 . Effectiveness of formic acid on varroa mortality in capped brood cells of africanized honey bees . J. Apicul. Res. , 39 ( 3 - 4 ) : 177 - 179 .

6 - Calis , J. N. M. , W. J. , Boot , J. , Beetsma , J. H. P. M. , Van Den Eijnde , A. D. , Ruijter , J. J. M. , Van Der Steen . 1998 . Control

وجود شفیره در کلنی، با رعایت محدودیت دمائی، امکان انهدام جمعیت در حال رشد و تکثیر کنه واروا و کنه کلارآ در درون حجرات درب بسته وجود خواهد داشت. این موضوع را میتوان نکته مثبتی برای اسیدفرمیک تلقی نمود، زیرا در صورت استفاده از سایر مواد کنه کش در فصل بهار و تابستان احتمال آلوده شدن عسل تولیدی، ملکه کشی و حتی کاهش تخمیزی وجود دارد.

### پاورقی ها

1 - *Varroa destructor* Anderson & Trueman

2 - *Apis mellifera* L.

3 - Folbex - Va ® ( Bromopropilate )

4 - Perizin ® ( Cuomaphos )

5 - Apistan ® ( Tau - Fluvalinate )

6 - Bayvarol ® ( Flumethrin )

7 - *Tropilaelaps clareae* D. - B. & B.

8 - *Acarapis woodi* ( R. )

9 - Protonymph

10 - Deutonymph

- of varroa by combining trapping in honey bee worker brood with formic acid treatment of the capped brood outside the colony : Putting knowledge on brood cell invasion into practice . J. Apicul. Res. , 37 ( 3 ) : 205 - 215 .
- 7 - Eischen , F. 1995a . Varroa resistance to fluvalinate . Am. Bee J. , 135 ( 12 ) : 815 - 816 .
- 8 - Eischen , F. 1998b . Varroa 's response to fluvalinate in the western U.S . Am. Bee J. , 138 ( 6 ) : 439 - 440 .
- 9 - Elzen , P. S. , F. A. Eischen , J. B. Baxter , J. Pettis , G. W. Elzen and W. T. Wilson . 1998 . Fluvalinate resistance in *Varroa jacobsoni* from several geographic locations , Am. Bee J. , 138 ( 9 ) : 674 - 676 .
- 10 - Elzen , P. S. , J. B. Baxter and W. T. Wilson . 1999 . Suspected resistance to amitraz in *Varroa jacobsoni* . Am. Bee J. , 139 ( 4 ) : 310 - 311 .
- 11- Engels , W. 1994 . Varroa control by hyperthermia . In : Matheson , A. (ed.) , New perspectives on varroa . IBRA ; Cardiff . UK , 115 - 119 .
- 12- Feldlaufer , M. F. J. S. , Pettis , J. P. , Kochansky , H. , Shimanuki . 1997 . A gel formulation of formic acid for the control of parasitic mites of honey bees . American Bee J. , 137 : 661 - 663 .
- 13- Fries , I. 1991 . Formic acid treatment and biotechnical method for control of varroa mites in honey bee colonies , Report Dept. Animal Nutrition and Management , Swedish Univ. of Agricultural Science , NO 204 , 42 pp .
- 14 - Fries , I. , H. , Hansen . 1993 . Biotechnical control of varroa mites in cold climates . American Bee J. , 133 : 435 - 438 .
- 15 - Hansen , H. and M. Guldborg . 1988 . Residues in honey and wax after treatment to bee colonies with formic acid . Tidskrift fur planteavl 92 : 7 - 10 .
- 16 - Hoppe , H. , W. , Ritter , E.W.C Stephan . 1989 . The control of parasitic bee mites : *Varroa jacobsoni* , *Acarapis woodi* and *Tropilaelaps clareae* with formic acid . American Bee J. , 129 ( 11 ) : 739 - 742 .
- 17 - Ifantidis , M. D. 1983 . Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker and drone honey bee brood cells . J. Apicul. Res. , 22 ( 3 ) : 200 - 206 .
- 18 - Ifantidis , M. D. 1988 . Some aspects of process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells . Apidologie , 19 ( 4 ) : 387 - 396 .
- 19 - Imdorf , A. , J. D. Charrere , C. Maquelin , U. Kilchenmann and B. Bachofen . 1996 . Alternative varroa control . Am. Bee J. , 136 ( 3 ) : 198 - 193 .
- 20 - Kimmich , K. H. 1987 . Die varroazide wirkung der ameisensaure in die verdeckelte bienen-brut . Diplomarbeit , Univ. Hohenheim , Germany .
- 21 - Koniger , N. , S. Fuchs . 1989 . Eleven years with Varroa - experiences , retrospects and prospects . Bee Wld. , 70 : 148 - 159 .
- 22 - Liebig , G. 1984 . Varroa-Leitfaden . Landesverb , Wurtemberg . Imker , Stuttgart .
- 23 - Liebig , G. 1985 . Uber spatwirkungen der ameisensaure - behandlung . Rerport , Arbeitsgemeinschaft der deutschen bieneninstitut , Bonn , Apidologie , 16 : 191 .
- 24 - Lodesani , M. , M. Colombo and M. Spreafico . 1995 . Ineffectiveness of Apistan treatment against the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in several districts of Lombardy ( Italy ) . Apidologie , 26 : 67 - 72 .
- 25 - Martin , S. J. 1994 . Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in worker brood of the honey bee *Apis mellifera* L. under natural conditions . Experimental Applied Acarology , 18 ( 2 ) : 87 - 100 .
- 26 - Martin , S. J. 1995 . Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in drone brood of the honey bee *Apis mellifera* L. under natural conditions . Experimental Applied Acarology , 19 ( 2 ) : 199 - 210 .
- 27 - Medication registered in western Europe for varroosis control . Apidologie , 19 : 113 - 116 .
- 28 - Milani , N. 1995 . The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to pyrethroids : a laboratory assay . Apidologie , 26 : 415 - 429 .
- 29 - Pettis , J. S. , H. Shimanuki and M. F. Feldlaufer . 1998 . An assay to detect fluvalinate resistance in varroa mites . Am. Bee J. , 138 ( 7 ) : 538 - 541 .
- 30 - Ritter , W. , U. , Schneider-Ritter . 1988 . Differences in biology and means of controlling *Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae* , two novel parasitic mites of *Apis mellifera* . Africanized honey bees and bee mites , Edit. : Needham etal. , John Wiley & Sons , New York , 387 - 395 .
- 31 - Ritter , W. 1993 . Chemicals control ; options and problems . In : Matheson , A. , (ed) Living with varroa . International Bee Research Association , Cardiff . UK . 17 - 24 .
- 32 - Sharma , O. P. , R. Garg and G. S. Dogar . 1983 . Efficacy of formic acid *Acarapis woodi* (R.) . Indian Bee J. , 45 : 1 - 2 .
- 33 - Spreafico , M. , F. R. Eordegh , I. Bernardinell and M. Colombo . 2001 . First detection of strains of *Varroa destructor* resistance to coumaphos , Results of laboratory tests and field trials . Apidologie , 32 : 49 - 55 .
- 34 - Steiner , J. , F. , Dittmann , P. , Rosenkranz , W. , Engels . 1994 . The first gonocycle of the parasitic mite (*Varroa jacobsoni*) in relation to pre-imaginal development of its host , the honey bee (*Apis mellifera*) . Invertebrate Reproduction and Development , 25 : 175 - 183 .
- 35 - Stoya , W. , G. Wachendorfer , I. Kary , P. Siebentritt and E. Kaiser . 1986 . Formic acid as a therapeutic agent in varroa disease and its levels in honey . Deutsche Lebensmittel - Rundschau . 82 : 217 - 221 .