مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (33) العدد (3) 2011
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (33) No. (3) 2011

دراسة طرائق طوائف نحل العسل الأهلي(*Apis mellifera L.*) ومعالجتها بالمبيدات المختلفة وأثرها المتبقي في بعض منتجات النحل(العسل والشمع)

الدكتور تميم عليا [*]
الدكتور عبد الله حاطوم[†]
خولة محمد [‡]

(تاريخ الإيداع 3 / 3 / 2010. قبل للنشر في 23 / 5 / 2011)

□ ملخّص □

يسلط هذا البحث الضوء على إمكانية تلوث بعض منتجات طوائف نحل العسل الأهلي(*Apis mellifera L.*) بمبيدات مختلفة مستخدمة في مكافحة الفاروا تحت ظروف مطابقة للواقع المستخدم من النحالين. تم علاج طوائف نحل العسل بمبيدي الأميتراز (Amitraz) والفلوفالينات (Fluvalinate) و بطرائق وأوقات مختلفة من السنة؛ وأخذت عينات من العسل والشمع من الطوائف المعالجة بعد شهر من كل معالجة للكشف عن نسبة الأثر المتبقي للمبيد فيها. أظهرت النتائج أن الأثر المتبقي للأميتراز في العسل0.00017mg/kg و0.00176mg/kg بطريقة الوشيعة الكهربائية والشريحة الكرتونية في المعالجة الأولى على التوالي؛أما في المعالجة الثانية0.00105mg/kg و0.01553mg/kg على التوالي، وفي الشمع0.01417mg/kg و0.09241mg/kg بطريقة الوشيعة الكهربائية والشريحة الكرتونية في المعالجة الأولى على التوالي؛ أما في المعالجة الثانية0.02606mg/kg و0.1796mg/kg على التوالي، أما الأثر المتبقي للفلوفالينات في العسل بطريقة شرائح الخيش في المعالجة الأولى والثانية فأقل من 0.00001mg/kg؛ على حين في الشمع0.02583mg/kg و0.01907mg/kg على التوالي لمكررين في المعالجة الأولى 0.03801mg/kg و0.03179mg/kg على التوالي لمكررين في المعالجة الثانية .

الكلمات المفتاحية: منتجات نحل العسل – الأثر المتبقي – المبيدات– طوائف نحل العسل الأهلي (*Apis mellifera L.*).

[*] أستاذ مساعد– قسم الكيمياء البيئية– المعهد العالي لبحوث البيئة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.
[†] مديرية الزراعة في اللاذقية– وزارة الزراعة– رئيس لجنة تأصيل النحل السوري وتحسينه – اختصاص تربية نحل .
[‡] طالبة دراسات عليا (ماجستير)– قسم الكيمياء البيئية – المعهد العالي لبحوث البيئة– جامعة تشرين – اللاذقية– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (33) العدد (3) 2011
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (33) No. (3) 2011

A Study of Treatment Methods of honeybee Colonies(*Apis mellifera L.*) with Different Pesticides and their Residues in Some of Bee Products (Honey and Beeswax).

Dr. Tamim Alia *
Dr. Abdullah Hatoum**
Khawla Muhammad***

(Received 3 / 3 / 2010. Accepted 23 / 5 /2011)

□ ABSTRACT □

The aim of this research is to study the probability of the pollution of some honeybee products because of the use of different pesticides by beekeepers to control *Varroa destractor* in similar conditions. Amitraz and Fluvalinate were used in different methods and times. Samples of honey and wax were taken a month after treatment to determine the residues of pesticides. Results have showed that Amitraz residues in honey were 0.00017mg/kg and 0.00176mg/kg ,in sequence, in the first treatment using the electrical bobbin and carton slice method; but in the second treatment they were 0.02606mg/kg and 0.1796mg/kg. Furthermore, the Fluvalinate residues in honey were less than 0.00001mg/kg using the burlap (sacking) slices method whereas they were 0.02583mg/kg and 0.01907mg/kg in wax (in two replication)in the first treatment; also in sequence. However, in the second treatment they were 0.03801mg/kg and 0.03179mg/kg (in two replication) ;in sequence.

Keywords: Honeybee products, residues ,pesticides, honeybee colonies (*Apis mellifera L.)*.

***Assistant professor, Department of Environmental Chemistry, Higher Institute for Environmental Researches, Tishreen university, lattakia, Syria.**
****Researcher, Agriculture Directorate of Lattakia, Agriculture Ministry.**
*****A Master student, Department of Environmental Chemistry, Higher Institute for Environmental Researches, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة:

يعد نحل العسل من الحشرات المهمة المفيدة للإنسان. ولمنتجاته دور كبير في جميع المجالات الغذائية، والطبية، والاقتصادية ، والزراعية ، والصناعية والبيئية وفي مجال التجميل . من أهم هذه المنتجات النحلية (العسل – الشمع – العكبر – الغذاء الملكي – حبوب الطلع – سم النحل). **[1،2 ، 3 ،4]**. يتفاوت الإنتاج السنوي للعسل محلياً وعالمياً من عام لآخر متأثراً بعوامل عدة كاستخدام المبيدات الحشرية والظروف المناخية والأمراض والطفيليات التي تصيب النحل وتؤدي إلى موته أو تدمير الطوائف بأكملها مثل دودة الشمع، الدبابير، قملة النحل، فراشة السمسم، السحالي، الضفادع، الطيور والعناكب... على حين يعتبر أكاروس *varroa destractor* وحلم القصبات الهوائية *Acarapis woodi* من أكثر الأكاروسات المتطفلة خطراً على حياة نحل العسل **[5، 6،7، 8]**.

تعد المبيدات الكيميائية وسيلة مكافحة فعالة وأداؤها سريع لذلك تستخدم على نطاق واسع وسيلة مكافحة أساسية وخاصة عند استفحال الإصابة وإخفاق وسائل المكافحة الأخرى، ولكن تظهر مشاكل متنوعة نتيجة استخدام هذه المبيدات منها تلويث منتجات طوائف النحل بالمبيدات المستخدمة في المكافحة **[9]**.

فقد أثبتت الدراسات المختلفة أن تلوث الشمع والعسل يتم بالدرجة الأولى عند إجراء المعاملة بالمبيدات الكيميائية المستخدمة ضد آفات النحل ومنها الفاروا **[10،11]**. وأكدت الدراسات تلوث منتجات النحل بالمبيدات الحشرية كتلوث منتج العسل، البروبوليس، الغذاء الملكي وغبار الطلع **[5، 12، 13]** . أظهرت نتائج دراسة أجريت في جاليسيا(اسبانيا)وجود أثر من مبيد الفلوفالينات في 11 عينة عسل بنسبة µg/kg 10-40 وفي عينة واحدة كانت نسبته µg/kg 100 **[14]**. وفي الأردن تم تحديد مستوى 50 نوعاً من المبيدات الحشرية في 26 عينة من العسل، وقد دلت النتائج على وجود بقايا من الفلوفالينات في 4 عينات فقط من عينات العسل التي تم تحليلها **[15]**. وفي دراسة أجريت في سلوفانيا وجد أن الحدود المكتشفة من مبيد الأميتراز في العسل أقل من 0.02mg/kg في جميع العينات **[16]**. وفي دراسة للباحث Korta وزملائه اتضح لهم من تحليل عينات الشمع أنها كانت تحتوي على الحدود المكتشفة لمبيدات الأميتراز، بروموبروبيلات، كلوردي ميفورم، سيميازول وكلور فنفينفوس بين mg/kg 0.02–0.2 **[17]**.

أما الدراسات التي أجريت لتحديد الأثر المتبقي في الشمع المستخدم بشكل متكرر فقد كانت ضئيلة، وقد أظهرت إحدى الدراسات أن مبيد الفلوفالينات يتراكم بنسب متزايدة في الشمع المعالج مرات عديدة**[18]**.أظهرت نتائج دراسة أجريت في سويسرا أن المبيدات الكيميائية الآتية: بروموبروبيلات ، كومافوس، فلوفالينات فلومثرين تتراكم في إطارات الشمع المستخدمة بشكل متكرر بنسب مرتفعة وأعلى من الحد الأعلى المسموح به عالمياً 6 mg/kg حيث بلغت هذه النسب 19.6 mg/kg ، 14.8 mg/kg ، 17.0 mg/kg 20.3 mg/kg لكل مبيد على التوالي **[19]**. راوحت حدود الأميتراز المكتشفة في عينات الشمع المكرر المأخوذة من إسبانيا وفرنسا بين 0.5 mg/ kg –35، على حين راوحت هذه النسب بين 0.2 mg/kg و0.06 mg/kg لمبيد الكلورفنفينفوس **[17]**.

اهتم الباحثون بشكل موسع بالموازنة بين نسب الأثر المتبقي في كل من العسل والشمع ،وأظهرت هذه الدراسات أن الأثر المتبقي في الشمع أعلى منها في العسل ففي سويسرا تم البحث في دراسة نسبة الأثر المتبقي لـ69 مبيداً حشرياً مستخدماً لمكافحة الفاروا في كل من العسل والشمع، فكانت نسبة الأثر المتبقي في الشمع أعلى منها في العسل ولم تكن نسبة الأثر المتبقي للمبيدات كبيرة في جميع العينات المأخوذة بل راوحت بين 0.005–0.050 mg/kg في عينات العسل **[19،20]**.

تتوقف كمية الأثر المتبقي للمبيد في منتجات الخلية على عوامل متعددة منها:

- نوع المبيد المستخدم وكميته.
- طريقة المعالجة المستخدمة وتوقيتها.
- عدد مرات إجراء المعالجة والمدة الفاصلة بينها.
- طبيعة منتجات الخلية (عسل، شمع...).

من أكثر المبيدات المدروسة في العسل الأميتراز ،الكومافوس ،السيميازول والفلوفالينات **[21]**. ومن أكثر المبيدات المدروسة في شمع النحل مبيدات البيرثرويئيد، الفلوفالينات، الفلومثرين، الكومافوس البروموبروبيلات **[17]**. وعلى اعتبار أن مكافحة الفاروا في القطر العربي السوري تتم باستخدام الأميتراز والفلوفالينات بشكل أساسي تم اختيار هذين المبيدين لإجراء بحث يستقصي إمكانية التلوث في ظروف معاملة مطابقة للواقع القائم.

أ- الأميتراز (Mitac) Amitraz :

الأميتراز من المبيدات الرائجة محليا، ينتمي إلى مجموعة فورماميدين formamidine **[22،23،24،25،26]** يتوفر هذا المبيد تجارياً بشكل صلب أو بشكل محلول **[27]**،وهو مبيد عناكبي يستخدمه الأطباء البيطريون دواء لمكافحة البراغيث والحشرات المنتشرة على الكلاب بإعطائها جرعات محددة**[28،29]** وفي مكافحة العناكب الضارة بأشجار الفاكهة والقطن، ويعد من أهم المبيدات المستخدمة لمكافحة آفات النحل وخاصة الفاروا **[30]**. إن استخدام هذا المبيد ترافقه تأثيرات سلبية فهو يسبب السرطان ويؤثر في صحة الإنسان المستهلك **[31]** والحيوانات التي تعالج به، فقد بينت إحدى الدراسات ظهور تأثير مخدر وسام للأميتراز على الكلاب والقطط وهذا أدى إلى حدوث أمراض ومشكلات صحية لها مثل أمراض القلب والسكري **[32]**. كما أن له أثراً متبقياً في المنتجات الغذائية الناتجة من الأشجار المعالجة به كما وجد في دراسة على الزعرور البري المعالج بالأميتراز أن له تأثيرا" سريعا"وضارا" في الثمار، وخاصة في الثمار المحفوظة مدة طويلة**[33]**.و بسبب الاستخدام الشائع لمبيد الأميتراز ينتقل هذا المبيد عن طريق السلسلة الغذائية إلى جسم الإنسان ويشكل خطراً على صحة الإنسان؛و في عام 2009 أصدرت كل من منظمة الأغذية والزراعة العالمية (FAO) ومنظمة الصحة العالمية (WHO) تقارير حددت من خلالها الجرعة اليومية لمبيد الأميتراز ضمن المجال (0 – 0.01mg/kg) فإذا زادت نسبة الأميتراز في جسم الإنسان المستهلك على هذه الجرعة المحددة فسوف يؤدي إلى آثار سلبية في صحته **[34]** فقد وضع المجلس الأوروبي الحد الأعلى المسموح به للأثر المتبقي لمبيد الأميتراز في العسل (MRLs = 0.2mg/kg) **[35]** .

ب- الفلوفالينات(Mavrik) Fluvalinate :

الفلوفالينات مبيد عناكبي ينتمي إلى مجموعة البيرثرويئيدات pyrethroid، يستخدم لمكافحة الحشرات المتطفلة على المواشي ولمكافحة الآفات التي تصيب النباتات والأشجار. كما يستخدم بشكله التجاري(Apistan) لمكافحة طفيل الفاروا**[36،37]**. يعد مبيد الفلوفالينات من المواد السامة الضارة بصحة الإنسان ،واستخدامه يؤدي في كثير من الحالات إلى بقاء كمية من آثاره في ثمار البندورة ونباتات الزينة إضافة إلى المياه والتربة **[38،39،40,41]**؛ ولم تحدد منظمة FAO/WHO الجرعة اليومية المسموحة ADI لمبيد الفلوفالينات **[34]**. ومن خلال النتائج التي توصلت إليها العديد من الأبحاث في العالم تم وضع قواعد وأسس عالمية للحدود المسموح بها من المبيدات الكيميائية في منتجات النحل؛ و قد حددت وكالة حماية البيئة الأمريكية الحدود العظمى لكل من مبيدي الأميتراز والفلوفالينات في العسل بـ 1 mg/kg و 0.05 mg/kg على التوالي **[22، 42،43]**. أما المواصفة القياسية السورية فلم تتطرق إلى هذا

الموضوع. أما بالنسبة لمنتج الشمع فلم يضع الاتحاد الأوروبي حداً أعلى للنسبة المسموح بها للأثر المتبقي لمبيد الفلوفالينات في الشمع، وبالمقابل حددت وكالة حماية البيئة الأمريكية هذه النسبة MRLs المسموح بها في العسل بـ 6 mg/kg لكل من مبيدي الفلوفالينات والأميتراز **[44،31]**.

أهمية البحث وأهدافه:

تم إجراء دراسات سابقة في سورية لتحديد الأثر المتبقي لبعض المبيدات في العسل والشمع والبروبوليس إلا أنها كانت محدودة فهي لم تتطرق لتقويم ظروف وطرائق معالجة مختلفة. يهدف هذا البحث إلى تقويم طرائق المكافحة المستخدمة للتوصل إلى معرفة أفضل الطرائق لمكافحة الفاروا إضافة إلى تحديد توقيت مرات المكافحة المناسبة وعددها في تطبيق مبيدي الأميتراز والفلوفالينات الأكاروسية للقضاء على طفيل الفاروا، ليكون في الوقت نفسه الأثر المتبقي لهذه المبيدات في منتجات الطائفة من العسل والشمع في حده الأدنى، بغية المحافظة على صحة الإنسان المستهلك. إن نتائج هذا البحث قد تسهم في معرفة النحالين و إرشادهم مستقبلاً إلى اختيار طريقة المكافحة وشروط تطبيقها.

طرائق البحث ومواده:

1. مواد البحث :

تم تخصيص 12 طائفة نحل في عام 2008 من منحل تابع لمديرية الزراعة باللاذقية بمنطقة وادي قنديل. الخلايا المخصصة للدراسة تحتوي على نحل من سلالة النحل السورية *Apis mellifica syriaca* موضوعة ضمن خلايا خشبية قياسية من النموذج لانجستروث مصابة بطفيل الفاروا بنسبة 10%؛ وعلى رأسها ملكة بياضة بعمر سنة أما التغطية النحلية فهي(6) إطارات (حضنة ، عسل حبوب لقاح).

كما استخدم في البحث المواد الآتية:

- شرائح أميتراز كرتونية قياس0.1x3x15cm وكل شريحة تحوي 6mg أميتراز.
- مبيد تجاري من الأميتراز% 20 إنتاج شركة أريستالايف ساينس Arysta lifecience france الفرنسية.
- شرائح من الخيش بقياس 10x10cm.
- مبيد تجاري من المافريك 24% من إنتاج شركة Flogaz.
- وشيعة كهربائية مربوطة ببطارية (12) فولت.
- قطن وكحول إيتيلي 95%.
- مادة عيارية لمبيد الأميتراز.
- مادة عيارية لمبيد الفلوفالينات .

2. طرائق معالجة طوائف النحل :

أ–استخدام الأميتراز بطريقة الشرائح الكرتونية قياس 0.1x3x15cm: وضعت شريحة كرتونية واحدة لكل طائفة بين إطارات الحضنة وتم وضعها بين الإطارين الثالث والرابع ثم أزيلت بعد عشرة أيام.

ب–استخدام مبيد الأميتراز20% بطريقة الوشيعة الكهربائية: وضع 1 ml من مبيد الأميتراز بتركيز 20% في 2 ml من الكحول الإتيلي 95%. أخذ من5-8 قطرات من هذا المزيج تبعاً لعدد الإطارات في الخلية إلى قطعة من

القطن وضعت ضمن الوشيعة الكهربائية 12 فولت. وضعت الوشيعة التي تحتوي على القطن المبلل بمحلول المبيد في مدخل الخلية مدة 30 ثانية وبعد ذلك مباشرة تم فصل التيار الكهربائي وأغلق باب الخلية عشر دقائق للحفاظ على البخار الصاعد.

ج–استخدام الفلوفالينات 24% بطريقة شرائح الخيش: وضع 10 ml مافريك في لتر ماء، وضع في هذا المحلول نحو 70 شريحة خيش قياس 10x10cm، بعدها أخذت الشرائح وجففت في الظل 24 ساعة. عند معالجة الخلايا المصابة وضعت شريحة خيش واحدة لكل طائفة على سطح الإطارات ثم سحبت بعد عشرة أيام.

2-1. معالجة طوائف النحل :

تم اختيار 12 طائفة نحل مصابة بالفاروا وعولجت بكل من مبيدي الأميتراز والفلوفالينات ضمن طرائق معالجة ونسب محددة خلال فترتين مختلفتين من السنة:

أ–الفترة الأولى: في نهاية فصل الشتاء وهي الفترة التي لا يوجد فيها جني للرحيق (28 شباط و9 آذار2008).

ب–الفترة الثانية : في فصل الربيع وهي الفترة التي يوجد فيها جني للرحيق (10 و20 نيسان2008).

حيث استخدمت الطوائف غير المصابة بالفاروا شاهداً ثم أجريت كل معالجة من المعالجتين على دفعتين بفاصل زمني مدته عشرة أيام وفقاً لما يأتي.

– عولجت الطوائف رقم 1 و2 و3 بشريحة كرتونية واحدة لكل طائفة من مبيد الأميتراز حيث وضعت بين الإطارين الثالث والرابع من إطارات الحضنة ثم أزيلت بعد10أيام.

– عولجت الطوائف رقم 4 و5 و6 بمبيد الأميتراز بطريقة الوشيعة الكهربائية حيث استخدام 1ml من الأميتراز بتركيز20% ووضع في 2ml من الكحول الإتيلي تركيزه 95% ثم أخذ 5 قطرات من هذا المزيج إلى قطعة قطن ضمن وشيعة كهربائية 12 فولط ثم وضعت في مدخل الخلية مدة 30 ثانية ثم أغلق باب الخلية مدة 10 دقائق.

– عولجت الطوائف رقم 7 و8 و9 بشريحة خيش واحدة من مبيد الفلوفالينات (مافريك) حيث تم تحضير شرائح الخيش بوضع 10ml مافريك في 1l ماء ثم وضعت 70 شريحة خيش في هذا المحلول ثم جففت في الظل 24 ساعة وبعد ذلك وضعت شريحة خيش على سطح الإطارات في كل طائفة ثم سحبت بعد 10 أيام.

– عولجت الطوائف رقم 10 و11 و12 بشريحتين معاً وهما شريحة كرتونية واحدة من مبيد الأميتراز وشريحة خيش واحدة من مبيد الفلوفالينات (مافريك) حيث وضعت شريحة الأميتراز بين الإطارين الثالث والرابع من إطارات الحضنة أما شرائح الخيش فقد وضعت على سطح الإطارات بعد أن تم تحضيرها كما ذكرنا أنفاً .

2–2. جمع العينات للتحليل :

جمع 200g عسل بشهده (الأعين السداسية غير مختومة) كعينات من كل طائفة بعد مضي شهر على إجراء كل من المعالجة الأولى والمعالجة الثانية.

2–3. تحضير العينات للتحليل :

أخذ 10g من عينات العسل بشهده في وعاء زجاجي وسخنت في حمام مائي حتى الدرجة 50°C مدة 15 دقيقة، بعدها سكب العسل في وعاء زجاجي آخر وترك بدرجة حرارة الغرفة حيث ينفصل الشمع عن العسل.

2–4. تنقية عينات الشمع من الشوائب :

أخذ g 100 من الشمع وأضيف إليها ml 30 ماء مقطراً. سخن المزيج في حمام مائي مدة 20 دقيقة بدرجة حرارة C °70، ثم برد المزيج إلى درجة حرارة الغرفة. أخذت طبقة الشمع المتجمدة وأزيلت الشوائب المتجمعة في أسفل قطعة الشمع . أعيدت عملية تذويب الشمع مرة ثانية لتنقية الشمع، ثم حفظت عينات الشمع في مكان مظلم بدرجة حرارة الغرفة حتى إجراء التحليل **[45]**.

2-5. استخلاص المبيد من العسل :

استخلصت المبيدات من عينات العسل بطريقة الاستخلاص (سائل-سائل) على ثلاث مراحل؛ حيث أخذ g 0.1 من العسل في قمع فصل، وأضيف إليه مزيج من ميتانول / ماء (80/20)، وتم خض المزيج حتى تمام الإذابة. أضيف ml 10 من ايتيل أسيتات Ethyl acetate واستمر خض المزيج مدة min 15. أخذت طبقة ايتيل الأسيتات من المزيج. أعيد استخلاص الطبقة المتبقية مرتين، ثم جمعت نواتج الاستخلاص في المرات الثلاث وبخرت في مبخر دوار بدرجة حرارة °30C حتى الجفاف. أضيف إلى حوجلة المبخر الدوار ml 1 من ايتيل الأسيتات للحصول على المبيد ومن ثم تم الكشف عن المبيد بجهاز الكروماتوغرافيا الغازية بعد الترشيح بـ PTFE (0.50 µm) **[46]**.

2-6. استخلاص المبيد من الشمع :

استخلص المبيد من الشمع بطريقة الاستخلاص (سائل-سائل) على مرحلتين؛ حيث أخذ g 0.1 من شمع النحل في قمع فصل، وأضيف إليه ml 10 نظامي الهكسان. تم خض المزيج حتى يذوب جيداً، بعدها أضيف ml 10 أسيتو نتريل واستمر خض المزيج مدة 15 دقيقة. بعد انفصال المزيج إلى طورين أخذت طبقة أسيتو نتريل وأعيد استخلاص الطبقة المتبقية مرة أخرى. جمعت نواتج الاستخلاص في المرتين وبخرت في مبخر دوار بدرجة حرارة °30C حتى الجفاف. أضيف إلى حوجلة المبخر الدوار ml 1 أسيتون للحصول على المبيد ومن ثم تم الكشف عن المبيد بجهاز الكروماتوغرافيا الغازية بعد الترشيح بـ PTFE (0.50 µm) **[45]**.

2-7. الكشف عن المبيدات :

بعد استخلاص المبيدات من عينات العسل والشمع تم الكشف عن المبيدات المستخلصة لكل من عينات العسل والشمع المدروسة بالكروماتوغرافيا الغازية باستخدام جهاز كروماتوغرافيا غازية Shimadzu GC 2010 باستخدام طريقة رسم منحني معايرة لمواد معيارية External Standard أما شروط التحليل فكانت وفقاً لما هو مبين في الجدول رقم (1) .

الجدول (1): يوضح شروط التحليل المستخدمة بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا.

الحقن	تم حقن µl1 بطريقة التجزئة 1:100
درجة حرارة الحقن	225°C
العمود المستخدم	TRB-5, L=30m, ID=0.32mm, DF=0.5µm
الغاز الحامل	استخدم الآزوت غازاً حاملاً وكان تدفق الغاز 0.8 ml/min
البرنامج الحراري للعمود	يبدأ البرنامج الحراري بـ 150°C ويرتفع إلى 300°C بمعدل 2.1°C/min ويثبت عند درجة الحرارة 300°C مدة 30 دقيقة.
الكاشف المستخدم	كاشف التقاط الإلكترونات ECD
درجة حرارة الكاشف	300°C

2-8. التحليل الإحصائي :

صممت التجربة باستخدام التصميم العشوائي التام بثلاثة مكررات. تم تحديد نسبة الأثر المتبقي للمبيد في كل مكرر (وحدة تجريبية) بأخذ ثلاث عينات من الشمع بشهده للكشف عن الأثر المتبقي للمبيدات في كل من العسل والشمع، ومن ثم أخذ متوسط النتائج بوصفه قيمة للأثر المتبقي لهذه المبيدات في الوحدة التجريبية.

تم تقويم النتائج إحصائياً بطريقة حساب الانحراف الثنائي (Tow-way analysis of variance) عند درجتي الثقة 95% و99%، كما تم حساب معامل ارتباط بيرسون Pearson correlation باستخدام البرنامج الإحصائي الحاسوبي Minitab 15.

النتائج والمناقشة :

1. الأثر المتبقي للأميتراز:

تحليل عينات العسل والشمع المأخوذة من الطوائف المعالجة بمبيد الأميتراز على فترتين مختلفتين بكل من طريقة الشريحة الكرتونية وطريقة الوشيعة الكهربائية أظهر وجود الأميتراز وفقاً للنتائج المبينة في الجدول رقم 2.

جدول (2) :الأثر المتبقي للأميتراز في الشمع والعسل بعد المعالجة الأولى والثانية بطريقة الشريحة الكرتونية وبطريقة الوشيعة.

أسلوب المكافحة	رقم الطائفة	المعالجة الأولى		المعالجة الثانية	
		العسل mg/kg	الشمع mg/kg	العسلmg/kg	الشمع mg/kg
الشريحة الكرتونية	1	0.00112	0.07525	0.02083	0.12092
	2	0.00141	0.10165	0.01004	0.20301
	3	0.00276	0.10035	0.01571	0.21487
	المتوسط	0.00176	0.09241	0.01553	0.1796
	الانحراف المعياري	0.00088	0.01488	0.00531	0.05116
الوشيعة الكهربائية	4	0.00010	0.01023	0.00030	0.02352
	5	0.00030	0.01900	0.00150	0.02967
	6	0.00012	0.01328	0.00134	0.02499
	المتوسط	0.00017	0.01417	0.00105	0.02606
	الانحراف المعياري	0.00011	0.00445	0.00065	0.00321

1-1. اختلاف الأثر المتبقي للأميتراز في العسل باختلاف توقيت المعالجة وطريقة المعالجة :

بالموازنة بين نسب الأثر المتبقي للأميتراز في الطوائف التي تمت معالجتها بطريقة الشريحة الكرتونية (الجدول رقم2) نجد أن متوسط نسبة الأثر المتبقي من مبيد الأميتراز في عينات العسل المأخوذة من الخلايا بعد المعالجة الأولى هو 0.00176 mg/kg أقل بكثير من الأثر المتبقي بعد المكافحة الثانية 0.01553 mg/kg ($p<0.01$). تم التوصل أيضاً إلى نتائج مشابهة في الطوائف التي تمت معالجتها بطريقة الوشيعة الكهربائية؛ إذ إن متوسط نسبة الأثر

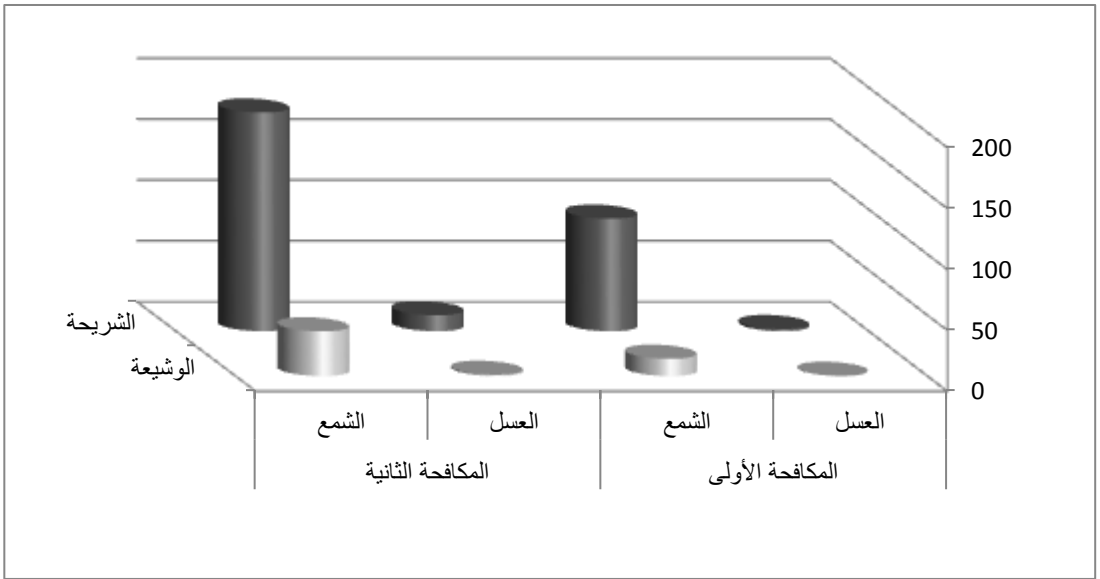
المتبقي في العسل هي 0.00017 mg/kg في المعالجة الأولى بطريقة الوشيعة وهي أقل من متوسط نسبة الأثر المتبقي في العسل بعد المعالجة الثانية بطريقة الوشيعة التي كانت 0.00105 mg/kg ($p<0.01$).

تظهر النتائج المذكورة أن متوسط نسبة مبيد الاميتراز المتبقي في العسل بعد المعالجة الأولى أقل بكثير من نسبته بعد المعالجة الثانية سواء أكانت طريقة المعالجة بالشريحة أم بالوشيعة الكهربائية. ويمكن أن يعود هذا الاختلاف الكبير إلى أوقات إجراء كل من المعالجتين إذ إن المعالجة الأولى جرت في فترة عدم جني الرحيق أما المعالجة الثانية فقد تمت في مرحلة جني النحل للرحيق، وفي هذه الحالة تكون طوائف النحل في حالة نشاط وجني للرحيق كما تحتوي الطوائف على منتجات نحلية بكميات كثيرة. واستناداً إلى ذلك يمكن القول إنه يفضل أن تكون المعالجة في الخريف والشتاء بسبب عدم نشاط الطائفة في جني الرحيق إضافة إلى قلة محتوياتها من عسل وشمع.

وقد أشارت بعض الدراسات السابقة إلى عدم وجود آثار لمبيد الأميتراز في العسل **[25,14, 3]** على حين أشارت نتائج دراسات أخرى إلى وجود الأميتراز في بعض عينات العسل بنسب أقل من 0.02 mg/kg [16] **]** وهذا يوافق ما تم التوصل إليه خلال البحث حيث تم الكشف عن الأثر المتبقي للأميتراز في العينات وكانت نسبته منخفضة جداً .وتشير هذه النتائج إلي أن نسبة الأثر المتبقي للمبيد في جميع العينات المحللة هي أقل بكثير من الحد المسموح به عالمياً في الأنظمة الأمريكية mg/kg (1) **[22 , 43,42]**. وأقل بكثير من الحد المسموح به عالمياً في الأنظمة الأوروبية mg/kg (0.2) و الذي تم اعتماده في مؤتمر الكاريبي الثالث2002 **[47،35]** ؛وهذا يوافق دراسات سابقة أكدت أن الحدود المكتشفة لمبيد الأميتراز في العسل منخفضة وأقل من الحد الأعلى في أوروبا **[48]**.وبالموازنة بين نسبة الأثر المتبقي للأميتراز في عينات العسل التي جمعت من مصادر محلية ونتائج تحليل عينات العسل العشوائية التي جمعت من النحالين في تركيا التي عولجت بالأميتراز نجد أن نسبة الأثر المتبقي للأميتراز أقل بكثير من المستويات المحددة في تركيا، حيث حددت 6 مستويات مرتفعة مختلفة للأميتراز المتبقي في العينات التركية وهي (0.92−0.40−1.27−0.23 −0.34−5.35)ppm **[50,49]**.

كما يلاحظ من خلال النتائج (الشكل1) وجود اختلاف كبير بين نسبة الأثر المتبقي للأميتراز في عينات العسل المأخوذة من خلايا معالجة باستخدام الشريحة الكرتونية قياساً بالعينات المأخوذة من خلايا معالجة بطريقة الوشيعة الكهربائية ($p<0.01$). تشير هذه النتائج إلى أهمية استخدام طريقة الوشيعة الكهربائية عند معالجة طوائف النحل بمبيد الأميتراز بدلاً من طريقة الشريحة الكرتونية لخفض الأثر المتبقي للمبيد في العسل، حيث تظهر النتائج أن نسبة الأثر المتبقي في حالة استخدام الوشيعة الكهربائية أقل من عشر القيمة التي وصلت إليها عند استخدام الشريحة الكرتونية سواء أكانت فترة المعالجة في مرحلة جني الرحيق أم خارجها.

ويمكن تفسير هذه النتيجة بآلية تطبيق كل من الطريقتين؛ فطريقة المعالجة بالشريحة الكرتونية تتم بوضع هذه الشريحة الحاوية على المبيد بين الإطارات لفترة عشرة أيام وهذا يفسح المجال لتبخر هذا المبيد وانتشاره ضمن الخلية



لفترة طويلة نسبياً وذلك يتيح له الوصول إلى منتجات الخلية وتلوثها، أما في حالة استخدام الوشيعة الكهربائية فتتم المكافحة بتدخين المبيد بواسطة وشيعة كهربائية توضع في مدخل الخلية ضمن فترة زمنية قصيرة 30 ثانية والخلية مغلقة مدة 10 دقائق بحيث يقتل طفيل الفاروا دون أن يصل إلى منتجات الخلية إلا بشكل محدود فتكون آثاره ضئيلة.

شكل(1): متوسط الأثر المتبقي للأميتراز في عينات العسل والشمع(ppb) حسب طريقة المعالجة وزمنها .

2-1. اختلاف الأثر المتبقي للأميتراز في الشمع باختلاف توقيت المعالجة وطريقة المعالجة :

بالعودة إلى الجدول 2 نجد أن نسبة الأثر المتبقي للأميتراز في عينات الشمع كانت مرتفعة قياساً بنسبتها في العسل؛ فكان متوسط الأثر المتبقي للأميتراز في الشمع المأخوذ من الخلايا المعالجة بالشريحة الكرتونية بعد المعالجة الأولى 0.09241mg/kg وبعد المعالجة الثانية 0.1796 mg/kg؛ بالمقابل كانت نسبته في حالة استخدام الوشيعة الكهربائية بعملية المعالجة هي 0.01417 mg/kg و0.02606mg/kg بعد كل من المعالجة الأولى والثانية على الترتيب. تشير هذه النتائج إلى زيادة نسبة الأثر المتبقي للأميتراز في المرحلة الثانية قياساً بالمرحلة الأولى بمقدار الضعفين تقريباً بغض النظر عن طريقة المعالجة المتبعة، والتقويم الإحصائي بين وجود فروق معنوية بين قيم الأثر المتبقي للمبيد بعد المعالجة الأولى والمعالجة الثانية سواء تمت هذه المعالجة بطريقة الشريحة الكرتونية أم بطريقة الوشيعة الكهربائية ($p<0.01$). يمكن تفسير زيادة نسبة الأثر المتبقي في المرحلة الثانية بتراكم المبيد في الشمع خلال إجراء المعالجة في المرحلة الأولى والمرحلة الثانية.

كما تشير النتائج إلى وجود اختلاف كبير بين نسبة الأثر المتبقي للأميتراز في عينات الشمع المأخوذة من خلايا معالجة باستخدام الشريحة الكرتونية قياساً بالعينات المأخوذة من خلايا معالجة بطريقة الوشيعة الكهربائية ($p<0.01$) حيث تكون آثاره ضئيلة في حال تدخين الأميتراز**[52]** . ويمكن تفسير ذلك (كما ذكر سابقاً في حالة العسل) باختلاف طريقة تنفيذ كل من الطريقتين المذكورتين والوقت الكبير الذي تستغرقه الشريحة الكرتونية ضمن الخلية (حوالي عشرة أيام) قياساً بالوشيعة الكهربائية.

كما تظهر النتائج أن نسبة الأثر المتبقي في الشمع أكبر بكثير من نسبتها في العسل كما تبين النتائج وجود ارتباط بين نسبة الأثر المتبقي للمبيد في العسل ونسبته في الشمع المأخوذ من الخلية نفسها ($R= 0.752$) أما معامل الارتباط بين متوسطات الأثر المتبقي فهو ($R= 0.924$). يمكن تفسير هذا الاختلاف الكبير في نسبة المبيد في كل من العسل والشمع من خلال نوعية المبيد المستخدم وخواصه وتراكمه. فالأميتراز مركب كاره للماء يذوب في الدهون lipophilic ويتراكم فيها وهذا ما سبب تراكمه في الشمع بشكل كبير قياساً بالعسل. وأشارت الكثير من الدراسات العالمية إلى نتائج مشابهة؛ فقد أكدت هذه الدراسات أن الأثر المتبقي لهذا المبيد يتراكم بالدرجة الأولى في الشمع مقابل كمية ضئيلة منه في العسل كغيره من المبيدات المحبة للدهون وتنحل فيها كمبيد الفلوفالينات والكومافوس وغيرها **[51]**. تشير هذه النتائج إلى ضرورة تجنب استخدام الشمع ولاسيما في المنتجات الطبية ومساحيق التجميل دون التأكد من الحصول على هذا الشمع من خلايا غير معالجة بمبيد الأميتراز.

2.الأثر المتبقي للفلوفالينات:

تحليل عينات العسل والشمع المأخوذة من الطوائف المعالجة بمبيد الفلوفالينات على فترتين مختلفتين بكل من طريقة الشريحة الكرتونية وطريقة الوشيعة الكهربائية أظهر وجود الأميتراز وفقاً للنتائج المبينة في الجدول رقم3.

تبين النتائج في الجدول رقم 3 أن نسبة الفلوفالينات في العسل أقل من حد الكشف (0.00001 mg/kg) بعد كل من المكافحة الأولى والثانية وهذا يشير إلى أن نسبة الأثر المتبقي لهذا المبيد في العسل منخفضة جداً قياساً بالأميتراز. أما الدراسات العالمية فقد أشارت إلى نتائج متباينة؛ فقد أكد العالم Wallner (9) وجود الفلوفالينات بالعسل بنسبة منخفضة جداً (أجزاء من البليون ppb) ولكن في الشمع وجد في مستويات أعلى (أجزاء من المليون ppm)**[9]**. كما بينت دراسات مشابهة احتواء عينات العسل المدروسة على آثار من الفلوفالينات **[14]، 15، 44، 45**،46]. على حين أشارت نتائج بعض الأبحاث العالمية إلى وجود أثر متبقٍ لهذا المبيد في العسل بنسب أقل من 0.001 mg/kg **[44]، 45]**. وأشارت دراسات إلى وجود أثر متبقٍ لهذا المبيد في العسل بنسب تتجاوز 0.005 mg/kg **[46]**.بالمقابل أشارت دراسات أخرى إلى وجود آثار متبقية لهذا المبيد في العسل تراوح بين mg/kg 0.010 –0.040 **[14]** .ويمكن أن يفسر الاختلاف بين النتائج التي تم التوصل إليها في هذه الدراسات بحدود كشف طريقة التحليل المتبعة والاختلاف بين العينات المدروسة وشروط عمليات المعاملة وأوقات الجني فتطبيق المعاملة بشكل متكرر أكثر من مرتين خلال العام أو على المدى الطويل للمبيداتLipophilic يؤدي إلى تسرب الفلوفالينات من الشمع إلى العسل عند إجراء معالجات متكررة أو عند إجراء معالجة على المدى الطويل وذلك يزيد من تلوث العسل **[37]** كما أن مبيد الفلوفالينات يمكن أن يبقى مستقرا في العسل أكثر من 8 شهور حتى في درجة حرارة 35 مئوية **[53]**.

جدول (3) :الأثر المتبقي للفلوفالينات في الشمع والعسل بعد المعالجة الأولى والثانية بطريقة شرائح الخيش.

رقم الطائفة	المعالجة الأولى				المعالجة الثانية			
	العسل	الشمع mg/kg			العسل	الشمع mg/kg		
	mg/kg	I	II	المجموع	mg/kg	I	II	المجموع
7	nd	0.02184	0.01073	0.03257	nd	0.03267	0.02086	0.05353
8	nd	0.02821	0.02589	0.05410	nd	0.04896	0.04080	0.08976
9	nd	0.02744	0.02058	0.04802	nd	0.03241	0.03371	0.06612
المتوسط	–	0.02583	0.01907	0.04490	–	0.03801	0.03179	0.06980
الانحراف المعياري	–	0.00348	0.00769	0.01110	–	0.00948	0.01011	0.01839

أما عينات الشمع فقد تم الكشف عن وجود أثر متبقٍ لمبيد الفلوفالينات في جميع العينات وكان متوسط الأثر المتبقي للمبيد هو0.04490 mg/kg بعد **المعالجة** الأولى و0.06980 mg/kg بعد **المعالجة** الثانية ويلاحظ أن الأثر المتبقي للمبيد بعد **المعالجة** الثانية زاد على نسبته بعد **المعالجة** الأولى كما هو الحال مع مبيد الأميتراز. ويمكن تفسيره كما في حالة الأميتراز بوجود تراكم للمبيد في الشمع خلال مرحلتي **المعالجة** وهذا سبب مضاعفة الأثر المتبقي بعد **المعالجة** الثانية. والنسب التي تم الكشف عنها هي أقل بكثير من الحد المسموح به في مواصفات الولايات المتحدة الأمريكية 6 mg/kg **[44]**. وهذه النتيجة توافق نسبة الأثر المتبقي التي تم التوصل إليها بعد **المعالجة** الأولى بهذا المبيد. وبينت دراسة أخرى في سويسرا وألمانيا تركيز (فلوفالينات –كومافوس– بروموبروبيلات) في الشمع يتفاوت بين0.5-5) mg/kg)؛ وهذه النتيجة أعلى من نسبة الأثر المتبقي التي تم التوصل إليها خلال البحث الحالي **[45]**. على حين أشارت بعض الدراسات العالمية إلى وجود أثر متبقٍ لهذا المبيد في الشمع بنسب تراوح بين mg/kg (0.023 – 0.100) **[44]**،**على حين** أشارت دراسات أخرى إلى أن نسبة الأثر المتبقي في الشمع تراوح بين mg/kg (0.4 – 0.2) **[47]**. كما نلاحظ أيضاً ازدياد نسبة المبيد في الشمع على نسبته في العسل لأنه مركب محب للدهون

وهذه النتيجة مماثلة لنتائج دراسات عالمية مشابهة حيث أشارت بعض هذه الدراسات إلى تراكم هذا المبيد في الشمع المأخوذ من إطارات الحضنة أو إطارات العسل بشهده مقابل نسب ضئيلة جداً من أثره المتبقي في العسل أو مقابل خلو عينات العسل من المبيد ضمن حدود الكشف المتبعة في طريقة التحليل **[54،47،44,19]**. مما سبق نجد أن نتائج الدراسات المتفرقة تشير إلى اختلاف نسبة الأثر المتبقي لهذا المبيد في الشمع ولكنها تجمع على وجوده بنسب منخفضة أقل من 0.4 mg/kg. يمكن أن تكون هذه الاختلافات ناتجة عن ظروف **المعالجة** وطرائقها.

باعتبار أن شمع العسل يدخل في المنتجات الطبية ومساحيق التجميل ويستهلك كغذاء **[17]** لذلك يجب الحذر من تناول أو استخدام أقراص عسل بشهده أخذت من طوائف معالجة بالمبيدات الكيميائية المحبة للدهون إذ إن استخدام الفلوفالينات في السنوات السابقة وعدم تبديل الإطارات الشمعية ضمن الطائفة يؤدي إلى تراكم هذا المبيد في هذه الإطارات؛ وقد أثبتت دراسة في سويسرا تراكم الفلوفالينات في إطارات الشمع المستخدمة بشكل متكرر بنسبة 17.0mg/kg و 26.9mg/kg **[19]** . كما درس العالم Frison(19) الإطارات الشمعية المعالجة ثلاث مرات بمبيد الفلوفالينات فكانت النسبة متزايدة في الشمع بمستويات مرتفعة كثيراً قياساً بالعسل بسبب تراكم المبيد فيه **[18]** .

3. الأثر المتبقي لكل من مبيدي الأميتراز و الفلوفالينات (في المعالجة المشتركة):

تم تحديد الأثر المتبقي لكل من مبيدي الأميتراز والفلوفالينات في الخلايا التي عولجت بكل من الأميتراز والفلوفالينات وتم التوصل إلى النتائج المبينة في الجدولين (4) و(5).

جدول (4) :الأثر المتبقي للأميتراز في الشمع والعسل بعد المعالجة المشتركة بطريقة الشريحة.

رقم الطائفة	المعالجة الأولى		المعالجة الثانية	
	العسل mg/kg	الشمع mg/kg	العسل mg/kg	الشمع mg/kg
10	0.00154	0.13232	0.01281	0.22872
11	0.00106	0.11161	0.02034	0.11589
12	0.00136	0.15051	0.01160	0.28591
المتوسط	0.00132	0.13148	0.01492	0.21017
الانحراف المعياري	0.00024	0.01946	0.00474	0.08651

جدول (5) :الأثر المتبقي للفلوفالينات في الشمع والعسل بعد المعالجة المشتركة بطريقة الشريحة.

رقم الطائفة	المعالجة الأولى				المعالجة الثانية			
	العسل mg/kg	الشمع mg/kg			العسل mg/kg	الشمع mg/kg		
		I	II	المجموع		I	II	المجموع
10	nd	0.01961	0.01474	0.03435	nd	0.02727	0.02210	0.04937
11	nd	0.01745	0.01309	0.03054	nd	0.03128	0.03000	0.06128
12	nd	0.01800	0.01380	0.03180	nd	0.02204	0.02737	0.04941
المتوسط	–	0.01835	0.01388	0.03223	–	0.02686	0.02649	0.05335

الانحراف المعياري	–	0.00112	0.00083	0.00194	–	0.00463	0.00402	0.00686

تشير النتائج المبينة في الجدول رقم 4 والجدول رقم 5 إلى عدم وجود أثر متبقٍ لمبيد الفلوفالينات في العسل سواء بعد المعالجة الأولى أم الثانية، بالمقابل يلاحظ وجود آثار متبقية لمبيد الأميتراز في العسل بنسبة 0.00132 mg/kg بعد المعالجة الأولى و0.01492 mg/kg بعد المعالجة الثانية. توافق هذه النتائج النتائج التي تم التوصل إليها في هذا البحث عند استخدام كل مبيد بمفرده في معالجة طوائف النحل. ويمكن أن يكون السبب وراء خلو العسل من الأثر المتبقي لمبيد الفلوفالينات عند استخدام هذا المبيد في معالجة طوائف النحل على حين يظهر أثر متبقٍ للأميتراز في ظروف المعالجة نفسها هو طبيعة المركبين التي تجعل ميل الأميتراز إلى الارتباط في منتجات الخلية أكبر قياساً بالفلوفالينات. وتشير هذه النتيجة إلى تفوق استخدام الفلوفالينات على الأميتراز في معالجة طوائف النحل من ناحية الأثر المتبقي في العسل، رغم أن بعض الدراسات العالمية أشارت إلى وجود آثار متبقية من مبيد الفلوفالينات في العسل **[14،15]**.

عند الموازنة بين نسبة الأثر المتبقي لكل من المبيدين في عينات الشمع المدروسة يمكن التوصل إلى أن نسبة الأثر المتبقي لمبيد الفلوفالينات اقل منها لمبيد الاميتراز سواء بعد المعالجة الأولى أم الثانية. فمن خلال النتائج المبينة في الجدول (4) والجدول رقم (5) نجد أن متوسط نسبة الأثر المتبقي لمبيد الاميتراز في الشمع بعد إجراء المعالجة الأولى هي 0.13148 mg/kg بالمقابل كانت النسبة لمبيد الفلوفالينات هي 0.03223 mg/kg. أما متوسط نسبة الأثر المتبقي للمبيدين بعد إجراء المعالجة الثانية فقد زادت بمقدار الضعف تقريباً. فكانت نسبة الأثر المتبقي للأميتراز هي 0.21017 mg/kg مقابل 0.05335 mg/kg لمبيد الفلوفالينات. تفسر هذه النتائج السبب وراء عدم وضع حد أعلى لنسبة الأثر المتبقي للفلوفالينات في الشمع في الاتحاد الأوروبي وذلك بسبب أثره المتبقي الضئيل وآثاره السمية الضعيفة قياساً بمبيد الأميتراز **[10]**.

الاستنتاجات والتوصيات :

أ-الاستنتاجات :

إن استخدام المبيدات الكيميائية لمعالجة طوائف النحل يؤدي إلى تكوين آثار متبقية في منتجاتها وإن نسبة هذه الآثار المتبقية للمبيدات الكيميائية تختلف باختلاف كل من:

1- نوع المبيد المستخدم في المعالجة حيث تشير نتائج البحث إلى أن نسبة الأثر المتبقي لمبيد الأميتراز أعلى من نسبة الأثر المتبقي لمبيد الفلوفالينات في جميع عينات العسل والشمع.

2- تختلف نسبة الأثر المتبقي للمبيدات الكيميائية باختلاف طريقة إجراء المعالجة الكيميائية، فعند المعالجة بمبيد الأميتراز باستخدام طريقتين وهما طريقة الشرائح الكرتونية وطريقة الوشيعة أشارت النتائج إلى أن نسبة الأثر المتبقي لمبيد الأميتراز في العسل والشمع في حال المعالجة باستخدام الشرائح أعلى من نسبة الأثر المتبقي لمبيد الأميتراز في حال استخدام الوشيعة.

3- نسبة الأثر المتبقي للمبيدات الكيميائية تختلف باختلاف أوقات إجراء المعالجة، فالمعالجة في أوقات جني الرحيق تسبب بقاء أثر متبقٍ للمبيدات في منتجات الخلية أعلى منها قياساً بإجراء المعالجة خارج أوقات

جني الرحيق إذ إنه في الفترة التي يتم فيها جني الرحيق تكون خلية النحل مليئة بمنتجات النحل ولذا فهي أكثر تعرضاً لتأثير المبيدات الكيميائية.

4- تكرار المعالجة بأي نوع من المبيدات يزيد من أثره المتبقي في العسل والشمع.

ب-التوصيات:

1. إجراء معالجة طوائف النحل في خارج أوقات جني الرحيق (من شهر تشرين الثاني حتى شهر شباط) لأن خلايا النحل في هذه الفترة تحوي كمية ضئيلة جداً من منتجات النحل التي تركت فيها ليتغذى عليها النحل.
2. المعالجة بطريقة الوشيعة الكهربائية بدلاً من الشرائح الكرتونية عند استخدام مبيد الأميتراز و مرتين بفاصل زمني عشرة أيام وإجراء المعالجة خارج أوقات جني الرحيق.
3. استخدام مبيد الفلوفالينات بطريقة شرائح الخيش بنسبة 1% مرتين بفاصل زمني عشرة أيام خارج أوقات جني الرحيق.

المراجع:

[1] البراقي علي ; أنس خنشور. *تأثير تأبير نحل العسل لأزهار الكوسا في زيادة المحصول وتحسين نوعيته*. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية 19(20)، **2004**، 215-233 .

[2] CRANE ,E. *Bee Products*. Encyclopedia of Insects, Second Edition, **2009**,71-75.

[3]KRELL ,R .*Value-added products from beekeeping*.Food and Agriculture Organization of the United Nations, fao Agricultural servicesbulletin ,Rome, **1996**, 124.

[4] CHEN,C.R; LEE,Y.N; LEE, M.R; CHAN,C.M. *Supercritical fluids extraction of cinnamic acid derivatives from Brazilian propolis and the effect on growth inhibition of colon cancer cells*. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, **2009**, 130-135 .

[5] ENGELSDORP,D.V; MEIXNER,M.D. *A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them*. Journal of Invertebrate Pathology ,**2010**, S80–S95

[6] WILKINSON, D;SMITH, G.C. *A model of the mite parasite, Varroa destractor, on honeybees (Apis mellifera)to investigate parameters important to mite population growth* . Ecological Modelling ,**2002**, 263–275.

[7]CONTZEN,C ;GAREDEW,A ;LAMPRECHT,I ;SCHMOLZ,E . *Calorimetrical and biochemical investigations on the influence of the parasitic mite Varroa destructor on the development of honeybee brood* . Thermochimica Acta, **2004**, 115-121.

[8]STEVENSON,M.A;BENARD,H; BOLGER, P; MORRIS, R.S. *Spatial epidemiology of the Asian honey bee mite (Varroa destructor) in the North Island of New Zealand* . Preventive Veterinary Medicine ,**2005**, 241–252 .

[9]WALLNER, K. *Varroacides and their residues in bee products*. Apidologie ,**1999**, 235-248.

[10] NICOLETTE,W.M;BUREN.V;MARIEN ,J ;VALHUIS , H .H .W;OUDEJANS R .C.H. M.. *Residuis in Beewax and hony of perizin an acaricide to combat the Mite Varroa Jacobsoni Oud (Acari:Mesostigmata)*. Environ, Entomal, 21,4 ,**1992** , 860-865.

[11] BOGDANOV,S;LMDAROF,A ;KILCHENMANN ,V;GERIG,L. *Ruckstande von Fluvalinate in Bienewachs*. Futter undHonig. Schweiz .Beienen Ztg ,113,**1990** ,130-134.

[12] GARCI´A, M. A; FERNA´NDEZ, M. I; MELGAR, M. J. *Contamination of honey with organophosphorus pesticides.* Bull. Environ.Contam. Toxicol. **1995**, 825-832.

[13] KARAZAFIRIS,E; MENKISSOGLU-SPIROUDI,U ;THRASYVOULOU,A. *New multiresidue method using solid-phase extraction and gas chromatography–micro-electron-capture detection for pesticide residues analysis in royal jelly*. Journal of Chromatography A, **2008**, 17-21 .

[14]FERNA´ NDEZ-MUIN ˜O ,M.A;SANCHO,M.T;SIMAL- GA´NDARA,J ;CREUS-VIDAL-J.M; HUIDOBRO,J.F ;SIMAL-LOZANO.J. *Acaricide residues in honeys from Galicia(N.W.Spain)*.Journal –of-Food-Protection, **1997**,78-80.

[15] AL-RIFAI, J;AKEEL, N. *Determination of pesticide residues in imported and locally produced honey in Jordan.* Journal of Apicultural Research,**1997**,155- 161.

[16] LJUBA, M ;JANEZ, P.*Coumaphos and amitraz reasidues in Slovenian honey*. Apiacta,**2003**,54-57.

[17]KORTA,E;BAKKALI,A;BERRUETA,L.A;GALLO,B;VICENTE,F;BOGDANOV,S. *Determination of amitraz and other acaricide residues in beeswax.* Analytica Chimica Acta ,**2003**, 97-103.

[18]FRISON,S; BREITKREITZ,W;CURRIE ,R ;NELSON,D;SPORNS,P. *The analysis of fluvalinate in beewax using GC/MS*.Food-Research-International, **1999**,35-41.

[19] BOGDANOV,S;KILCHENMANN,V;LMDAROF,A .*Acaricide residues in some bee products.* Journal of apicultural research, **1998a** ,57-67.

[20] BOGDANOV,S; LMDAROF,A ;KILCHENMANN,V. *Residues in wax and honey after Apilife VAR treatment* .Apidologie , 29, **1998b** , 513-524.

[21] PAULINO DE PINHO,G;NEVES,A. A;LOPES RIBEIRO DE QUEIROZ,M.E; SILVERIO,F.O. *Optimization of the liquid–liquid extraction method and low temperature purification (LLE–LTP) for pesticide residue analysis in honey samples by gas chromatography* . Food Control ,**2010**, 1307–1311.

[22]RIAL-OTERO,R;GASPAR,E.M;MOURA,I;CAPELO, J.L. *Gas chromatography mass spectrometry determination of acaricides from honey after a new fast ultrasonic - based solid phase micro-extraction sample treatment* . Talanta, 71 , **2007**, 1906-1914.

[23] BRIMECOMBEA,R LIMSON,J. *Voltammetric analysis of the acaricide amitraz and its degradant, 2,4-dimethylaniline* . Talanta, **2007**, 1298-1303.

[24] JONSSON, N.N; MILLER, R.J; KEMPC, D.H ; KNOWLES, A ; ARDILA, A.E; VERRALL, R.G ; ROTHWELL, J.T. *Rotation of treatments between spinosad and amitraz for the control of Rhipicephalus (Boophilus) microplus populations with amitraz resistance* . Veterinary Parasitology ,**2010**, 157–164 .

[25] DAVEY,R.B;MHLLER,R.J ; GEORRGE,J.E .*Efficacy of amitraz applied as a dip against an amitraz-resistant strain of Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) infested on cattle§*.Veterinary Parasitology ,**2008**, 127–135 .

[26]JONSSON, N.N; HOPE,M.*Progress in the epidemiology and diagnosis of amitraz resistance in the cattle tick Boophilus microplus*. Veterinary Parasitology ,**2007**, 193–198.

[27] SHAMSIPURA,M ;HASSANB, J; SALAR-AMOLIC,J ;YAMINI ,Y.*Headspace solvent microextraction-gas chromatographic thermionic specific detector determination of amitraz in honey after hydrolysis to 2,4-dimethylaniline.* Journal of Food Composition and Analysis ,**2008**,264–270

[28]DELAY,R.L;LACOSTE,E;MEZZASALMA,T;BLOND-RIOU,F.*Pharmacokinetics of metaflumizone and amitraz in the plasma and hair of dogs following topical application* . Veterinary Parasitology ,**2007**, 251–257.

[29] HELLMANN , K;ADLER, K ; PARKER, L; PFISTER, K ; DELAY,R.L ; RUGG, D. *Evaluation of the efficacy and safety of a novel formulation of metaflumizone plus amitraz in dogs naturally infested with fleas and ticks in Europe*. Veterinary Parasitology ,**2007**,239–245.

[30] LODESANI, M .*Control strategies of varroa mites parassitologia*.Roma, 6 , 1/2 , **2004** , 277-279.

[31] Anon,. *Report of Amitraz reregistration eligibility decision (RED)*.United states environmental protection agency,**1996**,5.October. 2009, http: //www.epa.gov/ oppsrrd1/ REDs/ 0234red.pdf .

[32] ANDRAD, S. F;SANCHES, O ;TOSTES ,R .A. *Report of five cases of amitraz intoxicatio in dogs and cats*. Clinica- veterinaria, **2004**, 38-42.

[33] ARNAUDOV,V. *Efficacy of some acaricides for control of hawthorn spider mit (acari :Ttetranychidae tetranychus viennensis zacher)*.Rasteniev-dni-Nauki,40 , 2 , **2003** , 165.

[34] Anon, . *Summary Report of the seventiethe meeting of JECFA isusued* . Food and agriculture organization of the united nations,**2009**,5.October.2009. http://www .fao.org/ag/agn/agns/jecfa/JECFA70_Summary_report_final_corr.pdf.

[35] Anon,. *Summary Report(2)of Commhttee for veterinary medicinal products ,Amitraz(bees)* .The European agency for the evaluation of medicinal products, 572/99 , **1999** , 4.

[36] LIUA,Z; TANA,J; HUANGA,Z.Y ; DONGA,K. *Effect of a fluvalinate-resistance-associated sodium channel mutation from varroa mites on cockroach sodium channel sensitivity to fluvalinate, a pyrethroid insecticide*. Insect Biochemistry and Molecular Biology ,**2006**, 885–889 .

[37] ADAMCZYKA,S ; LAZARO ,R ; PEREZ-ARQUILLUEA,C ; HERRERAA ,A. .*Determination of synthetic acaricides residues in beeswax by high-performance liquid chromatography with photodiode array detector* . Analytica Chimica Acta **2007**, 95-101.

[38] MENKISSOGLU-SPIROUDI,U ;FOTOPOULOU, A.ED;ALBANIS , T.A . *Matrix effect in gas chromatographic detemination of insecticides and fungicides in vegetables* . International journal - of- environmental -Analytical – chemistry, 1/3 , 84 , **2004** , 27-15.

[39]ABANOWSKI,G ;SOIKA, G;CHAANSKA,A .*The effectiveness of novel pesticides against pests on ornamental plants*. Zeszyty-naukowe -instytutu -sadownictwa-I-kwiaciarstwa-w-skierniewicach , 11 , **2003** , 109-99.

[40]YANG-GUOSHENG ; PAVRILLA-VAZQUEZ, P ;GARRIDO-FRENICH , A . ;MARTINEZ-VIDAL, J. L ;ABOUL-ENEIN , H.Y.*Separation and simultaneous determination of enantiomers of tou -fluvalinate and permethrin in drinking warter*.Chromatographia, 60 , 9/10 , **2004** , 523-26.

[41] ESTEVE-TURRILLAS;AMAN, C.S;PASTOR,A;GUARDIA,M-de-la. *Microwave - assisted extraction of pyrethroid insecticides from soil*. Analytica-chimica-Acta, 522 , 1 , **2004** , 7378.

[42] BLASCO,C; FERNAÄ NDEZ,M ; PENA,A ; LINO,C; SILVEIRA, I ; FONT,G ; PICOÄ,Y . *Assessment of Pesticide Residues in Honey Samples from Portugal and Spain* . Journal of agricultural and food chemistry, **2003**, 8132-8138.

[43] RISSATO,S.R ; GALHIANE, M.S; DE ALMEIDA,M.V ; GERENUTTI, M; APON,B.M . *Multiresidue determination of pesticides in honey samples by gas chromatography–mass spectrometry and application in environmental contamination* . Analytical, Nutritional and Clinical Methods. Food Chemistry ,**2007**, 1719–1726 .

[44] TSIGOURI, A; MENKISSOGLU - SPIROUDI, U; THRASYVOULOU, A; DIAMANTIDIS , G. *Fluvalinate residues in greek honey and beeswax.* Apiacta , 38 , **2003** , 50-53.

[45] JIMENEZ, J.J. ;BERNAL, J.L. ;DEL NOZAL, M.J ;ALONSO, C. *Liquid–liquid extraction followed by solid-phase extraction for the determination of lipophilic pesticides in beeswax by gas chromatography–electron-capture detection and matrix - matched calibration*. Journal of chromatography A.1048 , **2004** , 89-97.

[46] NERI, B ;UBALDI ,A ;BARCHI ,D ;LULLO, A. DI ;COZZANI,R. *Determination of residues of fluvalinate in honey.* Industrie - Alimentari, 31 , 307, **1992** , 748-750.

[47] Anon,. *Report of Proceedings of third Caribbean beekeeping congress*. Jamaican society for agricultural sciences ,**2002**,5.October. 2009.http://www.moa. gov.jm/ agents/ data/carib_beekeeping_congress_3rd.pdf .

[48] MARTEL, A.C; ZEGGANE,S. *Determination of acaricides in honey by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection* . Journal of Chromatography A, **2002**,173–180.

[49]ÇOBANOĞLU,S;TÜZE,G.*Determination of Amitraz (Varroaset) Residue in Honey by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. Tarim bglgmlerg derggsg, **2008**, 169-174.

[50] JIMENEZ, J. J ; BERNAL ,J. L; DEL NOZAL, M. J; ALONSO, C. *Extraction and clean-up methods for the determination of amitraz total residues in beeswax by gas chromatography with electron capture detection* . Analytica Chimica Acta, **2004**, 271-278 .

[51] ESTEP,C.B;MENON, G.N;WILLIAMS ,H.E;COLE,A.C. *Chlrinated hydrocarbon insecticide residues in Tennesses honny and beeswax* . Bull.Environ. Contam. Toxic, 17 ,**1977**, 168-174.

[52] CEK,J.L ; SEKYRA, M; NOVOTN,A.R ; SOVA,E.V ; TITERA,D ; VESELY,V . *Solid phase microextraction and gas chromatography with ion trap detector (GC-ITD) analysis of amitraz residues in beeswax after hydrolysis to 2,4-dimethylaniline.* Analytica Chimica Acta ,**2006**, 40-44.

[53] TSIGOURI ,A.D; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U; THRASYVOULOU,A . *Study of tau-fluvalinate persistence in honey*. Pest Management Science, **2001** , 467-471.

[54] HAOUAR ,M ;REY , J. *Le fluvalinate appliqué sur pommiers en pleine floraison: Contomination des abeilles butineuses et des produits de la ruche* .Agronmie, 2 , **1989** , 133-137.