

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΚΡΗΤΗΣ

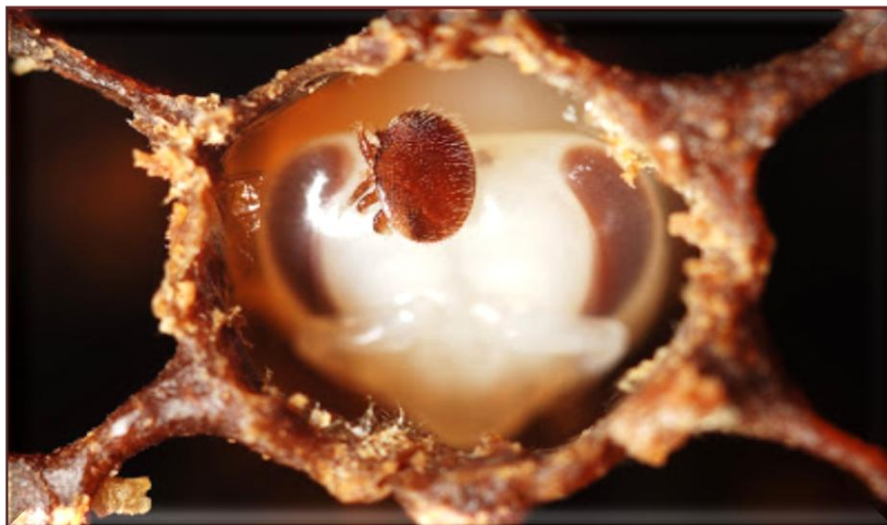
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ
ΓΕΩΠΟΝΩΝ



TECHNOLOGICAL
EDUCATIONAL
INSTITUTE of CRETE
SCHOOL of AGRICULTURE
FOOD AND NUTRITION
DEPARTMENT of AGRICULTURE

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Προσδιορισμός διαγνωστικών συγκεντρώσεων του πυρεθρινοειδούς tau-fluvalinate στο άκαρι *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) με βάση τη θνησιμότητα του ευαίσθητου πληθυσμού»



ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ: ΕΛΕΝΗ ΚΑΤΣΟΥΛΗ

ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: ΑΛΥΣΣΑΝΔΡΑΚΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΙΟΣ

ΑΠΡΙΛΙΟΣ 2016

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ,
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

<2015>

ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΚΑΘ. ΑΛΥΣΣΑΝΔΡΑΚΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΙΟΣ

ΚΑΘ. ΚΟΛΛΑΡΟΣ ΔΗΜΗΤΡΗΣ

ΚΑΘ. ΒΑΣΙΛΑΚΗ ΜΑΡΙΑ

**ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ ΕΛΙΑΣ ΥΠΟΤΡΟΠΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΚΑΙ
ΑΜΠΕΛΟΥ, ΤΜΗΜΑ ΑΜΠΕΛΟΥ ΛΑΧΑΝΟΚΟΜΙΑΣ ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ ΚΑΙ
ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ**

<Στην οικογένεια μου >

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διατριβή ξεκίνησε και ολοκληρώθηκε στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Ελληνικού Γεωργικού Οργανισμού Δήμητρα [ΕΛ.Γ.Ο – ΔΗΜΗΤΡΑ (ΙΕΛΥΑ ΤΑΛΑΦ)], του Ινστιτούτου Ελιάς Υποτροπικών φυτών και Αμπέλου, Τμήμα Αμπέλου Λαχανοκομίας Ανθοκομίας και Φυτοπροστασίας. Αυτή τη στιγμή που το έργο έχει ολοκληρωθεί, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου κο Αλυσσανδράκη Ελευθέριο για τη διάθεση του να με βοηθήσει καθώς και για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση του καθ'όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου η οποία μου συμπαραστάθηκε καθ'όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	4
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	5
ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ.....	7
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	8
ABSTRACT.....	10
1 <ΕΙΣΑΓΩΓΗ>.....	12
1.1 <Η Μελισσοκομία στην Ελλάδα- Βιολογία Οικολογία και Συστηματική Κατάταξη Μέλισσας>.....	12
1.1.1 <Συστηματική Κατάταξη Οικολογία και Βιολογία Μέλισσας>.....	13
1.1.2 <Η Μελισσοκομία στην Ελλάδα>.....	16
1.2 <Το άκαρι βαρρόα (<i>Varroa destructor</i>)>.....	18
1.2.1 <Γενικά>.....	18
1.2.2 <Μορφολογία>.....	19
1.2.3 <Βιολογικός κύκλος>.....	21
1.3 <Βαρροϊκή ακαρίαση>.....	24
1.3.1 <Διάδοση-Προσβολή>.....	24
1.3.2 <Παθογένεια>.....	26
1.3.3 <Συμπτώματα>.....	27
1.3.4 <Αντιμετώπιση>.....	29
1.3.4.1 <Μη χημικές μέθοδοι καταπολέμησης>.....	30
1.3.4.2 <Χημικές μέθοδοι καταπολέμησης>.....	31
1.4 <Ανθεκτικότητα του βαρρόα στα ακαρεοκτόνα>.....	33
1.4.1 <Ιστορικό ανάπτυξης ανθεκτικότητας>.....	33

1.4.2 <Ανάπτυξη και μηχανισμοί ανθεκτικότητας>.....	34
1.4.3 <Μέτρα ελέγχου ανθεκτικότητας>.....	35
1.5 <Σκοπός πτυχιακής εργασίας>.....	36
2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	37
2.1 <Συλλογή πληθυσμών βαρρόα>.....	37
2.2 <Φυτοπροστατευτικά προϊόντα>.....	39
2.3 <Τοξικολογικές βιοδοκιμές ευαίσθητου πληθυσμού>.....	39
2.4 <Τοξικολογικές βιοδοκιμές φυσικών πληθυσμών>.....	40
2.5 <Συσχέτιση αποτελεσμάτων με ιστορικό καταπολέμησης>.....	41
2.6 <Στατιστική ανάλυση>.....	42
3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	43
3.1 <Διαγνωστικές συγκεντρώσεις ευαίσθητου πληθυσμού>.....	43
3.2 <Φυσικοί πληθυσμοί>.....	45
3.3 <Συσχέτιση αποτελεσμάτων με το ιστορικό καταπολέμησης των πληθυσμών>.....	47
4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	50
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	52

ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ

Πίνακας 1: Οι συντομεύσεις που χρησιμοποιούνται μέσα στο κείμενο και στις Εικόνες / Σχήματα

Σύντμηση	Πλήρες όνομα
<i>K.α</i>	<i>Και άλλα</i>
<i>Λ.χ</i>	<i>Λόγου χάρη</i>
<i>Σ.Υ</i>	<i>Σχετική υγρασία</i>
<i>T</i>	<i>Θερμοκρασία</i>
<i>Na⁺</i>	<i>Κατιόν νατρίου</i>
<i>K⁺</i>	<i>Κατιόν καλίου</i>

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το άκαρι βαρρόα (*Varroa destructor* Anderson & Trueman, Acari: Varroidae) είναι ένα σοβαρό παρασιτικό άκαρι το οποίο έχει ως αποκλειστικό ξενιστή τη μέλισσα και θεωρείται ως το σοβαρότερο παράσιτό της παγκοσμίως. Το άκαρι προκαλεί τη βαρροϊκή ακαρίαση που αποτελεί σήμερα το σοβαρότερο πρόβλημα των μελισσοσμηνών των ευρωπαϊκών φυλών της μέλισσας *Apis mellifera*, ενώ χαρακτηρίζεται ως το σοβαρότερο πρόβλημα της παγκόσμιας μελισσοκομίας. Το άκαρι προσβάλλει τα μέλισσα παρασιτώντας τόσο πάνω σε ενήλικες μέλισσες όσο και στα ατελή στάδια των μελισσών απομυζώντας την αιμολέμφο τους και μειώνοντας τη διάρκεια ζωής τους, ενώ είναι φορέας σοβαρών ιώσεων που ζημιώνουν περαιτέρω τις μέλισσες. Αποτέλεσμα της προσβολής είναι η δραστική μείωση του αριθμού των μελισσών στην κυψέλη, ενώ, εάν δεν ληφθούν συστηματικά μέτρα αντιμετώπισης του, οι αποικίες των μελισσών μπορεί να καταρρεύσουν μέσα σε 2 με 3 χρόνια. Λόγω λοιπόν της σπουδαιότητάς του η αντιμετώπιση του αποτελεί το σοβαρότερο ζήτημα για τους μελισσοκόμους σε παγκόσμιο επίπεδο. Στη χώρα μας το άκαρι εντοπίστηκε για πρώτη φορά το 1978 στην περιοχή του Έβρου, απειλώντας την ελληνική μελισσοκομία. Από την εμφάνιση του και έπειτα τη βάση για την αντιμετώπιση του αποτέλεσαν τα συνθετικά ακαρεοκτόνα όπου από το 1990 και μετά γινόταν σχεδόν αποκλειστική χρήση του σκευάσματος Manrik με δραστική ουσία το tau-fluvalinate. Η δραστική αυτή ουσία χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα σε παγκόσμια κλίμακα εξαιτίας ότι έδινε αποτελεσματικότητα σχεδόν 100%, αυτό είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη ανθεκτικότητας τόσο στη χώρα μας όσο και διεθνώς.

Σήμερα οι περισσότεροι μελισσοκόμοι για να αντιμετωπίσουν το άκαρι κάνουν χρήση τόσο ακαρεοκτόνων όσο και εναλλακτικών τρόπων καταπολέμησης με τη χρήση των ακαρεοκτόνων να είναι ευρύτερα διαδεδομένη, κυρίως επειδή είναι εύκολη η εφαρμογή, έχουν σχετικά χαμηλό κόστος και δεν χρειάζεται λεπτομερής γνώση της βιολογίας του βαρρόα. Τα πιο διαδεδομένα ακαρεοκτόνα που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση του βαρρόα είναι το οργανοφωσφορικό coumaphos, τα πυρεθρινοειδή tau-fluvalinate και flumethrin, όπως και το φορμαμιδινικό amitraz. Η αστοχία όμως των εφαρμογών πολλές φορές οφείλεται είτε σε λανθασμένη εφαρμογή είτε επειδή τα ακάρεα έχουν αναπτύξει

ανθεκτικότητα κυρίως στα πυρεθρινοειδή ακαρεοκτόνα.

Πρώτη φορά έγινε λόγος για ανάπτυξη ανθεκτικότητας του βαρρόα το 1992 σε αποικίες μελισσών στην Λομβαρδία της Ιταλίας όπου και αφορούσε τη δραστική ουσία tau-fluvalinate. Έπειτα σε μία δεκαετία αναφέρονται ανθεκτικοί πληθυσμοί στα πυρεθρινοειδή στην Ευρώπη και τη Μεσόγειο, καθώς επίσης και τη Β. Αμερική. Στη χώρα μας οι πρώτες αναφορές για ανάπτυξη ανθεκτικότητας του βαρρόα έγιναν το 1998 για τη δραστική ουσία tau-fluvalinate, όπου από τότε υπάρχουν συνεχόμενες αναφορές κατά περιοχές, χωρίς όμως να υπάρχει τεκμηρίωση βασισμένη σε τοξικολογικές βιοδοκιμές στο εργαστήριο.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε για πρώτη φορά στη χώρα μας η ευαισθησία του βαρρόα στο πυρεθρινοειδές ακαρεοκτόνο tau-fluvalinate με βιοδοκιμές που έγιναν σε ευαίσθητο πληθυσμό του ακάρεος ο οποίος προερχόταν από το μελισσοκομείο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Για τις βιοδοκιμές ακολουθήθηκε η μέθοδος που αφορούσε τη χρήση γυάλινων διαφανών φιαλιδίων όγκου 4 mL των οποίων η επιφάνεια έφερε επιφανειακή στρώση (φιλμ) με τη δραστική ουσία, μέσα στα οποία τοποθετήθηκαν τα βαρρόα που συλλέγονταν από τις κηρήθρες όπου έπειτα από τρεις ώρες λαμβάνονταν η μέτρηση. Σκοπός ήταν αρχικά να προσδιοριστεί μια διαγνωστική δόση θνησιμότητας στον ευαίσθητο πληθυσμό, η οποία θα χρησιμοποιούταν αργότερα για τον έλεγχο ύπαρξης ανθεκτικότητας σε τρεις φυσικούς πληθυσμούς οι οποίοι είχαν συλλεχθεί από διαφορετικά μελισσοκομεία κοντά στην πόλη του Ηρακλείου στα οποία γίνεται χρήση συνθετικών ακαρεοκτόνων. Σκοπός ήταν να γίνει και συσχετισμός των αποτελεσμάτων που προέκυψαν για την ύπαρξη ή όχι ανθεκτικότητας για τους φυσικούς πληθυσμούς με το ιστορικό καταπολέμησης τους καθώς κάποιες φορές η ανάπτυξη ανθεκτικότητας συνδέεται άμεσα με τις εφαρμογές ακαρεοκτόνων από πλευράς μελισσοκόμων.

ABSTRACT

The Varroa mite (*Varroa destructor* Anderson & Trueman, Acari: Varroidae) is an important parasitic mite which has as exclusive host the honey bee *Apis mellifera*. It is considered as the most serious parasite of the western honey bee worldwide. The Varroa mite causes the disease of Varroosis which consists now the most serious disease of European breeds of *Apis mellifera* bees and is considered the most serious problem of global beekeeping. The mite infects beehives, parasitizing on adult bees as well as the imperfect stages, sucking their hemolymph and reducing their lifespan, while is a serious viral vector which further harms the bees. The infestation results to the drastically reduction of the number of bees in the hive. If no measures are taken to control the mite, the colonies of bees will collapse within 2-3 years. Because of its importance, the control of *Varroa* mite is the most serious problem for beekeepers worldwide. In our country the Varroa mite appeared for first time in 1978 in the region of Evros, threatening the Greek beekeeping. Ever since the appearance of the mite, the basis for the control was the synthetic acaricides; after 1990 the use of Mavrik formulation became almost exclusive, with the active substance tau-fluvalinate. This active substance was widely used worldwide because it gave almost 100% efficiency, and this has as a result the development of resistance both in our country and internationally.

Today most beekeepers use acaricides to control the *Varroa* mite. The use of acaricides is more widespread, mainly because it is easy to apply, have a relatively low cost and does not require detailed knowledge of the biology of *Varroa*. The most common acaricides used to control the *Varroa* mite are the organophosphate coumaphos, the pyrethroids tau-fluvalinate and flumethrin and the formamidine amitraz. But the failure of the applications is often due to either misapplication or resistance development, mainly in the pyrethroid acaricides.

Resistance of *Varroa* was first mentioned in 1992 on bee colonies in Lombardy in Italy and was for the active substance tau-fluvalinate. Within ten years, resistant populations

to pyrethroids were reported in Europe, Mediterranean area and North America. In our country the first report for development of resistance for *Varroa* mite dates back to 1998 and it regarded tau-fluvalinate. Ever since there are continuous reports from different areas of Greece, but they are not based on toxicological bioassays in the laboratory.

In the present thesis, the sensitivity to the pyrethroid tau-fluvalinate of susceptible population of the *Varroa* mite was investigated for the first time in our country. Bioassays were conducted using susceptible mite populations from the apiary of the Agricultural University of Athens. The method followed involved the use of transparent 4 mL glass vials, whose internal surface was covered with the active substance. Then, mites collected from honeycombs were introduced and the measurement was taken three hours later. The aim was initially to determine a diagnostic concentration for the mortality of the susceptible population, which was later used on natural populations around Heraklion prefecture to check for resistance. The results were the correlated with the history of treatments as the development of resistance is directly linked to the applications of miticides by the beekeepers.

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 <Η Μελισσοκομία στην Ελλάδα- Βιολογία, Οικολογία και Συστηματική κατάταξη μέλισσας >

Η σχέση του ανθρώπου με τη μέλισσα χάνεται στα βάθη των αιώνων εφόσον η μέλισσα αποτέλεσε και συνεχίζει να αποτελεί ένα σπουδαίο είδος για τον πλανήτη μας. Η σπουδαιότητά της σχετίζεται με τα διάφορα προϊόντα που μπορεί να παράξει το έντομο στην κυψέλη και τα οποία είναι πολύ χρήσιμα και ευεργετικά για τον άνθρωπο, αλλά και στη συνεισφορά στη φυτική παραγωγή μέσω της επικονίασης. Έτσι, λοιπόν, η σπουδαιότητα αυτού του εντόμου δημιούργησε στον άνθρωπο την ανάγκη να κατανοήσει καλύτερα τους διάφορους μηχανισμούς του εντόμου που σχετίζονται με τη βιολογία και οικολογία του, αλλά και την ανάγκη εκμετάλλευσης των προϊόντων της κυψέλης προς όφελος του οδηγώντας σταδιακά στη δημιουργία και εξέλιξη της επιστήμης της μελισσοκομίας, της οποίας κύριο αντικείμενο μελέτης είναι η βιολογία και η οικολογία της μέλισσας καθώς και οι διάφοροι τρόποι εκμετάλλευσης των προϊόντων της κυψέλης προς όφελος του ανθρώπου. Παρακάτω γίνεται αναφορά σε θέματα που αφορούν την επιστήμη της μελισσοκομίας αλλά και μια

σύντομη περιγραφή της μέλισσας.

1.1.1 <Συστηματική κατάταξη, Οικολογία και Βιολογία Μέλισσας>

Η κοινή μέλισσα είναι έντομο και η συστηματική της κατάταξη (πίνακας 1.1) είναι:

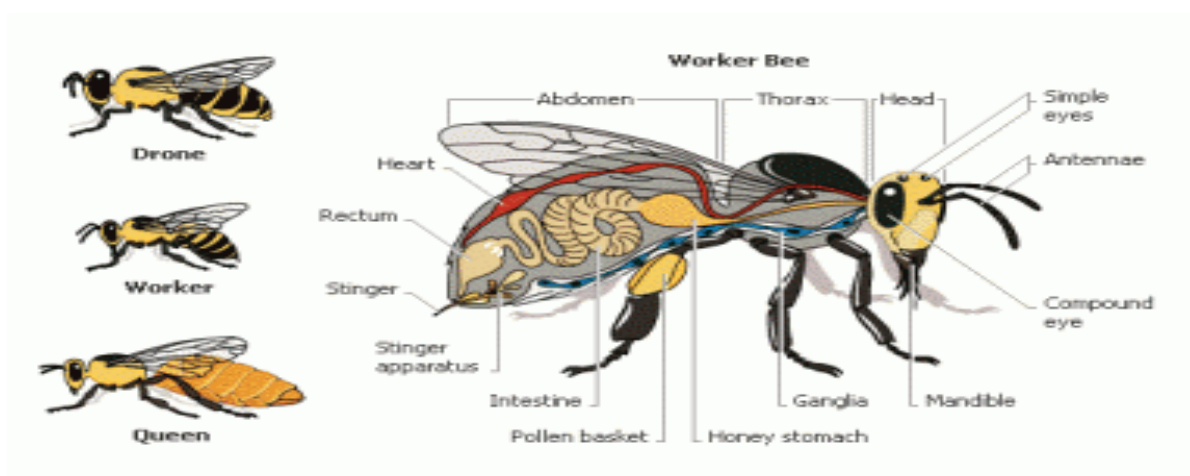
Πίνακας 1.1: Συστηματική κατάταξη κοινής μέλισσας

Βασίλειο	Ζώα (Animalia)
Φύλο	Αρθρόποδα (Arthropoda)
Κλάση	Έντομα (Insecta)
Τάξη	Υμενόπτερα (Hymenoptera)
Οικογένεια	Apidae
Γένος	Apis
Είδος	Mellifera Linnaeus

Σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία στο γένος *Apis* υπάγονται 9 είδη (Otis, 1991), ενώ είναι γνωστό ότι η διασπορά της κοινής μέλισσας ξεκίνησε από τη χερσόνησο της Ινδίας εφόσον στην ίδια περιοχή βρίσκονται άλλα 8 είδη του γένους *Apis* (Αλυσσανδράκης, 2007). Το είδος *Apis mellifera* αποτελεί το πιο διαδεδομένο είδος στον κόσμο, ενώ ανάλογα με τις μορφολογικές διαφορές στο είδος *Apis mellifera* έχουν περιγράψει υποπληθυσμοί που χαρακτηρίζονται ως φυλές. Στη χώρα μας έχουμε τέσσερις φυλές σύμφωνα με τη συστηματική κατάταξη του Ruttner, τις *A. mellifera macedonica*, *A. mellifera carnica*, *A. mellifera cecropia* και *A. mellifera adami*, όπου σήμερα η μακεδονική φυλή έχει καταλάβει σχεδόν όλη τη χώρα (Αλυσσανδράκης, 2007).

Από άποψη μορφολογίας (Εικ. 1) το σώμα της μέλισσας χωρίζεται σε τρία ευδιάκριτα μέρη, όπου στο κάθε μέρος από αυτά βρίσκονται διάφορα όργανα (Αλυσσανδράκης, 2007). Τα μέρη λοιπόν που αποτελείται το σώμα της μέλισσας είναι η κεφαλή, η οποία περιλαμβάνει τους οφθαλμούς (σύνθετοι και απλοί), τις κεραίες (γονατοειδείς-νηματοειδείς) και τα στοματικά μόρια: άνω και κάτω χείλος, δύο άνω γνάθοι, δύο κάτω γνάθοι και ο υποφάρυγγας, ενώ ο τύπος των στοματικών μορίων είναι λείχων –μυζητικός. Το επόμενο μέρος του σώματος της μέλισσας είναι ο θώρακας ο οποίος αποτελείται από 3 μέρη και το καθένα από τα οποία φέρει ένα ζεύγος ποδιών, ενώ το μεσαίο και τελευταίο μέρος φέρουν από ένα ζεύγος πτερύγων (μεμβρανοειδούς τύπου). Το τρίτο μέρος του σώματος της μέλισσας είναι η κοιλιά η οποία αποτελείται από 10 κοιλιακούς δακτυλίους. Στην κοιλιά βρίσκονται το σύνολο των

εσωτερικών οργάνων της μέλισσας και το κεντρί (Αλυσσανδράκης, 2007).



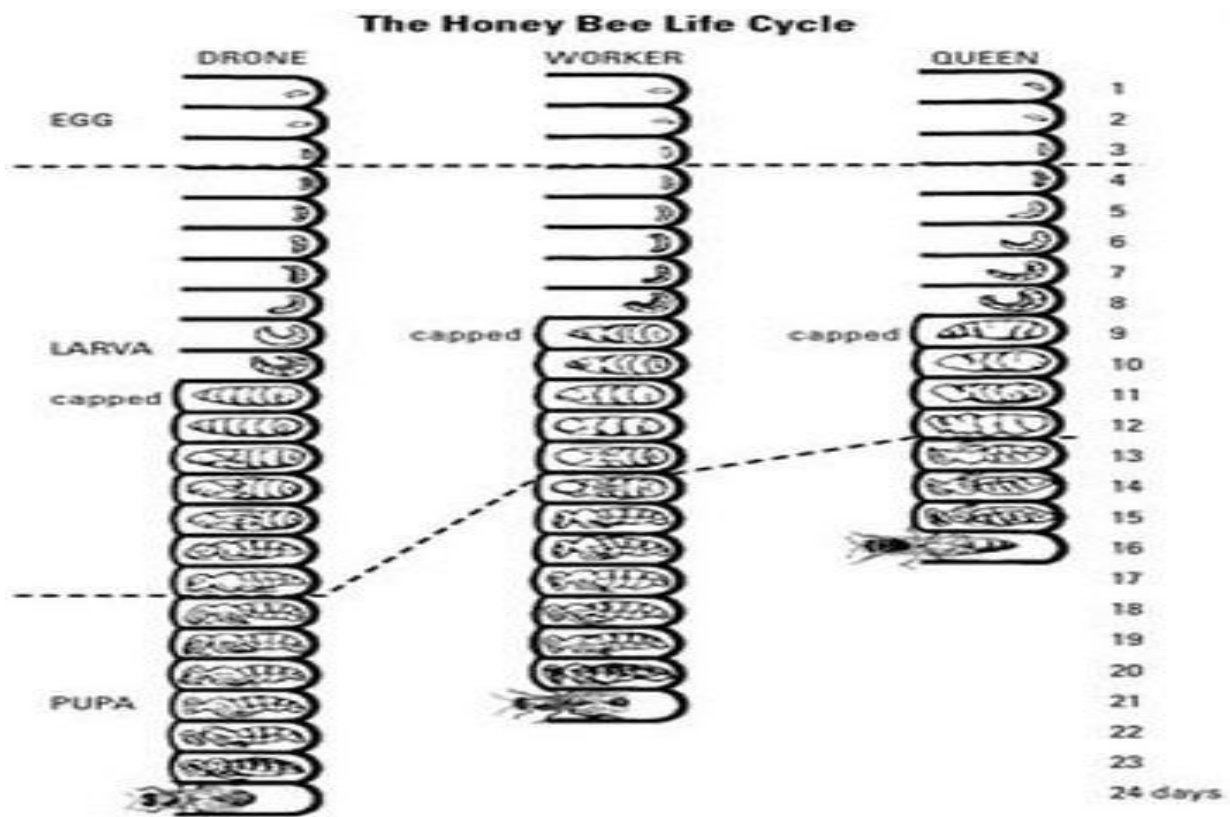
Εικόνα 1: <Η μορφολογία της μέλισσας με τις τρεις διαφορετικές μορφές που υπάρχουν στο μελίσι(www.tomelissi.wordpress.com)

Σχετικά με την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου της μέλισσας (Εικ. 2), ως ολομετάβολο έντομο διέρχεται από τα στάδια του αυγού, της προνύμφης, της πλαγγόνας έως ότου φθάσει στο στάδιο της ενήλικης μέλισσας (Αλυσσανδράκης, 2007). Στην κυψέλη, λόγω του φαινομένου του πολυμορφισμού, συναντάμε τη βασίλισσα, τις εργάτριες μέλισσες και τους κηφήνες (Εικ. 1). Οι μέρες που απαιτούνται για την ολοκλήρωση του κάθε σταδίου του βιολογικού κύκλου της μέλισσας μέχρι να γίνει ενήλικη διαφέρουν για τη κάθε μορφή. Για το στάδιο λοιπόν του αυγού απαιτούνται 3 μέρες για να εκκολαφθεί και να βγει η προνύμφη και απαιτείται το ίδιο χρονικό διάστημα και για τη βασίλισσα και για τις εργάτριες αλλά και για τους κηφήνες. Στο στάδιο της προνύμφης, η προνύμφη υπόκειται σε 5 εκδύσεις και, λίγο πριν την 5^η έκδυση, το κελί σφραγίζεται και η προνύμφη πλέκει το κουκούλι στο οποίο θα νυμφωθεί. Στο στάδιο αυτό, εάν η προνύμφη προορίζεται για βασίλισσα, τρέφεται αποκλειστικά μόνο με άφθονο βασιλικό πολτό, ενώ τρέφεται με μίγμα λίγου βασιλικού πολτού, γύρης και μελιού όταν προορίζεται για εργάτρια, ενώ οι μέρες που απαιτούνται για την ολοκλήρωση του σταδίου αυτού διαφέρουν ανάλογα τη μορφή (βασίλισσα, εργάτρια, κηφήνας) της προνύμφης. Το επόμενο στάδιο της πλαγγόνας αρχίζει από την πέμπτη έκδυση όπου αρχίζει η διαδικασία της μεταμόρφωσης του εντόμου μέσα στο κουκούλι όπου και σχηματίζονται τα διάφορα όργανα του εντόμου μέχρι να ολοκληρωθεί ο βιολογικός κύκλος του εντόμου και το ενήλικο έντομο να κόψει με τις σιαγόνες το κερί και να εξέρθει από το κελί, ενώ και σε αυτό το στάδιο οι μέρες που απαιτούνται για την ολοκλήρωση του

εξαρτώνται από τη μορφή της πλαγγόνας (Αλυσσανδράκης, 2007). Παρακάτω στο Πίνακα 1.2 φαίνονται οι μέρες που απαιτούνται για την ολοκλήρωση του κάθε σταδίου του βιολογικού κύκλου για κάθε μορφή.

Πίνακας 1.2: Ημέρες που απαιτούνται για την ανάπτυξη κάθε σταδίου στη μέλισσα (από Morse&Flottum,1985)

	ΑΥΓΟ	ΠΡΟΝΥΜΦΗ	ΠΛΑΓΓΟΝΑ	ΣΥΝΟΛΟ
ΒΑΣΙΛΙΣΣΑ	3	5,5	7,5	16
ΕΡΓΑΤΡΙΑ	3	6	12	21
ΚΗΦΗΝΑΣ	3	6,5	14,5	24



Εικόνα 2: Βιολογικός κύκλος μέλισσας και μέρες που απαιτούνται για την ολοκλήρωση κάθε μορφής (www.giatomeli.com)

1.1.2 <Η Μελισσοκομία στην Ελλάδα >

Μελισσοκομία είναι ο κτηνοτροφικός τομέας που ασχολείται με τη φροντίδα και τη διαχείριση των αποικιών των μελισσών (Παναγιώτου, 2010). Αποτελεί κλάδο της εντομολογίας και ασχολείται με τη βιολογία και οικολογία της μέλισσας καθώς και με την εκμετάλλευση του εντόμου προς όφελος του ανθρώπου. Ο κλάδος αυτός της γεωργίας στη χώρα μας υπολογίζεται ότι καλύπτει το 2,4% της αξίας της ζωικής παραγωγής και το 0,55% της συνολικής ακαθάριστης αξίας της αγροτικής παραγωγής (Παναγιώτου, 2010). Είναι ένας δυναμικός κλάδος της γεωργίας όπου συμβάλει διπλά είτε έμμεσα μέσω της διαδικασίας της επικονίασης συντελώντας σημαντικά στην αύξηση της γεωργικής παραγωγής (Παναγιώτου, 2010) κυρίως λόγω του ενεργού ρόλου των μελισσών στην γονιμοποίηση των φυτών, όπου δρουν ως μηχανικοί μεταφορείς της γύρης των φυτών βοηθώντας στην επικονίαση του 60% με 70% των φυτικών ειδών, είτε άμεσα λόγω των προϊόντων των οποίων παράγει η μέλισσα στην κυψέλη τα οποία λαμβάνει και εκμεταλλεύεται ο άνθρωπος. Τα προϊόντα λοιπόν τα οποία συλλέγει και εκμεταλλεύεται ο άνθρωπος από την κυψέλη είναι το μέλι, η γύρη, ο βασιλικός πολτός, η πρόπολη, το κερί και το δηλητήριο της μέλισσας (Αλυσσανδράκης, 2007). Από τα παραπάνω προϊόντα το μέλι είναι εκείνο το προϊόν το οποίο μας έρχεται πρώτο στο νου όταν αναφερόμαστε σε μελισσοκομικά προϊόντα και το οποίο είναι γνωστό ως μια ωφέλιμη και άμεσα αφομοιώσιμη τροφή με μεγάλη θρεπτική αξία. Σήμερα παγκοσμίως παράγονται 1,5 εκατομμύρια τόνοι μελιού από 65 εκατομμύρια κυψέλες με την Ευρωπαϊκή Ένωση να παράγει 200 χιλιάδες τόνους ετησίως και να καλύπτει το 13% της παγκόσμιας παραγωγής μελιού και την Ελλάδα να παράγει 17 χιλιάδες τόνους ετησίως και κατατάσσεται 3^η στην Ευρωπαϊκή Ένωση και 10^η παγκοσμίως στην παραγωγή μελιού (Παναγιώτου, 2010). Η γύρη την οποία συλλέγουν οι μέλισσες από τα φυτά αποτελεί τροφή για τις ίδιες αλλά και για το γόνο (www.melissokomia.com), ενώ είναι ένα άλλο μελισσοκομικό προϊόν το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τον άνθρωπο ως διατροφικό συμπλήρωμα αποφέροντας πολλά θρεπτικά συστατικά στον ανθρώπινο οργανισμό (Αλυσσανδράκης, 2007). Ο βασιλικός πολτός είναι μια έκκριση των υποφαρυγγικών αδένων των νεαρών εργατριών και αποτελεί τροφή για τις προνύμφες που προορίζονται για βασίλισσες, ενώ χαρακτηρίζεται ως τροφή θρεπτική και ευεργετική για τον ανθρώπινο οργανισμό αφού αποδεδειγμένα βοηθά στη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, στην αύξηση της διανοητικής και σωματικής δύναμης κ.ά. Η πρόπολη είναι ένα μίγμα από κερί (30%), ρητίνες και κόμμεα (50-55%), αιθέρια έλαια (10-15%) και γύρη (5%) την οποία χρησιμοποιούν οι μέλισσες στα εσωτερικά

τοιχώματα της κυψέλης για να κλείνουν σχισμές και χαραμάδες και για να καλύπτουν μεγάλα ζώα που θανάτωσαν εντός της κυψέλης και δεν μπορούν να τα μεταφέρουν έξω, ενώ η δράση της πρόπολης οφείλεται στην παρουσία πολλών ουσιών με αντιοξειδωτική και αντιβακτηριακή δράση. Το κερύ παράγεται από 4 ζεύγη κηρογόνων αδένων των νεαρών εργατριών και χρησιμοποιείται έπειτα από ζύμωση με εκκρίσεις των σιελογόνων αδένων για την κατασκευή κηρηθρών, αλλά και για να καλυφθεί το ώριμο μέλι για τη διατήρησή του, ενώ η χρήση του κεριού από τον άνθρωπο γίνεται για την παραγωγή καλλυντικών, κεριών και φύλλων κυρήθρας. Τέλος, το δηλητήριο το οποίο παράγεται από τον αδένιο του δηλητηριού και αποθηκεύεται στο σάκο του δηλητηριού είναι ένα χρήσιμο προϊόν για την θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας αλλά και για αποευαισθητοποίηση ατόμων αλλεργικών στο κέντρισμα της μέλισσας (Αλυσσανδράκης, 2007).

Ο κλάδος όμως της μελισσοκομίας, παρόλη την συνεισφορά του στο τομέα της ζωικής και φυτικής παραγωγής, αντιμετωπίζει σοβαρά διαχρονικά προβλήματα που έχουν σχέση είτε με θέματα που αφορούν την ακριβή καταγραφή των μελισσοκόμων και του μελισσοκομικού πληθυσμού, την έλλειψη γνώσης των αναγκών σε κεφάλαια επένδυσης και σε τεχνολογική και εκπαιδευτική ενίσχυση καθώς και την εισαγωγή ποσοτήτων μελιού από άλλες χώρες δημιουργώντας αθέμιτο ανταγωνισμό (Παναγιώτου, 2010) είτε με θέματα που αφορούν την επιβίωση των μελισσών από διάφορες αντιξοότητες (Αλυσσανδράκης, 2007) και τα οποία μπορούν να προκαλέσουν τη μείωση ή το θάνατο των μελισσοσμηνών. Τέτοια θέματα αφορούν τις καιρικές συνθήκες (χαμηλές ή υψηλές θερμοκρασίες, έλλειψη τροφής κ.ά.), ανθρωπογενείς παρεμβάσεις (ψεκασμοί με διάφορα φυτοπροστατευτικά προϊόντα προκαλώντας δηλητηριάσεις) καθώς και διάφορα παράσιτα που προσβάλλουν τις μέλισσες, όπως διάφορες ασθένειες με σημαντικότερη την ασθένεια της αμερικάνικης σηψιγονίας που προκαλείται από το βακτήριο *Paenibacillus larvae* και προσβάλλει τη μέλισσα στο στάδιο της προνύμφης, αλλά και εχθρούς όπως το άκαρι βαρρόα που δημιουργεί το πρόβλημα της βαρροϊκής ακαρίασης ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα της ελληνικής και παγκόσμιας μελισσοκομίας (Αλυσσανδράκης, 2007).

1.2 <Το άκαρι Βαρρόα (*Varroa destructor*) >

1.2.1 <Γενικά>

Το άκαρι βαρρόα (Εικ. 3) (*Varroa destructor* Anderson & Trueman, Acari: Varroidae) έχει χαρακτηριστεί ως ένα σημαντικό παρασιτικό άκαρι το οποίο έχει ως αποκλειστικό ξενιστή τη μέλισσα και θεωρείται το σοβαρότερο παράσιτο της παγκοσμίως (Rosenkranz *et al.*, 2010). Τόπος καταγωγής του είναι η Νοτιοδυτική Ασία εκεί όπου ζει ο κατ'εξοχήν ξενιστής του, η ασιατική μέλισσα (*Apis cerana*). Για πρώτη φορά παρατηρήθηκε το 1904 στην ασιατική μέλισσα από όπου μεταπήδησε στο πρώτο μισό του περασμένου



Εικόνα 3: Ακμαίο θηλυκό βαρρόα κάτω και ακμαίο αρσενικό βαρρόα πάνω (www.teca.fao.org)

αιώνα στη δυτική μέλισσα (*Apis mellifera*) όταν μέλισσες αυτού του είδους μεταφέρθηκαν στη ανατολική Ρωσία και την Άπω Ανατολή. Στη λεκάνη της Μεσογείου έφθασε τη δεκαετία του 1970 και στη χώρα μας το 1978 στην περιοχή του Έβρου όπου γρήγορα διαδόθηκε σε ολόκληρη τη χώρα εξαιτίας της επικράτησης της μακεδονικής φυλής που είναι ευαίσθητη στις μολύνσεις, αλλά και λόγω της εξάπλωσης της νομαδικής μελισσοκομίας. Το άκαρι αυτό προκαλεί τη βαρροϊκή ακαρίαση, η οποία αποτελεί ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα της μελισσοκομίας στη χώρα μας αλλά και παγκοσμίως (Αλυσσανδράκης, 2007).

Το άκαρι προσβάλλει τόσο τα ακμαία όσο και τα ατελή στάδια της μέλισσας, προκαλώντας σοβαρά προβλήματα στην κυψέλη λόγω μείωσης του χρόνου ζωής της μέλισσας εξαιτίας του παρασιτισμού του άκαρι το οποίο τρέφεται από την αιμολέμφο της με αποτέλεσμα τη σταδιακή της εξασθένηση. Επιπλέον, το άκαρι είναι φορέας σοβαρών ιώσεων (Le Conte *et al.*, 2010), όπως ο ιός των παραμορφωμένων φτερών (DWV), οι οποίες επιβαρύνουν περεταίρω τις μέλισσες στην κυψέλη με συνέπεια την κατάρρευση τους. Ενώ πλέον το βαρρόα θεωρείται ένα από τα κύρια αίτια για το σύνδρομο κατάρρευσης των μελισσών (Colony Collapse Disorder), φαινόμενο κατά το οποίο χάνεται μεγάλος αριθμός μελισσών παγκοσμίως Συμπερασματικά λοιπόν, η απομύζηση της αιμολέμφου της μέλισσας από το άκαρι αλλά και το γεγονός ότι το άκαρι μπορεί να μεταδώσει σοβαρές ιώσεις στη

μέλισσα το καθιστά ένα από τους σοβαρότερους εχθρούς της μέλισσας εφόσον και εάν δεν ληφθούν συστηματικά μέτρα αντιμετώπισης του μπορεί να οδηγήσει σταδιακά στην κατάρρευση του μελισσιού μέσα σε 2-3 χρόνια με συνέπεια τη μείωση της παραγωγής μελισσοκομικών προϊόντων αλλά και δημιουργία σοβαρών προβλημάτων στην παραγωγή φυτικών προϊόντων λόγω ότι οι μέλισσες αποτελούν το κυριότερο επικονιαστή φυτικών ειδών παγκοσμίως.

1.2.2 < Μορφολογία >

Το άκαρι βαρρόα παρουσιάζει διμορφισμό φύλων (Αεράκη, 2006) με αποτέλεσμα τα θηλυκά και αρσενικά άτομα να παρουσιάζουν μεταξύ τους αρκετές μορφολογικές διαφορές. Γενικά το σώμα του θηλυκού στα διάφορα στάδια ανάπτυξης του είναι άριστα προσαρμοσμένο στον παρασιτικό τρόπο ζωής του πάνω στη μέλισσα και το γόνο, ενώ το αρσενικό του οποίου το σώμα είναι μικρότερο από του θηλυκού ζει πολύ λίγο όσο είναι απαραίτητο για να γονιμοποιήσει το θηλυκό.

Παρακάτω λοιπόν παρουσιάζεται η μορφολογία του ακάρεος σε όλα τα ατελή στάδια καθώς και οι μορφολογικές διαφορές ανάμεσα στα ακμαία θηλυκά και αρσενικά άτομα.

Ατελή στάδια

Τα ατελή στάδια του ακάρεος είναι το αυγό, η πρωτονύμφη και η δευτερονύμφη.

ΑΥΓΟ: Το αυγό έχει χρώμα λευκό με διαστάσεις 0,60-0,67 mm x 0,30-0,40 mm, με λεπτά τοιχώματα κάτω από τα οποία διακρίνεται το έμβρυο. Λόγω του ότι το άκαρι είναι ωοζοτόκο η εμβρυακή ανάπτυξη ξεκινά όταν ακόμη τα αυγά βρίσκονται στο μητρικό σώμα με αποτέλεσμα στα αυγά που γεννιούνται να είναι ορατές οι καταβολές των εξαρτημάτων με τα τρία ζεύγη ποδών της σχηματιζόμενης προνύμφης. Η επώαση διαρκεί περίπου δυο μέρες όπου έπειτα εξέρχονται από τα αυγά οι πρωτονύμφες οι οποίες φέρουν τέσσερα ζεύγη ποδών (The Argibusinnes management Portal, 2013).

ΠΡΩΤΟΝΥΜΦΗ: Το σώμα της θηλυκής πρωτονύμφης (Εικ. 4) είναι κυκλικό, με μήκος 0,7-0,8 mm με χρώμα λευκό και ευδιάκριτη εδρική πλάκα και τέσσερα ζεύγη ποδιών. Η αρσενική πρωτονύμφη είναι μικρότερη από την θηλυκή με διαστάσεις 0,62-0,74 mm X 0,58-0,69 mm, ενώ δεν είναι ευδιάκριτη η εδρική πλάκα. Το στάδιο αυτό διαρκεί στη θηλυκή πρωτονύμφη 4-5 ημέρες και στην αρσενική 2-3 ημέρες. Η διάκριση όμως του φύλου στο στάδιο αυτό με βάση τα εξωτερικά χαρακτηριστικά δεν είναι αξιόπιστη.

ΔΕΥΤΕΡΟΝΥΜΦΗ: Η θηλυκή δευτερονύμφη (Εικ. 4) έχει σχήμα ωοειδές και διαστάσεις 0,94-1,12 mm X 1,14-1,6 mm, με χρώμα λευκό-στιλπνό. Η διάρκεια του σταδίου είναι 1-2 ημέρες. Η αρσενική δευτερονύμφη έχει σχήμα στρογγυλό και διαστάσεις 0,74-0,88 mm X 0,8 mm, με χρώμα λευκό-στιλπνό και η διάρκεια του σταδίου αυτού είναι 1-2 ημέρες. Όσον αφορά τις διαφορές μεταξύ των δυο φύλων, το σώμα του θηλυκού είναι λιγότερο στενόμακρο από του αρσενικού ατόμου, ενώ σε σύγκριση με το μέγεθος του σώματος, τα πόδια του αρσενικού είναι πιο λεπτοφυή και μακριά σε σχέση με του θηλυκού, γνώρισμα το οποίο παραμένει και στις επόμενες φάσεις ανάπτυξης. Ένα άλλο χαρακτηριστικό το οποίο είναι εμφανές κατά την ανάπτυξη του ακάρεος είναι ότι το σώμα του αρσενικού είναι πιο οξύληκτο σε σχέση με του θηλυκού του οποίου το σώμα γίνεται σταδιακά πεπλατυσμένο ραχιοκοιλιακά έτσι ώστε το σώμα του σε προχωρημένο στάδιο ανάπτυξης της δευτερονύμφης να αποκτά τη μορφή του ενήλικου θηλυκού ακάρεος και έτσι να είναι εμφανής η διάκριση



Εικόνα 4: Πρωτονύμφη (αριστερά), δευτερονύμφη (κέντρο) και ακμαίο θηλυκό(δεξιά) του βαρρόα (www.teca.fao.org)

του από το ενήλικο αρσενικό.

Ακμαίο

ΘΗΛΥΚΟ: Το θηλυκό ακμαίο (Εικ. 5) έχει μήκος 1,1 mm και πλάτος 1,7 mm (Yu-Lun, 2008), χρώμα καστανέρυθρο, σχήμα ελλειψοειδές και σώμα ραχιοκοιλιακά πεπλατυσμένο και ελαφρά κυρτό. Είναι ορατό με γυμνό οφθαλμό και μοιάζει με μικρό καστανό λέπι. Η ραχιαία επιφάνεια καλύπτεται από σκληρό χιτίνινο θυρεό. Η κοιλιακή επιφάνεια καλύπτεται από πλάκες χιτίνης που ενώνονται μεταξύ τους με λεπτότερες μεμβράνες. Όλο του το σώμα καλύπτεται από μακριές και σκληρές τρίχες. Έχει τέσσερα ζεύγη δυνατών ποδιών τα οποία είναι κοντά και κυρτά και αποτελούνται από επτά τμήματα όπου το τελευταίο τμήμα είναι οπλισμένο με ένα είδος βεντούζας βοηθώντας το άκαρι να συγκρατείται καλά πάνω στον ξενιστή του. Από τα τέσσερα ζεύγη ποδιών το πρώτο ζεύγος εξέρχεται από την περιφέρεια του σώματος και φέρει αισθητήρια όργανα και παίζει το ρόλο των



Εικόνα 5: Ραχιαία (αριστερά) και κοιλιακή (δεξιά) επιφάνεια του ακμαίου θηλυκού βαρρόα (www.teca.fao.org)

κεραιών. Τα στοματικά μέρη βρίσκονται κρυμμένα κάτω από το σώμα του και αποτελούνται από δυο ποδοπροσακτρίδες και δυο λεπτές χηληκεραίες και είναι προσαρμοσμένες ώστε να τρυπούν και να μυζούν (Αεράκη, 2006). Γενικότερα το

σχήμα του σώματος του ακάρεος είναι προσαρμοσμένο στα διάφορα στάδια της ζωής (The Argibusinnes management Portal,2013) του σύμφωνα με τον παρασιτικό τρόπο ζωής του πάνω στη μέλισσα όπως για παράδειγμα οι βεντούζες των ποδιών του και οι μακριές τρίχες που του επιτρέπουν να συγκρατείται ή να μετακινείται σταθερά πάνω στον ξενιστή του.

ΑΡΣΕΝΙΚΟ: Το αρσενικό ακμαίο (Εικ. 6) είναι μικρότερο από το θηλυκό με μήκος 0,5 mm και πλάτος 0,6 mm, χρώμα λευκό με πρασινωπές αποχρώσεις λόγω του περιεχομένου του εντέρου (The Argibusinnes management Portal,2013), σχήμα περίπου κυκλικό ενώ είναι ελαφρά χιτισμένο. Τα πόδια του είναι μακριά, λεπτά και εξέχουν χαρακτηριστικά από την περιφέρεια του σώματος ενώ αποκτούν ένα ωχρό χρώμα. Τα χηληκέρατα που φέρει δεν είναι διμορφωμένα για μεταφορά σπερματοφόρου αλλά για νύξη (Αεράκη, 2006).



Εικόνα 6: Ακμαίο αρσενικό βαρρόα (www.teca.fao.org)

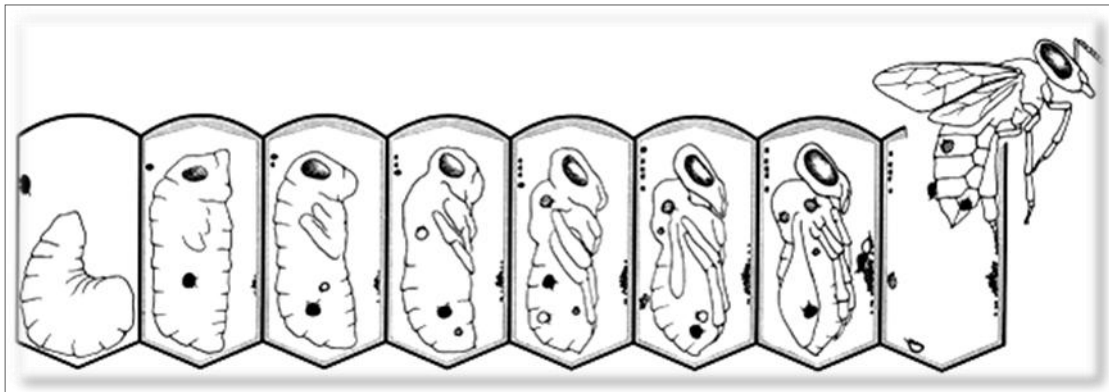
1.2.3 <Βιολογικός κύκλος>

Ο κύκλος ζωής του ακάρεος (Εικ. 8) έχει προσαρμοστεί πλήρως με τον κύκλο ζωής του ξενιστή (Εικ. 7), ώστε να μπορεί να αξιοποιεί το κάθε στάδιο ζωής της μέλισσας προκειμένου να επιτελέσει βασικές του ανάγκες όπως η διατροφή, ο πολλαπλασιασμός και η διασπορά του (The Argibusinnes management Portal, 2013). Στο γόνιο της μέλισσας το βαρρόα μπορεί να αναπαραχθεί ενώ του προσφέρεται καταφύγιο και τροφή που είναι απαραίτητα για την ωοτοκία και την ασφαλή ανάπτυξη των ευαίσθητων ανώριμων σταδίων του. Οι ενήλικες μέλισσες παρέχουν στα ακμαία θηλυκά ακάρεα την επιβίωση όταν στο μελίτσι δεν εκτρέφεται γόνος, αλλά εξασφαλίζουν και τη διασπορά τους μέσα και έξω από την κυψέλη (Αεράκη, 2006).

Σε γενικές γραμμές ο βιολογικός κύκλος του ακάρεος χωρίζεται σε δυο χωριστές

φάσεις – περιόδους (Yu-Lun, 2008), τη φάση ή περίοδο μεταφοράς (phoretic phase) και τη φάση αναπαραγωγής (reproductive phase). Η φάση μεταφοράς αφορά τη χρονική περίοδο κατά την οποία το θηλυκό άκαρι βρίσκεται έξω από το γόνο και έχει τη δυνατότητα να μεταδοθεί από μέλισσα σε μέλισσα (The Argibusiness management Portal, 2013). Στη φάση αυτή τα ενήλικα θηλυκά ακάρεα τρέφονται από τις ενήλικες μέλισσες δείχνοντας προτίμηση στους κηφήνες αντί στις εργάτριες μέλισσες και στις συλλέκτριες αντί τις παραμάνες μέλισσες (Yu-Lun, 2008). Η φάση της αναπαραγωγής αφορά την είσοδο των θηλυκών γονιμοποιημένων ακάρεων στα ασφράγιστα κελία του γόνου προκειμένου να ολοκληρώσουν την αναπαραγωγή τους (Yu-Lun, 2008). Το άκαρι πολλαπλασιάζεται αποκλειστικά σε σφραγισμένο γόνο (Αλυσσανδράκης, 2007), ενώ δείχνει μεγαλύτερη προτίμηση στον κηφηνογόνο παρά στον εργατικό γόνο (Αεράκη, 2006) λόγω ότι το στάδιο της πλαγγόνας διαρκεί μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στον κηφηνογόνο από ότι στον εργατικό γόνο (12 στην εργάτρια και 14,5 στο κηφήνα). Η προσβολή, λοιπόν, αρχίζει όταν το γονιμοποιημένο θηλυκό άκαρι εγκαταλείπει την ενήλικη μέλισσα και εισέρχεται σε ασφράγιστο κελί εργάτριας ή κηφήνα το οποίο περιέχει την προνύμφη. Έπειτα από την είσοδο του στο κελί το βαρρόα διεισδύει στο τοίχωμα του κελιού και φθάνει στον πυθμένα όπου βρίσκεται η τροφή της προνύμφης πάνω στην οποία κολλάει με τη ράχη. Έπειτα από λίγες ώρες, το κελί σφραγίζεται και η προνύμφη αρχίζει να τρέφεται καταναλώνοντας την τροφή της και το βαρρόα απελευθερώνεται (Yu-Lun, 2008) και αρχίζει να τρέφεται με την αιμολέμφο της προνύμφης, η οποία περιέχει νεανική ορμόνη (juvenile hormone) στην ποσότητα που απαιτείται για να διεγερθεί η παραγωγή αυγών (Αεράκη, 2006). Έπειτα από 60 ώρες μετά το σφράγισμα του κελιού το βαρρόα αρχίζει να γεννά το πρώτο αυγό (το οποίο συνήθως είναι αγονιμοποίητο και καταλήγει σε αρσενικό). Σε διάστημα περίπου 20-32 ωρών (σε κελιά κηφήνων) και 26-32 ωρών (σε κελιά εργατριών) γεννά τα υπόλοιπα αυγά τα οποία είναι γονιμοποιημένα και καταλήγουν σε θηλυκά (Yu-Lun, 2008). Στον κηφηνογόνο γεννά 6-7 αυγά από τα οποία 3-4 αναπτύσσονται στις 14 ημέρες που παραμένει σφραγισμένος ενώ στον εργατικό γόνο γεννά 5-6 από τα οποία τα πρώτα δυο προλαβαίνουν να αναπτυχθούν πλήρως στις 12 ημέρες που παραμένει σφραγισμένος (Αλυσσανδράκης, 2007).

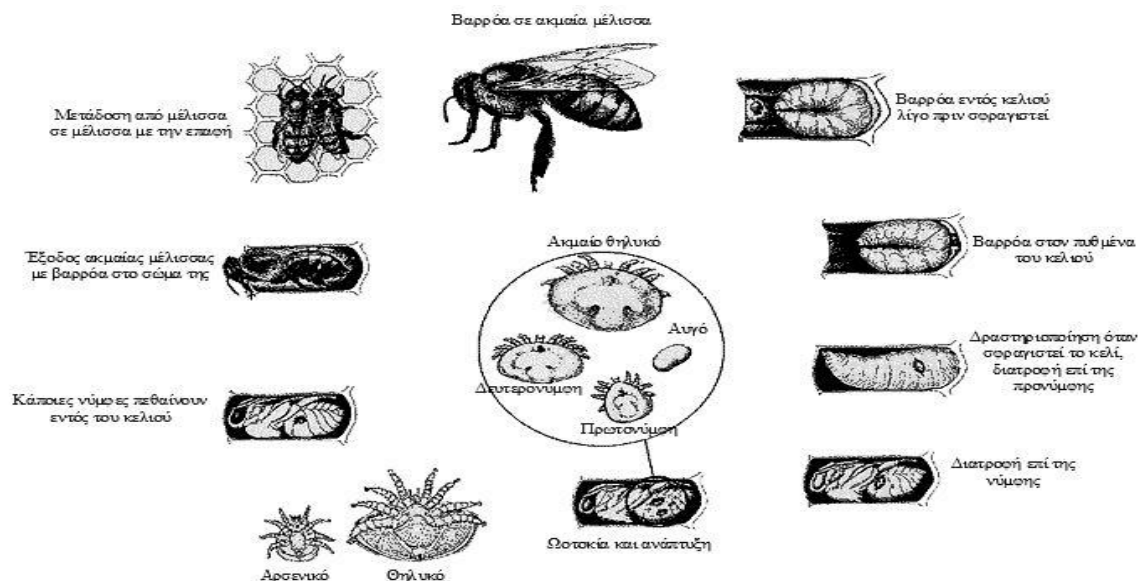
Για την ολοκλήρωση λοιπόν του βιολογικού κύκλου του, το άκαρι περνά από το στάδιο του αυγού, της πρωτονύμφης, της δευτερονύμφης και του ακμαίου όπου η εξάποδη προνύμφη αναπτύσσεται μέσα στο αυγό και εξέρχεται από αυτό μεταμορφωμένη σε οκτάποδη πρωτονύμφη. Στη συνέχεια η πρωτονύμφη μεταμορφώνεται σε δευτερονύμφη και έπειτα σε ενήλικο. Ολόκληρη αυτή η περίοδος από το αυγό μέχρι την μεταμόρφωση του σε ακμαίο διαρκεί 6-7 ημέρες για τα θηλυκά και 5-6 ημέρες για τα αρσενικά (Yu-Lun, 2008). Μετά την έξοδο της μέλισσας από το κελί τα αρσενικά και τα άωρα θηλυκά άτομα πεθαίνουν και μόνο τα ενήλικα μητρικής ή θυγατρικής γενιάς εξέρχονται πριν ή μετά ή κατά τη διάρκεια που εξέρχεται η μέλισσα από το κελί όπου και προσκολλώνται πάνω σε ενήλικες μέλισσες με προτίμηση στους κηφήνες και τους τροφούς. Η θέση στην οποία προσκολλώνται είναι



Εικόνα 7: Ο κύκλος ζωής του βαρρόα προσαρμοσμένος με τον κύκλο ζωής της μέλισσας (www.southernoregonbeekeepers.org)

ανάμεσα στα δαχτυλίδια της κοιλιάς των μελισσών και διατρύπουν τις μεμβράνες που τα ενώνουν με τα στοματικά τους μόρια. Παραμένουν πάνω στις μέλισσες 5-15 ημέρες και στην συνέχεια εισέρχονται σε κάποιο κελί εφόσον υπάρχει γόνος για να ωοτοκήσουν προτιμώντας κελιά τα οποία δεν περιέχουν άλλα βαρρόα (The Argibusinnes management Portal,2013). Τα θηλυκά ακάρεα ζουν ανάλογα την εποχή από μερικούς μήνες μέχρι και χρόνια. Έτσι εάν γεννηθούν άνοιξη – καλοκαίρι ζουν 2-3 μήνες ενώ εάν γεννηθούν φθινόπωρο ζουν 5-8 μήνες. Έχουν όμως αναφερθεί περιπτώσεις που ζουν έως και δυο χρόνια (Αεράκη ,2006).

Επομένως, σε ένα μελίσσι τον πληθυσμό του ακάρεος επηρεάζει η έκταση του γόνου τον οποίο εκτρέφει και οι διάφοροι χειρισμοί που γίνονται για το μελίσσι, καθώς τα βαρρόα πολλαπλασιάζονται αποκλειστικά σε σφραγισμένο γόνο, ενώ και η έκταση του κηφηνογόνου επηρεάζει το πληθυσμό του βαρρόα καθώς το αναπαραγωγικό δυναμικό είναι μεγαλύτερο στον κηφηνογόνο από ότι στον εργατικό γόνο (Αλυσσανδράκης, 2007).



Εικόνα 8: Βιολογικός κύκλος βαρρόα (www.ellinikomeli.gr)

1.3 <Βαρροϊκή Ακαρίαση >

Η βαρροϊκή ακαρίαση αποτελεί σήμερα το σοβαρότερο νόσημα των μελισσοσμηνών των ευρωπαϊκών φυλών της μέλισσας *Apis mellifera* και οφείλεται στο άκαρι *Varroa destructor* αν και παλαιότερα θεωρούνταν ότι οφειλόταν στο είδος *Varroa jacobsoni*. Η βαρροϊκή ακαρίαση είναι το σοβαρότερο πρόβλημα της μελισσοκομίας παγκοσμίως εξαιτίας του γεγονότος ότι οδηγεί στη σταδιακή κατάρρευση των μελισσών έχοντας ως αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής των διάφορων προϊόντων που λαμβάνει ο άνθρωπος από την κυψέλη αλλά και τη μείωση της παραγωγής διάφορων φυτικών προϊόντων λόγω της σπουδαιότητας του εντόμου στη επικονίαση.

1.3.1 <Διάδοση - Προσβολή>

Για τη διάδοση της βαρροϊκής ακαρίασης και την προσβολή ενός μελισσιού σε μια περιοχή, πηγή μόλυνσης αποτελούν μόνο τα προσβεβλημένα μελίτσια (Αεράκη, 2006). Η μετάδοση του ακάρεος από κυψέλη σε κυψέλη γίνεται με τη λεηλασία, την παραπλάνηση καθώς και με κάποιους μελισσοκομικούς χειρισμούς (μεταφορά γόνου από μελίτσια σε μελίτσια, συνένωση μελισσιών κ.ά.), αλλά και η νομαδική μελισσοκομία και η συνάθροιση πολλών μελισσιών σε ένα χώρο συμβάλουν σημαντικά στη διάδοση του ακάρεος (Αλυσσανδράκης, 2007). Ενώ είναι πιθανόν να συμβάλλουν κατά κάποιο τρόπο στη διάδοση του ως μεταφορείς, σφήκες και διάφορα είδη μοναχικών μελισσών. Γενικά τα πρώτα σημάδια

προσβολής εμφανίζονται σε δυνατά μελίσσια τα οποία ληηλατούν τα αδύναμα μελίσσια και αυτά που ετοιμάζονται να σμηγουργήσουν (Αεράκη, 2006). Ενώ μετά την εγκατάσταση μιας νέας εστίας σε μια περιοχή, η μετάδοση του ακάρεος στην περιοχή γίνεται με γοργούς ρυθμούς και εξαρτάται από την ένταση της προσβολής και τον αριθμό των μελισσιών στην περιοχή. Όσον αφορά την εξάπλωση του εντός της κυψέλης μπορεί να γίνει εύκολα αφού το άκαρι μεταπηδά με ευκολία από τη μια μέλισσα στην άλλη (Αλυσσανδράκης, 2007), ενώ η διάδοση του από μια περιοχή σε μια άλλη μπορεί να γίνει με τις πτήσεις αφεσμών και με τις παραπλανημένες μέλισσες. Σίγουρα όμως η μετάδοση του ακάρεος σε όλο τον κόσμο οφείλεται στην ανθρώπινη παρέμβαση όπου δια μέσου του διεθνούς εμπορίου και της μετακινούμενης μελισσοκομίας διέσπειραν το άκαρι παγκοσμίως σε μια εποχή που ελάχιστα ήταν γνωστά για το παράσιτο και δεν λαμβάνονταν περιοριστικά μέτρα (Αεράκη, 2006).

Στις περιοχές στις οποίες το παράσιτο ήδη ενδημεί, η πυκνότητα των μελισσιών σε συνδυασμό με την παραπλάνηση αλλά και η ιδιότητα που έχουν οι μέλισσες στα έντονα προσβεβλημένα μελίσσια να γεμίζουν τον πρόλοβο τους με μέλι και να εγκαταλείπουν το μελίσσι μεμονωμένα ή ατομικά αναζητώντας καταφύγιο σε άλλο μελίσσι παίζουν σημαντικό ρόλο στην επαναμόλυνση ή επιμόλυνση μελισσιών τα οποία έχουν ήδη θεραπευτεί (Αεράκη, 2006).

Σε ένα μελίσσι όμως ο πληθυσμός των ακάρεων δεν είναι σταθερός μέσα στο χρόνο αλλά μεταβάλλεται (The Argibusinnes Management Portal, 2013). Αρχές άνοιξης προς φθινόπωρο ο πληθυσμός των ακάρεων αυξάνεται παρουσιάζοντας ένα μέγιστο αρχές Ιουλίου όπου έπειτα μέχρι και τα μέσα Οκτωβρίου παρουσιάζει αυξομειώσεις έχοντας όμως κυρίως αυξητικές τάσεις. Από τα μέσα Οκτώβρη μέχρι και τέλη Δεκεμβρίου ο πληθυσμός αρχίζει να μειώνεται ραγδαία, ενώ από Ιανουάριο- Μάρτιο ο πληθυσμός μειώνεται αλλά με πιο ήπιους ρυθμούς μέχρι αρχές Μαρτίου όπου αρχίζει η αύξηση του. Ωστόσο ένα μεγάλο μέρος από τα ενήλικα επιβιώνει μέχρις ότου αρχίσει η εκτροφή του γόνου και να μπορέσει να αρχίσει την αναπαραγωγή του, ενώ μπορεί σχεδόν να δεκαπενταπλασιαστεί ο αριθμός του βάρρρα μέσα σε ένα χρόνο (Αεράκη, 2006).

1.3.2 <Παθογένεια>

Στο μελίσι η προσβολή από το άκαρι εκδηλώνεται με παρασιτισμό τόσο στις ενήλικες μέλισσες (Εικ. 9) όσο και στο γόνο (Εικ. 10 & 11) με τις επιπτώσεις από τον παρασιτισμό να είναι ανάλογες με την ένταση της μόλυνσης και περισσότερο αισθητές στον εργατικό γόνο (Αεράκη, 2006). Συνέπεια του παρασιτισμού του ακάρεος στο μελίσι είναι η απομύζηση της



Εικόνα 9: Ακμαίο θηλυκό βαρρόα πάνω σε ενήλικη μέλισσα (www.galifabee.blogspot.gr)

αιμολέμφου, η έγχυση τοξινών που εκλύει το άκαρι κατά τη διάρκεια του γεύματος του, το άνοιγμα θυρών εισόδου για άλλους μικροοργανισμούς, η μεταφορά παθογόνων μικροοργανισμών καθώς και ο μηχανικός ερεθισμός. Άλλες διαταραχές που εμφανίζονται εξαιτίας του παρασιτισμού είναι διάφορες διαταραχές στο μεταβολισμό των πρωτεϊνών, μείωση σωματικού βάρους, υποανάπτυκτοι υποφαρυγγικοί αδένες, εκφυλισμένα λιπώδη σώματα αλλά και μικρότερη διάρκεια ζωής.

Από τις παραπάνω διαταραχές που προκαλεί το άκαρι, η πιο σημαντική επίπτωση είναι η απομύζηση της αιμολέμφου στα διάφορα στάδια του γόνου η οποία έχει ως συνέπεια τη μείωση του σωματικού βάρους και του όγκου της αιμολέμφου καθώς και μεταβολές στη σύνθεση των πρωτεϊνών. Είναι όμως πολύ πιθανόν οι μεταβολές αυτές να μην σχετίζονται

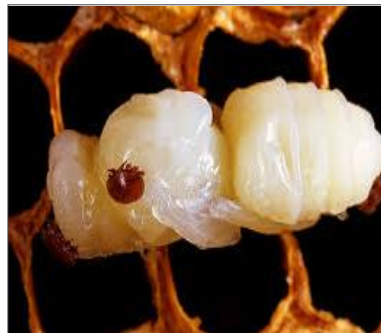


Εικόνα 10: Ακμαία θηλυκά βαρρόα πάνω σε προνύμφη μέλισσας (www.ellinikomeli.gr)

μόνο με την απομύζηση της αιμολέμφου, αλλά και λόγω της έγχυσης τοξινών κατά τη διάρκεια του γεύματος του προκαλώντας με αυτό τον τρόπο διάφορες βιοχημικές μεταβολές τόσο στο γόνο όσο και στις μετέπειτα ενήλικες μέλισσες (Αεράκη, 2006). Ενώ λόγω ότι το άκαρι είναι φορέας διάφορων παθογόνων μικροοργανισμών αλλά και εξαιτίας της διάνοιξης θυρών εισόδου μπορεί να προκαλέσει διάφορες δευτερογενείς μολύνσεις με αποτέλεσμα την αύξηση της νοσηρότητας της μέλισσας.

Σε γενικές γραμμές όπως αναφέραμε παραπάνω οι διάφορες επιπτώσεις από τον παρασιτισμό του ακάρεος έχουν άμεση σχέση και με την ένταση της προσβολής. Έτσι σε περίπτωση όπου σε μια προνύμφη παρασιτούν 8 ή και περισσότερα ακάρεα η προνύμφη δεν

ολοκληρώνει την ανάπτυξη της (Αεράκη, 2006) και πεθαίνει στο στάδιο της νύμφης ενώ όταν έχουμε τον παρασιτισμό της από λιγότερα ακάρεα τότε ολοκληρώνει την ανάπτυξη της φθάνοντας να γίνει ενήλικη, αλλά παρουσιάζει διάφορες μορφολογικές ανωμαλίες. Για παράδειγμα εάν από τον παρασιτισμό έχουμε απώλεια πρωτεϊνών στα διάφορα στάδια του γόνου τότε θα προκύψουν μέλισσες οι οποίες θα έχουν μικρότερη διάρκεια ζωής, μειωμένη αντίσταση σε ασθένειες, μειωμένη ικανότητα πτήσης, μικρότερη ανάπτυξη υποφαρυγγικών αδένων, μειωμένη ικανότητα παραγωγής κεριού, αλλά και κηφήνες που παρουσιάζουν μειωμένη ικανότητα σύζευξης.



Εικόνα 11: Ακαμαιο θηλυκό βαρρόα πάνω σε πλαγγόνα μέλισσας (www.tomelissi.wordpress.com)

Συνοψίζοντας, λοιπόν, η παθογόνος δράση του ακάρεος στο μελίσσι έχει ως αποτέλεσμα τον θάνατο νυμφών ή την ανάπτυξη μελισσών οι οποίες παρουσιάζουν διάφορες μορφολογικές ανωμαλίες, μείωση της διάρκειας ζωής της μέλισσας, αυξημένη ευαισθησία των μελισσών στη προσβολή διαφόρων παθογόνων μικροοργανισμών, αλλά και μειωμένη συνεισφορά των παρασιτούμενων μελισσών στο μελίσσι. Ενώ σε περίπτωση αύξησης του πληθυσμού του ακάρεος σε σχέση με τον ξενιστή του έχει ως συνέπεια την μείωση των μηχανισμών άμυνας του μελισσιού και τη σταδιακή μείωση ικανότητας του πληθυσμού με αποτέλεσμα σταδιακά να εκμηδενιστεί η ικανότητα ανανέωσης και το μελίσσι να υποκύψει.

1.3.3 < Συμπτώματα >

Τα συμπτώματα που εμφανίζονται στο μελίσσι λόγω της προσβολής του από τη βαρροϊκή ακαρίαση διαφέρουν ανάλογα την περιοχή που βρίσκεται το μελισσοκομείο, διαφέρουν μεταξύ διαφορετικών μελισσοκομείων και μεταξύ μελισσών του ίδιου μελισσοκομείου, αλλά εκδηλώνονται και διαφορετικά συμπτώματα ανάλογα την ένταση της προσβολής και την περίοδο δραστηριότητας του μελισσιού. Αρχικά η εξέλιξη της προσβολής είναι αργή και δεν παρατηρούνται συμπτώματα ακόμη και μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα από την προσβολή. Για να εμφανισθούν τα πρώτα συμπτώματα θα πρέπει το ποσοστό προσβολής να ξεπεράσει το 15% ενώ όταν το ποσοστό προσβολής είναι μεγαλύτερο του 30% τότε είναι εμφανή τα ακάρεα πάνω στις ενήλικες μέλισσες. Όσο όμως το ποσοστό προσβολής αυξάνεται τόσο περισσότερο εμφανή γίνονται τα συμπτώματα στο μελίσσι.

Στην αρχή της προσβολής έχουμε μείωση της δραστηριότητας των μελισσών λόγω της απομύζησης της αιμολέμφου τους από το άκαρι ενώ γίνονται νευρικές και πετούν με δυσκολία στην προσπάθειά τους να απαλλαχθούν από το άκαρι ή δεν μπορούν να πετάξουν λόγω ότι το άκαρι βρίσκεται προσκολλημένο κάτω από τις πτέρυγες τους με αποτέλεσμα να βγαίνουν από την κυψέλη και να κάνουν κάποιες αποτυχημένες προσπάθειες να πετάξουν έχοντας ως συνέπεια να απομακρύνονται και να χάνονται από την κυψέλη. Άλλες εμφανείς διαταραχές στο μελίσι εξαιτίας της προσβολής είναι ότι η δυναμικότητα του μειώνεται, ο γόνος εμφανίζεται διάσπαρτος, τα σφραγίσματα των κελιών είναι βυθισμένα με χρώμα σκούρο και κάποια εμφανίζουν τρύπες ή σχισμές. Συνήθως μέσα στα κελιά αυτά βρίσκουμε νεκρές προνύμφες οι οποίες μπορούν να βρίσκονται σε διάφορα στάδια αποσύνθεσης ή νύμφες και βαρρόα νεκρά ή ζωντανά. Άλλα συμπτώματα που παρατηρούνται είναι ότι ο κηφηνογόνος παρουσιάζει εντονότερη προσβολή σε σχέση με τον εργατικό γόνο, παρατηρούμε ενήλικες μέλισσες με μορφολογικές ανωμαλίες ενώ παρατηρούμε τα ακάρεια κυρίως τους καλοκαιρινούς μήνες όπου η εκτροφή του γόνου είναι περιορισμένη πάνω στις ενήλικες μέλισσες συνήθως ανάμεσα στα δαχτυλίδια της κοιλιάς τους. Ενώ ένα από τα πιο χαρακτηριστικά συμπτώματα της βαρροϊκής ακαρίασης είναι η ύπαρξη εργατριών με μειωμένη τριχοφυΐα και ζαρωμένα φτερά μέσα και έξω από τις κυψέλες. Τέλος, από την προσβολή ο ρυθμός με τον οποίο ανανεώνεται ο πληθυσμός του μελισσιού αρχίζει να διαταράσσεται με συνέπεια τη μείωση του πληθυσμού και σε περιπτώσεις έντονα μολυσμένων μελισσιών να έχουμε τη λεηλασία τους από ισχυρότερα μελίσια ή και την εγκατάλειψη του έντονα προσβεβλημένου γόνου δίνοντας την εντύπωση σμηνουργίας μέσα στο φθινόπωρο.

Γενικά η σειρά εμφάνισης των συμπτωμάτων μπορεί να περιγραφεί ως εξής:

1. Γόνος διάσπαρτος σαν μωσαϊκό (Εικ. 12)
2. Τα σφραγίσματα των κελιών να είναι βυθισμένα, σκουρόχρωμα με σχισμές ή τρύπες
3. Ασφράγιστα κελιά με προνύμφες ή νύμφες νεκρές και βαρρόα σε διάφορα στάδια ανάπτυξης
4. Ενήλικες μέλισσες με μορφολογικές ανωμαλίες και νευρικότητα (Εικ. 13)
5. Αδυναμία πτήσης και κίνησης, κατανάλωσης γύρης και μελιού, ασιτία γόνου
6. Κατακόρυφη πτώση της ανάπτυξης των μελισσών με πολλές νεκρές μέλισσες

στην είσοδο της κυψέλης

7. Ακάρεα εμφανή πάνω στις ενήλικες μέλισσες
8. Αδυναμία προστασίας εισόδου και λεηλασία αποθεμάτων μελιού και μόλυνση εισβολέων
9. Ε



ειψη της κυψέλης και θάνατος μελισσοσμύγους το φθινόπωρο/ χειμώνα

1.3.4

<Αντιμετώπιση >

Χωρίς αμφιβολία μέσα σε λίγα χρόνια η πλειοψηφία των μελισσιών παγκοσμίως θα καταστρεφόταν εάν δεν λαμβάνονταν μέτρα ή τα

επαρ Εικόνα 12: Γόνος διάσπαρτος σαν μωσαϊκό
κή μέτρα για την αντιμετώπιση της βαρροϊκής

Εικόνα 13: Μέλισσα με φυσιολογικά φτερά(αριστερά) και μέλισσα με παραμορφωμένα φτερά (δεξιά) (www.teca.fao.org)

ακαρίασης (Rosenkranz *et al.*, 2010). Παρόλα όμως τα διάφορα μέτρα, η αντιμετώπιση του ακάρεος παραμένει μια πολύ δύσκολη υπόθεση εξαιτίας ότι πολλαπλασιάζεται σε σφραγισμένο γόνο έχοντας ως αποτέλεσμα σε περιόδους που υπάρχει γόνος στο μελίτσι κάποια θηλυκά να βρίσκονται προστατευμένα μέσα στο σφραγισμένο κελί και έτσι η αντιμετώπιση τους να είναι αναποτελεσματική.

Γενικά έχουν προταθεί διάφοροι μέθοδοι καταπολέμησης του ακάρεος όπως βιολογικές, με φυσικές ουσίες, μελισσοτεχνικές και χημειοθεραπευτικές. Ενώ από πολλούς ερευνητές εκτιμάται ότι θα μπορούσε να περιοριστεί σημαντικά το πρόβλημα με την επιλογή ανθεκτικών μελισσιών στη βαρρόα (Rosenkranz *et al.*, 2010), η διαδικασία αυτή είναι χρονοβόρα και η ανθεκτικότητα χάνεται λόγω υβριδισμού. Τέλος, μια άλλη μέθοδος

αντιμετώπισης του ακάρεος αποτελεί η ολοκληρωμένη καταπολέμηση η οποία είναι συνδυασμός πολλών μεθόδων μαζί (βιολογικές, χημικές κ.ά.), αλλά είναι μια δυσκολότερη μέθοδος στην εφαρμογή καθώς απαιτεί γνώσεις όπως λ.χ. του βιολογικού κύκλου του παρασίτου, την εποχή που είναι κατάλληλη για την κάθε επέμβαση κ.ά. Σίγουρα όμως για την αντιμετώπιση του προβλήματος οι μελισσοκόμοι θα πρέπει να κρατούν δυνατά τα μελίσσια τους διότι αυτά τα μελίσσια μπορούν να αντιμετωπίσουν μέχρι κάποιο σημείο το πρόβλημα (Αλυσσανδράκης, 2007).

1.3.4.1 <Μη χημικές μέθοδοι καταπολέμησης>

Στις μη χημικές μεθόδους καταπολέμησης περιλαμβάνονται οι βιολογικές, μελισσοτεχνικές μέθοδοι καθώς και οι μέθοδοι καταπολέμησης με φυσικές ουσίες. Πιο αναλυτικά, η αντιμετώπιση του ακάρεος με βιολογικές-μελισσοτεχνικές μεθόδους στοχεύει στην αντιμετώπιση του χωρίς τη χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Γενικά, οι βιολογικές μέθοδοι στηρίζονται σε ιδιαιτερότητες της βιολογίας του ξενιστή και του παρασίτου προκειμένου να υπάρξει μια πραγματική βιώσιμη θεραπεία για τη βαρροϊκή ακαρίαση (Rosenkranz *et al.*, 2010). Οι μελισσοτεχνικές μέθοδοι αφορούν τη παγίδευση στον κηφηνογόνο ή στον εργατικό γόνο, επιβράδυνση του πολλαπλασιασμού του παρασίτου, τη δημιουργία τεχνητών αφεσμών, την πρόληψη σμηνοουργίας-αποφυγή ληλασίας, τη χρήση πλέγματος στο πυθμένα, τη θερμοθεραπεία, το σκόνισμα των κυψελών με ζάχαρη άχνη και το κάπνισμα του μελισσιού, ενώ οι βιολογικές μέθοδοι αφορούν τεχνικές που επιστρατεύουν φερομόνες του βαρρόα, χρήση ανταγωνιστικών παρασίτων και παθογόνων οργανισμών. Οι μέθοδοι αυτές θα μπορούσαν να έχουν μακροχρόνιες επιδράσεις εάν εγκατασταθούν οι οργανισμοί αυτοί στις αποικίες των μελισσιών και μπορούν να μεταδοθούν από κυψέλη σε κυψέλη. Όσον αφορά τον έλεγχο του ακάρεος με φυσικές ουσίες η μέθοδος αυτή στοχεύει στην καταπολέμηση με κάποια οργανικά οξέα και αιθέρια έλαια, τα οποία αντιπροσωπεύουν το πλαίσιο των φυσικών ουσιών. Τέτοιες φυσικές ουσίες είναι η θυμόλη, το οξαλικό οξύ, το γαλακτικό οξύ καθώς και το μυρμηκικό οξύ. Οι ουσίες αυτές έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικές ενάντια στην αντιμετώπιση του ακάρεος ενώ έχουν χαμηλή τοξικότητα και είναι φιλικές προς το περιβάλλον (Rashid *et al.*, 2012) και επιπλέον ο κίνδυνος υπολειμμάτων και συσσώρευσης τους στα μελισσοκομικά προϊόντα από τις ουσίες αυτές είναι χαμηλός (Rosenkranz *et al.*, 2010). Ενώ οι ουσίες αυτές αποτελούν φυσικά συστατικά του μελιού και επομένως προσμίξεις που θέτουν σε κίνδυνο την ποιότητα του είναι απίθανες, αλλά και ο κίνδυνος ανάπτυξης ανθεκτικότητας μετά από επανειλημμένες επεμβάσεις είναι μικρός. Τα

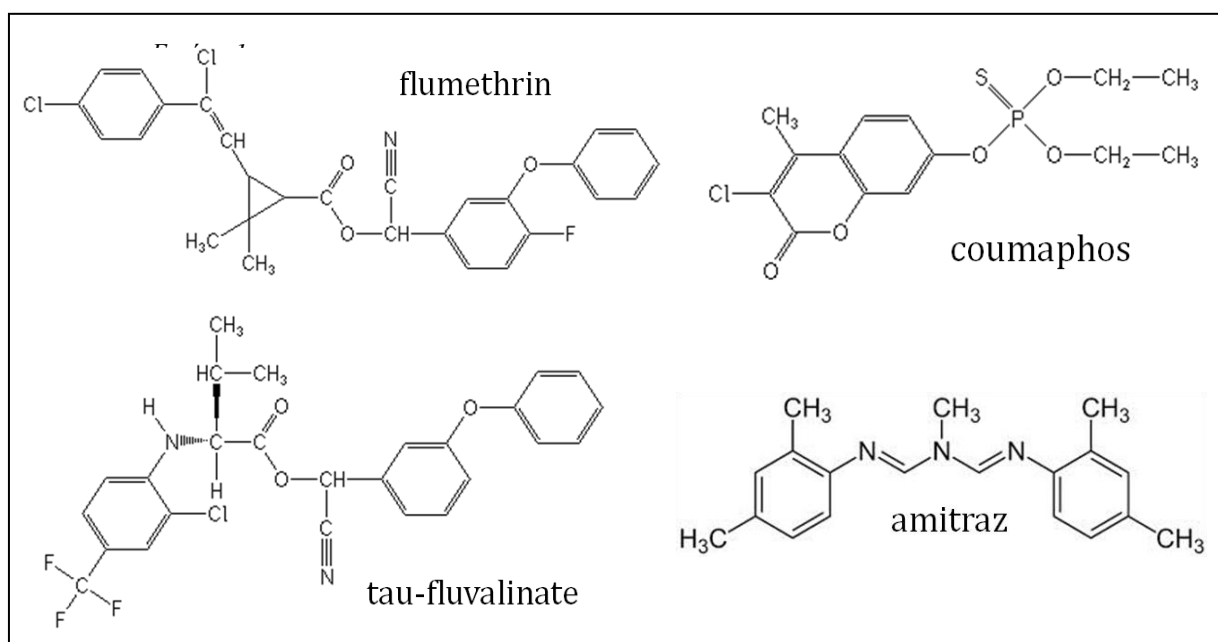
μειονεκτήματα όμως που παρουσιάζουν οι φυσικές ουσίες είναι ότι πολλές φορές η αποτελεσματικότητα τους εξαρτάται από τον τρόπο εφαρμογής τους και τις κλιματικές συνθήκες ενώ σε γενικές γραμμές η αποτελεσματικότητα των ουσιών αυτών συχνά είναι πιο μεταβλητή σε σύγκριση με τις εγκεκριμένες χημικές ουσίες (Rashid *et al.*, 2012).

1.3.4.2 <Χημικές μέθοδοι καταπολέμησης>

Οι χημικές μέθοδοι καταπολέμησης αφορούν τη μέθοδο της χημειοθεραπείας που έχει ως στόχο την αντιμετώπιση του ακάρεος με τη χρήση συνθετικών χημικών ουσιών. Η μέθοδος αυτή αποτελεί τον πιο διαδεδομένο τρόπο αντιμετώπισης του ακάρεος παγκοσμίως (Αεράκη, 2006), ενώ η εφαρμογή της είναι αρκετά προτιμάται λόγω της εύκολης εφαρμογής των ακαρεοκτόνων, αλλά και λόγω του σχετικώς χαμηλού κόστους της καθώς και επειδή δεν απαιτούνται για την εφαρμογή της ιδιαίτερες γνώσεις της βιολογίας του ακάρεος.

Τα πιο διαδεδομένα ακαρεοκτόνα (Εικ. 14) που χρησιμοποιούνται είναι το οργανοφωσφορικό coumaphos (Checkmite, Asuntol, Perizin), το οποίο δρα στο νευρικό σύστημα, δεσμεύοντας το ένζυμο ακετυλοχολινεστεράση το οποίο υπό φυσιολογική λειτουργία ελέγχει τη συγκέντρωση της ακετυλοχολίνης στο συναπτικό διάκενο. Όταν λοιπόν το coumaphos δεσμεύσει το ένζυμο τότε έχουμε υπέρμετρη συσσώρευση της ακετυλοχολίνης με αποτέλεσμα να υπάρξουν πληθώρα προβλημάτων στο νευρικό σύστημα και να έχουν ως αποτέλεσμα το θάνατο (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010). Η συγκεκριμένη δραστική ουσία είναι διασυστηματική και χαρακτηρίζεται από μεγάλη υπολειμματική δράση. Άλλες δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται είναι τα πυρεθρινοειδή tau-fluvalinate (Aristan, Mavrik) και flumethrin (Bayvarol), των οποίων η εντομοτοξική δράση χαρακτηρίζεται ακαριαία και τα οποία δρουν στο νευρικό σύστημα παρεμποδίζοντας τη μετάδοση νευρικών σημάτων προσυναπτικά. Πιο αναλυτικά προσκολλώνται στις πρωτεϊνικές υπομονάδες των διαύλων ιόντων νατρίου (Na^+), στις μεμβράνες των τελικών κλωνίων του νευράξονα προκαλώντας παρατεταμένο άνοιγμα των διαύλων έχοντας ως αποτέλεσμα την απώλεια ιόντων και τη διατάραξη της ευαίσθητης ισορροπίας μεταξύ ιόντων Na^+ και K^+ στο περιβάλλον των νευρικών κυττάρων (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010). Όσον αφορά τη δραστική ουσία flumethrin αυτή χρησιμοποιείται εμποτισμένη σε ταινίες και δεν είναι ανιχνεύσιμη στο μέλι λόγω της μικρής της συγκέντρωσης στις ταινίες και της χαμηλής υδατοδιαλυτότητάς της. Η δραστική ουσία tau-fluvalinate χρησιμοποιείται επίσης εμποτισμένη σε ταινίες και είναι πιθανόν να βρεθούν υπολείμματα στο μέλι εάν διατηρηθούν

οι ταινίες για περισσότερες από έξι εβδομάδες, ενώ λόγω του έντονα λιπόφιλου χαρακτήρα και της σταθερότητας της συγκεντρώνονται υψηλά υπολείμματα στο κερί. Άλλη ευρέως χρησιμοποιούμενη δραστική ουσία είναι φορμαμιδικό amitraz (Mitic, Tactic), το οποίο παρεμβαίνει και αυτό στο νευρικό σύστημα επηρεάζοντας τη δράση του νευροδιαβιβαστή οκτοπαμίνη, έχοντας ως αποτέλεσμα την έντονη νευρική διέγερση και επιπλέον παρεμποδίζει το ένζυμο οξειδάση της μονοαμίνης (monoamine oxidase), με αποτέλεσμα τη συσσώρευση βιογενικών αμινών. Αποτέλεσμα της δράσης του amitraz είναι τα ακάρεα να αποσύρουν τα στοματικά τους μόρια και να πέφτουν από τη μέλισσα. Η δραστική ουσία εξαιτίας του χαμηλού pH του μελιού αποδομείται γρήγορα και έτσι από τη χρήση του amitraz σπάνια εμφανίζονται στις αναλύσεις μελιού υπολείμματα εκτός και αν το διάστημα μεταξύ εφαρμογής και συλλογής του μελιού είναι μικρό.



Εικόνα 14: Χημική δομή δραστικών ουσιών που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση του βαρρόα

Στη χώρα μας η χρήση συνθετικών ακαρεοκτόνων αποτέλεσε τη βάση για την αντιμετώπιση του ακάρεος από την εμφάνιση του, ενώ από το 1990 και μετά καθιερώθηκε η χρήση του σκευάσματος Manrik με δραστική ουσία το tau-fluvalinate το οποίο όμως δεν ήταν εγκεκριμένο για χρήση στη μελισσοκομία. Η δραστική ουσία tau-fluvalinate χρησιμοποιήθηκε ευρέως σε παγκόσμια κλίμακα καθώς είχε 100% αποτελεσματικότητα. Ωστόσο, η ευρεία του χρήση είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη ανθεκτικότητας τόσο στη χώρα μας όσο και διεθνώς. Σήμερα τα εγκεκριμένα σκευάσματα στη χώρα μας που περιέχουν

ακαρεοκτόνες ουσίες είναι τέσσερα και είναι το Perizin , το Checkmite, το Bayvarol και το Aristan, ενώ χωρίς έγκριση κυκλοφορίας χρησιμοποιούνται το Tactic και το Mavrik. Με εξαίρεση το Perizin όλα τα υπόλοιπα σκευάσματα εφαρμόζονται με τη μορφή ταινιών (Εικ. 15). Ωστόσο η αντιμετώπιση του ακάρεος με χημικά θα πρέπει να γίνεται προσεκτικά καθώς ενέχει κινδύνους ρύπανσης των διάφορων μελισσοκομικών προϊόντων της κυψέλης από τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται, αλλά δημιουργεί και αρνητικές επιπτώσεις καθώς μπορούν να επηρεάσουν διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες των μελισσών. Επιπλέον, η επανειλημμένη χρήση των διάφορων χημικών ουσιών έχει οδηγήσει και στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας καθιστώντας ακόμη δυσκολότερη την αντιμετώπιση του ακάρεος που συνέπεια έχει την αναποτελεσματικότητα των εφαρμογών.



Εικόνα 15: Εφαρμογή σκευάσματος στο μελίσσι με τη χρήση ταινιών (www.evinosbee.blogspot.gr)

1.4 <Ανθεκτικότητα του βαρρόα στα ακαρεοκτόνα>

1.4.1 <Ιστορικό ανάπτυξης ανθεκτικότητας>

Έως τα τέλη της δεκαετίας του '80 η αντιμετώπιση του ακάρεος γινόταν με πυρεθρινοειδή ακαρεοκτόνα (tau-fluvalinate, flumethrin, acrinathrin), τα οποία χαρακτηρίζονταν από υψηλή αποτελεσματικότητα έναντι στο άκαρι και χαμηλή τοξικότητα έναντι των μελισσών. Από τις αρχές όμως της δεκαετίας του '90 βρέθηκαν κάποια ανθεκτικά στελέχη του ακάρεος σε διάφορες περιοχές παγκοσμίως με την πρώτη αναφορά για ανάπτυξη ανθεκτικότητας να γίνεται το 1992 σε αποικία μελισσών στη Λομβαρδία της Ιταλίας και αφορά τη δραστική ουσία tau-fluvalinate. Έπειτα μέσα σε μια δεκαετία αναφέρονται ανθεκτικοί πληθυσμοί στα πυρεθρινοειδή ακαρεοκτόνα σε Ευρώπη και Αμερική. Στη χώρα μας αναφέρθηκε για πρώτη φορά ανθεκτικότητα στο tau-fluvalinate το 1998 με τις αναφορές κατά περιοχές να αυξάνονται έκτοτε, αλλά χωρίς να υπάρχει τεκμηρίωση βασισμένη σε

τοξικολογικές βιοδοκιμές στο εργαστήριο. Εκτός όμως από τα πυρεθρινοειδή ακαρεοκτόνα ανθεκτικότητα έχει βρεθεί στο coumaphos και amitraz όπου σε γενικές γραμμές η ανθεκτικότητα στο amitraz δεν έχει παρατηρηθεί σε υψηλά επίπεδα, ενώ στο coumaphos παρόλο που υπάρχουν περιορισμένα περιστατικά ανθεκτικότητας, εκεί που υπάρχουν, έχουν υψηλό δείκτη ανθεκτικότητας. Ο υψηλότερος όμως δείκτης ανθεκτικότητας παρουσιάζεται στο πυρεθρινοειδές flumethrin ενώ πολλές αναφορές για ανθεκτικότητα υπάρχουν για το tau-fluvalinate. Το 1994 ξεκίνησε ένα Ευρωπαϊκό πρόγραμμα για τη διερεύνηση της ανθεκτικότητας του ακάρεος στα πυρεθρινοειδή ακαρεοκτόνα όπου τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρχαν υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας καθώς οι τιμές LC50 για τον ευαίσθητο πληθυσμό ήταν μόλις 25 mg/Kg ενώ για τον ανθεκτικό 9000 mg/Kg.

1.4.2 <Ανάπτυξη και μηχανισμοί ανθεκτικότητας>

Η ανάπτυξη και η διατήρηση της ανθεκτικότητας ενός πληθυσμού βαρρόα καθορίζεται από πολλούς παράγοντες οι οποίοι συχνά αλληλεπιδρούν μεταξύ τους (Mozes-Koch *et al.*, 2000). Τέτοιοι παράγοντες είναι ο βαθμός κυριαρχίας και προσαρμοστικότητας των γονιδίων ανθεκτικότητας, οι συνήθειες διατροφής των παρασίτων, ο βαθμός έκθεσης προς την τοξική ουσία, ο αριθμός γενεών, απογόνων, η διάρκεια του βιολογικού κύκλου του παρασίτου όπως και διάφοροι άλλοι οικολογικοί παράγοντες.

Όσον αφορά τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας, οι παρακάτω τέσσερις μηχανισμοί πιθανώς ενδέχεται να ευθύνονται για την ανθεκτικότητα του ακάρεος:

A) Αλλαγή στη συμπεριφορά ώστε να μειωθεί η πιθανότητα το άκαρι να έρθει σε επαφή με τη δραστική ουσία.

B) Μειωμένη διείσδυση της δραστικής ουσίας λόγω πάχυνσης του εξωσκελετού.

Γ) Αποτοξικοποίηση της δραστικής ουσίας λόγω αυξημένης δράσης ή συγκέντρωσης των ενζύμων.

Δ) Τροποποίηση της θέσης δράσης, γεγονός που οδηγεί σε μειωμένη ευαισθησία του ακάρεος.

Όπως φαίνεται όμως η ανθεκτικότητα του βαρρόα στα πυρεθρινοειδή ακαρεοκτόνα έχει αναπτυχθεί με τουλάχιστον δυο μηχανισμούς. Έτσι έχουν περιγραφεί περιπτώσεις αποτοξικοποίησης και αλλαγής στόχου. Όσον αφορά τη περίπτωση της αποτοξικοποίησης, έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα ενζύμων αποτοξικοποίησης, όπως οι εστεράσες και οι P450

μονοοξυγενάσες σε ανθεκτικά στελέχη του ακάρεος σε Ευρώπη, ΗΠΑ και Ισραήλ. Ο συγκεκριμένος μηχανισμός ανθεκτικότητας υποστηρίζεται από τα περιστατικά ύπαρξης διασταυρωτής ανθεκτικότητας μεταξύ ακαρεοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης. Ο ρόλος όμως των εστερασών ο οποίος είναι πολύ σημαντικός για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα αρθρόποδα, στο βαρρόα ο χαρακτηρισμός των ενζύμων βρίσκεται υπό μελέτη.

Στη δεύτερη περίπτωση του μηχανισμού ανθεκτικότητας με αλλαγή στόχου υποστηρίζεται από το γεγονός ότι υπάρχουν ανθεκτικοί πληθυσμοί του ακάρεος στους οποίους τα ένζυμα αποτοξικοποίησης δεν παίζουν κάποιο ρόλο αλλά και η απουσία διασταυρωτής ανθεκτικότητας μεταξύ των πυρεθρινοειδών με δραστικές ουσίες από άλλες χημικές ομάδες μας δείχνει την ύπαρξη δεύτερου μηχανισμού ανθεκτικότητας. Αυτός ο μηχανισμός ανθεκτικότητας έχει περιγραφεί στις Η.Π.Α σε ανθεκτικά στελέχη τα οποία παρουσιάζουν μεταλλαγές στο κανάλι νατρίου που είναι ο κύριος στόχος δράσης των πυρεθρινοειδών ακαρεοκτόνων.

1.4.3 <Μέτρα ελέγχου ανθεκτικότητας>

Η ανθεκτικότητα του ακάρεος σε διάφορα ακαρεοκτόνα είναι ένα πρόβλημα το οποίο χρήζει αντιμετώπισης καθώς, όπως είναι κοινώς αποδεκτό, η χημική καταπολέμηση είναι η πιο αποτελεσματική μέθοδος αντιμετώπισης του ακάρεος συγκριτικά με τις υπόλοιπες μεθόδους καταπολέμησης (βιολογικές, μελισσοτεχνικές κ.ά.). Η αντιμετώπιση όμως του προβλήματος της ανθεκτικότητας του ακάρεος στα ακαρεοκτόνα είναι μια δύσκολη υπόθεση καθώς θα πρέπει να συνδυαστούν πολλές μέθοδοι και τακτικές μαζί προκειμένου να μειωθεί το πρόβλημα της ανθεκτικότητας. Έτσι, για παράδειγμα η ανάπτυξη μεμονωμένων μεθόδων όπως η δημιουργία νέων φυτοπροστατευτικών προϊόντων θα ήταν δύσκολη καθώς θα είχε αυξημένο κόστος έρευνας, αλλά και οι απαιτήσεις για ουσίες περισσότερες φιλικές στο περιβάλλον περιορίζουν σημαντικά την ανάπτυξη αυτής της μεθόδου. Επιπλέον, μια άλλη λύση θα αποτελούσε η επιλογή και εκτροφή ανθεκτικών μελισσών κάτι όμως που βρίσκεται ακόμη στα πρώτα στάδια. Μια άλλη τακτική για την αντιμετώπιση του προβλήματος της ανθεκτικότητας είναι η αύξηση των δόσεων της δραστικής ουσίας κατά την εφαρμογή κάτι όμως που δεν θα είχε αποτέλεσμα για τον έλεγχο του ακάρεος εφόσον υπάρχει μεγάλο επίπεδο ομομιξίας στο άκαρι και η τακτική αυτή είναι αποτελεσματική σε περιπτώσεις που οι απόγονοι είναι ετεροζυγωτικοί. Ίσως όμως η μέθοδος αυτή να ήταν αποτελεσματική σε αυτή

την περίπτωση εάν τα στελέχη με υψηλή ανθεκτικότητα δεν ήταν πολλά ή εάν η ανθεκτικότητα ήταν πολυγονική (Πάκος, 2009). Ένα άλλο φαινόμενο το οποίο θα μπορούσε να αποτελέσει μια τακτική αντιμετώπισης της ανθεκτικότητας του ακάρεος είναι το φαινόμενο της αναστροφής της ανθεκτικότητας. Αυτό το φαινόμενο συμβαίνει όταν δεν γίνεται χρήση ακαρεοκτόνων με αποτέλεσμα η συχνότητα εμφάνισης των ανθεκτικών στελεχών του ακάρεος να μειώνεται εξαιτίας ότι οι γονότυποι ανθεκτικότητας είναι συνήθως σε δυσχερή θέση όταν δεν γίνεται χρήση φυτοφαρμάκων λόγω κάποιας μη ισορροπημένης ή άναρχης φυσιολογικής διαδικασίας (Milani & Vedova, 2002). Στην Ιταλία (Milani & Vedova, 2002) μελέτησαν το φαινόμενο της αναστροφής της ανθεκτικότητας σε επτά πληθυσμούς του ακάρεος οι οποίοι παρουσίαζαν ανθεκτικότητα στη δραστική ουσία Fluvalinate και στους οποίους δεν είχε γίνει επέμβαση με ακαρεοκτόνο για δυο χρόνια και τα αποτελέσματα που πήραν σε διάστημα 3 ετών ήταν ότι η επιβίωση των ανθεκτικών πληθυσμών μειώθηκε από 19-66% στο 1,3-7,8%. Γενικά όμως εμφανής επιπτώσεις της αναστροφής της ανθεκτικότητας θα πρέπει να αναμένονται μόνο πάνω από πολλές γενιές ακάρεων.

Συνοψίζοντας λοιπόν, η αντιμετώπιση του προβλήματος της ανθεκτικότητας όπως αναφέραμε παραπάνω είναι μια δύσκολη υπόθεση που απαιτεί τον συνδυασμό πολλών μεθόδων μαζί για την επίλυση του προβλήματος. Κάποιες από τις σημαντικότερες μεθόδους είναι η εναλλαγή σκευασμάτων που έχουν διαφορετικές δραστικές ουσίες και οι οποίες έχουν διαφορετικό τρόπο δράσης, επιλογή και εκτροφή μελισσών ανθεκτικών έναντι στο άκαρι, συνδυασμός βιολογικών, χημικών και άλλων μεθόδων μαζί και χρήση φυσικών ουσιών αποτελεσματικών έναντι στο άκαρι.

1.5 <Σκοπός πτυχιακής εργασίας>

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής μελέτης ήταν να γίνει καθορισμός διαγνωστικών συγκεντρώσεων του ευαίσθητου πληθυσμού του βαρρόα στο ακαρεοκτόνο tau-fluvalinate, με στόχο τον μετέπειτα έλεγχο φυσικών πληθυσμών για την ύπαρξη ή όχι ανθεκτικότητας.

2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 < Συλλογή πληθυσμών βαρρόα >

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων της παρούσας μελέτης χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις πληθυσμοί βαρρόα εκ των οποίων ο ένας πληθυσμός προέρχονταν από μελίτσια που βρίσκονται στο Εργαστήριο Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και οι υπόλοιποι τρεις πληθυσμοί ήταν φυσικοί πληθυσμοί που προέρχονταν από διαφορετικούς μελισσοκόμους που διατηρούν μελισσοκομεία κοντά στην πόλη του Ηρακλείου. Όσον αφορά τον πληθυσμό που προέρχονταν από το Εργαστήριο Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών θεωρείται ευαίσθητος και κατάλληλος για τον προσδιορισμό των διαγνωστικών συγκεντρώσεων για το ακαρεοκτόνο tau-fluvalinate εφόσον δεν έχει γίνει χρήση συνθετικών ακαρεοκτόνων στα μελίτσια του εργαστηρίου από το 2001 και μετά. Οι υπόλοιποι τρεις φυσικοί πληθυσμοί οι οποίοι ήταν ο πληθυσμός 1 που συλλέχθηκε από την περιοχή Γάζι στις 30/09/2015, ο πληθυσμός 2 που συλλέχθηκε από την περιοχή Βενεράτο στις 1/10/2015 και ο πληθυσμός 3 που συλλέχθηκε από την περιοχή Γούρνες στις 3/10/2015 προέρχονταν από μελισσοκομεία στα οποία γίνεται χρήση συνθετικών ακαρεοκτόνων και χρησιμοποιήθηκαν για τον μετέπειτα έλεγχο ύπαρξης ή όχι ανθεκτικότητας με βάση τις διαγνωστικές συγκεντρώσεις που προέκυψαν από τον ευαίσθητο πληθυσμό.

Η συλλογή των βαρρόα για την πραγματοποίηση των βιοδοκιμών για τον καθορισμό των διαγνωστικών συγκεντρώσεων έγινε με κηρήθρες με σφραγισμένο γόνο (Εικ. 16) που αποστέλλονταν από το Εργαστήριο Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Ινστιτούτου Ελιάς Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου στο Ηράκλειο, όπου και πραγματοποιήθηκαν τα

πειράματα. Οι κηρήθρες ή τμήματα της κηρήθρας διατηρούνταν στο εργαστήριο σε κλωβούς υπό ελεγχόμενες συνθήκες (T 32-34 °C, Σ.Υ 60-70 %). Με τη βοήθεια εντομολογικής λαβίδας γινόταν αποσφράγιση των κελιών (Εικ. 17) του γόνου και αφαιρούταν το



Εικόνα 16: Κηρήθρα με σφραγισμένο γόνο

περιεχόμενο του κελιού (προνύμφη ή νύμφη). Στη συνέχεια με τη βοήθεια ενός πινέλου με μαλακές τρίχες και ελαφρώς βρεγμένου γινόταν η συλλογή των ώριμων θηλυκών βαρρόα πάνω από το γόνο ή τα κελιά. Τα βαρρόα που συλλέγονταν διατηρούνταν (T 25 °C, Σ.Υ. 50%) σε τριβλίο Petri μαζί με τρεις-τέσσερις προνύμφες για τροφή μέχρι να συγκεντρωθεί επαρκής αριθμός βαρρόα για τις βιοδοκιμές (Εικ. 18).

Προκειμένου να περιοριστεί ο αριθμός των βαρρόα που θα πέθαιναν από φυσικά αίτια κατά τη διάρκεια των βιοδοκιμών, χρησιμοποιήθηκαν εκείνα που ήταν πιο ζωντά και κινητικά και αποκλείονταν αυτά που χαρακτηρίζονταν από περιορισμένη κινητικότητα. Όσον αφορά το στάδιο του γόνου από τα οποία συλλέγονταν τα βαρρόα δεν έγινε επιλογή καθώς σύμφωνα με τη βιβλιογραφία δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα. Όσον αφορά τη συλλογή των βαρρόα για τους τρεις φυσικούς πληθυσμούς έγινε κατά αντιστοιχία με τη συλλογή των βαρρόα από τις κηρήθρες που αποστέλλονταν από το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.



Εικόνα 17: Αποσφράγιση κελιών με εντομολογική λαβίδα



Εικόνα 19: Εντομολογική λαβίδα, πινέλο, γυάλινο διαφανές φιαλίδιο και τρυβλίο με προνύμφες και βαρρόα



Εικόνα 18: Τρυβλίο που περιέχονται τα βαρρόα μαζί με προνύμφες

2.2 <Φυτοπροστατευτικά προϊόντα >

Για την διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε η δραστική ουσία tau-fluvalinate (Fluka), η οποία ήταν αναλυτικής καθαρότητας (technical grade) 91,9 %. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε η ακετόνη (Sigma-Aldrich) με καθαρότητα $\geq 99,5$ %, στην οποία διαλύθηκε κατάλληλη ποσότητα της δραστικής ουσίας ώστε να δημιουργηθούν συγκεντρώσεις από 0,004 - 40 ppm, αφού όμως πρώτα έγινε διόρθωση με βάση την καθαρότητα της δραστικής ουσίας. αφού η καθαρότητα ήταν αρκετά μικρότερη από 100%.

2.3 <Τοξικολογικές βιοδοκιμές ευαίσθητου πληθυσμού>

Έπειτα από πολλές δοκιμές η μέθοδος που ακολουθήθηκε για τη διενέργεια των τοξικολογικών βιοδοκιμών αφορά τη χρήση γυάλινων διαφανών φιαλιδίων (Εικ. 10) με βιδωτό καπάκι, όγκου 4 ml (45x 14.75 mm, Supelco) των οποίων η επιφάνεια εσωτερικά θα φέρει μια επιφανειακή επίστρωση (φίλμ) με τη δραστική ουσία. Πιο αναλυτικά η μέθοδος είχε ως εξής:

Κατάλληλη ποσότητα καθαρής δραστικής ουσίας διαλύθηκε σε ακετόνη προκειμένου να δημιουργηθούν οι **Εικόνα 20:** Γυάλινο διαφανές φιαλίδιο όγκου 4 ml συγκεντρώσεις από 0,004 – 40 ppm (πίνακας 2.1).

Πίνακας 2.1: Συγκεντρώσεις της δραστικής ουσίας που χρησιμοποιήθηκαν και οι αντίστοιχες τελικές ποσότητες της δραστικής ουσίας ανά φιαλίδιο.

Συγκέντρωση (μg/ml)	Ποσότητα ανά φιαλίδιο (μg)
0.004	0.001
0.012	0.003
0.04	0.01
0.12	0.03
0.4	0.1
1.2	0.3
4	1
12	3
40	10

Στη συνέχεια με τη βοήθεια μηχανικής πιπέτας μεταφέρονταν σε κάθε φιαλίδιο ποσότητα 250 μL από κάθε συγκέντρωση, ενώ στα φιαλίδια του μάρτυρα προστέθηκε ποσότητα 250 μL διαλύτης (ακετόνη). Έπειτα τα φιαλίδια τοποθετούνταν οριζόντια σε συσκευή με κινούμενους οριζόντιους κυλίνδρους (μηχανή ψησίματος λουκάνικων) για να έχουμε ομοιόμορφη κατανομή της δραστικής ουσίας και ταυτόχρονη εξάτμιση του διαλύτη. Έτσι με αυτό τον τρόπο η εσωτερική επιφάνεια του φιαλιδίου καλυπτόταν ομοιόμορφα με τη δραστική ουσία σε ποσότητες από 0,001 μg έως 10 μg. Πρέπει να αναφερθεί ότι τα φιαλίδια ετοιμάζονταν πριν αρχίσει η συλλογή των βαρρόα από τις κηρήθρες. Το επόμενο βήμα αφορούσε τη μεταφορά των βαρρόα που είχαμε συλλέξει από τις κηρήθρες σε κάθε ένα από τα φιαλίδια, όπου σε κάθε



φιαλίδιο τοποθετούνταν τουλάχιστον οκτώ βαρρόα και έπειτα κλεινόταν το φιαλίδιο με βιδωτό καπάκι (Thermo Scientific). Τα φιαλίδια που περιείχαν τα ακάρεα επώαστηκαν μακριά από το φως και σε θερμοκρασία 27-29 °C για τρεις ώρες. Μετά το πέρασμα των τριών ωρών τα βαρρόα μεταφέρονταν σε τριβλίο και ελέγχονταν πόσα ήταν ζωντανά. Ζωντανά θεωρούνταν όσα βαρρόα ήταν ικανά να διανύσουν απόσταση μεγαλύτερη από το διπλάσιο του σώματος τους ενώ νεκρά θεωρούνταν όσα δεν αντιδρούσαν σε ερέθισμα ή όσα τρεμούλιαζαν κάτι το οποίο μας έδειχνε ότι είχαν επηρεαστεί από τη δραστική ουσία και ότι σύντομα θα πέθαιναν. Βαρρόα που θανατώθηκαν κατά λάθος εξαιρούνταν της καταμέτρησης.

2.4 <Τοξικολογικές βιοδοκιμές φυσικών πληθυσμών>

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την διενέργεια των τοξικολογικών βιοδοκιμών για τον έλεγχο ύπαρξης ανθεκτικότητας στους τρεις φυσικούς πληθυσμούς αφορούσε όπως και στις τοξικολογικές βιοδοκιμές για τη εύρεση της διαγνωστικής συγκέντρωσης στον ευαίσθητο πληθυσμό τη χρήση γυάλινων διαφανών φιαλιδίων με βιδωτό καπάκι, όγκου 4 ml (45x 14.75 mm, Supelco). Αναλυτικότερα για τη διενέργεια των βιοδοκιμών ακολουθήθηκαν τα ακόλουθα βήματα:

Ως διαγνωστική συγκέντρωση για τον έλεγχο ύπαρξης ανθεκτικότητας στους τρεις φυσικούς πληθυσμούς χρησιμοποιήθηκε η τιμή θνησιμότητας του 90% (LD₉₀) του ευαίσθητου πληθυσμού που προέκυψε από τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων των βιοδοκιμών του ευαίσθητου πληθυσμού και η οποία και ήταν 15,5 μg/φιαλίδιο δραστικής ουσίας. Η ποσότητα λοιπόν της δραστικής ουσίας που προέκυψε από τη διαγνωστική συγκέντρωση διαλύθηκε σε ακετόνη δημιουργώντας συγκέντρωση 64 ppm. Στη συνέχεια με τη βοήθεια μηχανικής πιπέτας μεταφέρθηκε ποσότητα 250 μL σκέτη ακετόνη στα φιαλίδια του μάρτυρα και ποσότητα 250 μL από τη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας. Έπειτα τα φιαλίδια τοποθετούνταν οριζόντια σε συσκευή με κινούμενους οριζόντιους κυλίνδρους (μηχανή ψησίματος λουκάνικων) έτσι ώστε να υπάρξει ομοιόμορφη κατανομή της δραστικής ουσίας και ταυτόχρονη εξάτμιση του διαλύτη με αποτέλεσμα να δημιουργείται εσωτερικά των φιαλιδίων ένα φιλμ με τη δραστική ουσία σε συγκέντρωση 15,5 μg. Στο επόμενο βήμα μεταφέρονταν τα βαρρόα που συλλέγονταν από τις κηρήθρες στα φιαλίδια τοποθετώντας 8-10 βαρρόα ανά φιαλίδιο. Στη συνέχεια έπειτα από τρεις ώρες λαμβάνονταν η μέτρηση όπου και θεωρούνταν νεκρά όσα δεν μπορούσαν να διανύσουν απόσταση ίση με το διπλάσιο του

σώματος του. Έπειτα από τον έλεγχο της θνησιμότητας των βαρρόα, τα νεκρά βαρρόα υπολογίστηκαν σε ποσοστό επί τοις εκατό (%) του συνόλου.

2.5 <Συσχέτιση αποτελεσμάτων με ιστορικό καταπολέμησης>

Οι επεμβάσεις που γίνονται στα μελίσσια για την καταπολέμηση του βαρρόα παίζουν σημαντικό ρόλο αφού συνδέονται άμεσα με την ανάπτυξη ανθεκτικότητας του βαρρόα στις διάφορες δραστικές ουσίες. Γι' αυτό το λόγο έγινε συσχέτιση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τις τοξικολογικές βιοδοκιμές για τους τρεις φυσικούς πληθυσμούς με το ιστορικό καταπολέμησης των πληθυσμών. Έτσι υπήρξε τηλεφωνική ή προσωπική επικοινωνία με τους μελισσοκόμους που διατηρούν τα μελισσοκομεία από τα οποία συλλέχθηκαν οι πληθυσμοί. Για κάθε πληθυσμό χωριστά έγινε καταγραφή των επεμβάσεων που έχουν γίνει με συνθετικά ακαρεοκτόνα από το 2012 μέχρι σήμερα. Έπειτα το ιστορικό αυτό συσχετίστηκε με τα αποτελέσματα που είχαν προκύψει και αφορούσαν τη θνησιμότητα των βαρρόα των τριών φυσικών πληθυσμών κατά την έκθεση τους στη διαγνωστική συγκέντρωση της δραστικής ουσίας.

2.6 <Στατιστική ανάλυση>

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις τοξικολογικές βιοδοκιμές του ευαίσθητου πληθυσμού υποβλήθηκαν σε στατιστική επεξεργασία με τη χρήση του προγράμματος PriProbit το οποίο χρησιμοποιείται στην τοξικολογία και με το οποίο υπολογίστηκαν οι τιμές LD₅₀ και LD₉₀ του πληθυσμού για τη δραστική ουσία ενώ με βάση την απόκριση του πληθυσμού (καμπύλη θνησιμότητας) προσδιορίστηκε η διαγνωστική συγκέντρωση η οποία προκαλεί θνησιμότητα στο 90% του ευαίσθητου πληθυσμού και η οποία χρησιμοποιήθηκε αργότερα για τον έλεγχο ύπαρξης ανθεκτικότητας στους τρεις φυσικούς πληθυσμούς. Επιπλέον το πρόγραμμα υπολογίζει τα όρια εμπιστοσύνης 95% και έλαβε υπόψη τον αριθμό των βαρρόα που πέθαναν στο μάρτυρα.

3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 <Διαγνωστικές συγκεντρώσεις ευαίσθητου πληθυσμού>

Στη παρούσα υποενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τα οποία προέκυψαν από τις τοξικολογικές βιοδοκιμές που πραγματοποιήθηκαν για τον ευαίσθητο πληθυσμό, ο οποίος ήταν ο αυτός που προέρχονταν από το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, προκειμένου να γινόταν προσδιορισμός της διαγνωστικής συγκέντρωσης για τη δραστική ουσία tau-fluvalinate με βάση τη θνησιμότητα του πληθυσμού αυτού που θεωρήθηκε ως ευαίσθητος. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις βιοδοκιμές υποβλήθηκαν σε στατιστική ανάλυση με το πρόγραμμα Probit όπου και προέκυψαν οι τιμές LD₅₀ και LD₉₀ του πληθυσμού για τη δραστική ουσία tau-fluvalinate μαζί με άλλες στατιστικές παραμέτρους. Ως διαγνωστική συγκέντρωση για τον μετέπειτα έλεγχο ύπαρξης ή όχι ανθεκτικότητας στη δραστική ουσία tau-fluvalinate στους τρεις φυσικούς πληθυσμούς θεωρήθηκε η τιμή εκείνη η οποία προκαλεί θνησιμότητα στο 90% του πληθυσμού (LD₉₀). Παρακάτω λοιπόν στο πίνακα 3.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των τοξικολογικών βιοδοκιμών, όπου και διακρίνονται οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν με το αντίστοιχο ποσοστό θνησιμότητας των βαρρόα ανά συγκέντρωση για τη δραστική ουσία tau-fluvalinate. Παρατηρώντας τα αποτελέσματα διακρίνουμε πως η θνησιμότητα στο μάρτυρα ήταν στο 2,5% αρκετά χαμηλότερη από το όριο του 10% που ισχύει για τις αντίστοιχες βιοδοκιμές, ενώ παρατηρείται αύξηση του ποσοστού της θνησιμότητας όσο αυξανόταν οι συγκεντρώσεις της δραστικής ουσίας όπου και στη μεγαλύτερη συγκέντρωση των 10 μg/φιαλίδιο παρατηρήθηκε 100% θνησιμότητα.

Πίνακας 3.1: Θνησιμότητα (%) του ευαίσθητου πληθυσμού στο tau-fluvalinate ανά συγκέντρωση

<i>Συγκέντρωση δραστικής ουσίας (μg/φιαλίδιο)</i>	<i>Θνησιμότητα (%)</i>
Μάρτυρας	2,5
0,001	-
0,003	12,5
0,01	25
0,03	-
0,1	-
0,3	-
1	65,6
3	78,1
10	100

Στη συνέχεια στο πίνακα 3.2 φαίνονται τα αποτελέσματα των τοξικολογικών βιοδοκιμών για τον ευαίσθητο πληθυσμό τα οποία έχουν υποβληθεί στη στατιστική επεξεργασία με το πρόγραμμα PriProbit και όπου μπορούμε να διακρίνουμε τις τιμές θνησιμότητας του 50% (LD₅₀) και του 90% (LD₉₀) του πληθυσμού στη δραστική ουσία tau-fluvalinate καθώς και κάποιες άλλες στατιστικές παραμέτρους (κλίση της ευθείας, το τυπικό σφάλμα, τα όρια εμπιστοσύνης 95%,δοκιμή X²). Όσον αφορά την τιμή LD₅₀ ήταν 0,19 μg/φιαλίδιο, ενώ η τιμή LD₉₀ ήταν 15,5 μg/φιαλίδιο όπου και ήταν η διαγνωστική συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε για τον μετέπειτα έλεγχο που έγινε για την ύπαρξη ή όχι ανθεκτικότητας στους τρεις φυσικούς πληθυσμούς.

Πίνακας 3.2: Ανάλυση PriProbit των αποτελεσμάτων των τοξικολογικών βιοδοκιμών του ευαίσθητου πληθυσμού.

Δραστική ουσία	N	LD₅₀	CL95%	LD₉₀	CL95%	slope	s.e.	X²	df	p
Tau-fluvalinate	121	0,19	0,06-0,50	15,5	4,3-151	0,67	0,12	1,5	3	0,674

N= Αριθμός χρησιμοποιούμενων βαρρόα, LD₅₀, LD₉₀= Θανατηφόρες δόσεις, CL95%=Όρια εμπιστοσύνης στο 95%, Slope και s.e. =Η κλίση της ευθείας και το τυπικό σφάλμα

3.2 <Φυσικοί πληθυσμοί>

Στην παρούσα υποενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τις τοξικολογικές βιοδοκιμές που έγιναν στους φυσικούς πληθυσμούς για τη διαπίστωση ύπαρξης ή όχι ανθεκτικότητας στη δραστική ουσία tau-fluvalinate. Οι φυσικοί πληθυσμοί που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τρεις και προέρχονταν από μελισσοκομεία που βρίσκονται σε διαφορετικές περιοχές του Ηρακλείου και στα οποία γίνεται χρήση συνθετικών ακαρεοκτόνων. Παρακάτω στον πίνακα 3.3 αναφέρονται οι τρεις διαφορετικοί πληθυσμοί με στοιχεία για την περιοχή προέλευσης για το καθένα ξεχωριστά, τον αριθμό των βαρρόα που χρησιμοποιήθηκαν για τον κάθε πληθυσμό στις τοξικολογικές βιοδοκιμές καθώς και την ημερομηνία συλλογής του κάθε πληθυσμού.

Πίνακας 3.3: Στοιχεία σχετικά με την προέλευση των δειγμάτων.

	Περιοχή προέλευσης	Ημερομηνία συλλογής	Αριθμός βαρρόα
Πληθυσμός 1	Γάζι	30/09/2015	48
Πληθυσμός 2	Βενεράτο	01/10/2015	39
Πληθυσμός 3	Γούρνες	03/10/2015	42

Στη συνέχεια στον πίνακα 3.4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις τοξικολογικές βιοδοκιμές των τριών φυσικών πληθυσμών. Στον πίνακα διακρίνεται το ποσοστό θνησιμότητας των τριών φυσικών πληθυσμών από την εφαρμογή της διαγνωστικής συγκέντρωσης, η οποία όπως αναφέραμε παραπάνω ήταν η τιμή LD₉₀ του ευαίσθητου πληθυσμού για τη δραστική ουσία. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα παρατηρούμε ότι και στους τρεις πληθυσμούς τα ποσοστά θνησιμότητας στον μάρτυρα είναι χαμηλά κάτι που ήταν αναμενόμενο εφόσον τα βαρρόα αυτά δεν ήρθαν σε επαφή με τη δραστική ουσία. Όσον αφορά τα ποσοστά θνησιμότητας από την εφαρμογή της διαγνωστικής συγκέντρωσης στους πληθυσμούς φαίνεται ότι και στους τρεις πληθυσμούς τα ποσοστά είναι χαμηλά, με τον πληθυσμό 1 να έχει πολύ χαμηλό ποσοστό που φθάνει το 12.5%, το πληθυσμό 2 να έχει μέτρια χαμηλό ποσοστό που φθάνει στο 47.6% και το πληθυσμό 3 να έχει επίσης χαμηλό ποσοστό που είναι στο 29.2%. Είναι λοιπόν φανερό πως και οι τρεις πληθυσμοί έχουν χαμηλά ποσοστά θνησιμότητας στη δραστική ουσία με τον πληθυσμό 1 να έχει το χαμηλότερο ποσοστό θνησιμότητας 12,5 % και συνεπώς να είναι ο πιο ανθεκτικός πληθυσμός στη

δραστική ουσία σε σύγκριση με τους υπόλοιπους δυο πληθυσμούς. Ο πληθυσμός 3 είναι ο αμέσως επόμενος πληθυσμός από τον πληθυσμό 1, ο οποίος έχει χαμηλό ποσοστό θνησιμότητας 29,2 % και ο οποίος έχει αναπτύξει επίσης ανθεκτικότητα στη δραστική ουσία. Τέλος, ο πληθυσμός 2 έχει επίσης χαμηλά ποσοστά θνησιμότητας 47,6% και έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα στη δραστική ουσία αλλά είναι ο λιγότερος ανθεκτικός πληθυσμός σε σχέση με τους υπόλοιπους δυο πληθυσμούς.

Πίνακας 3.4: Ποσοστό θνησιμότητας τριών φυσικών πληθυσμών στη διαγνωστική συγκέντρωση.

	Πληθυσμός 1	Πληθυσμός 2	Πληθυσμός 3
Μάρτυρας	4,2% (1/24)	5,6% (1/18)	0% (0/18)
Tau-fluvalinate	12,5% (3/24)	47,6% (10/21)	29,2% (7/24)

3.3 <Συσχέτιση αποτελεσμάτων με το ιστορικό καταπολέμησης των πληθυσμών>

Σε αυτή την υποενότητα θα αναφερθούμε στις πληροφορίες που συλλέξαμε σχετικά με το ιστορικό καταπολέμησης των τριών φυσικών πληθυσμών από το 2012 μέχρι το 2015, έπειτα από την προσωπική επικοινωνία που είχαμε με τους μελισσοκόμους που διατηρούν τα μελίσσια από τα οποία συλλέξαμε τους πληθυσμούς για τη διενέργεια των τοξικολογικών βιοδοκιμών για τη διαπίστωση ύπαρξης ή όχι ανθεκτικότητας στους φυσικούς πληθυσμούς για τη δραστική ουσία tau-fluvalinate. Στη συνέχεια οι πληροφορίες σχετικά με το ιστορικό καταπολέμησης συσχετίστηκαν με τα αποτελέσματα που αφορούσαν το ποσοστό θνησιμότητας στους φυσικούς πληθυσμούς στη διαγνωστική συγκέντρωση της δραστικής ουσίας που χρησιμοποιήθηκε. Παρακάτω παρουσιάζονται για κάθε πληθυσμό αναλυτικά το ιστορικό καταπολέμησης του και η συσχέτιση του με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις βιοδοκιμές.

ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ 1

Παρακάτω στον πίνακα 3.5 φαίνονται οι επεμβάσεις που έχουν γίνει με διάφορα συνθετικά ακαρεοκτόνα για τον πληθυσμό 1 από το 2012 έως και το 2015. Όσον αφορά τις επεμβάσεις

εκείνες που επικεντρωνόμαστε κυρίως αφορούν τη δραστική ουσία tau-fluvalinate, η οποία ήταν η δραστική ουσία που μελετήσαμε για να διαπιστώσουμε εάν υπάρχει ανθεκτικότητα του πληθυσμού σε αυτή τη δραστική ουσία και για την οποία έγινε ο συσχετισμός των αποτελεσμάτων των τοξικολογικών βιοδοκιμών που προέκυψαν για τον πληθυσμό 1 με το ιστορικό καταπολέμησης του. Παρατηρώντας λοιπόν τον πίνακα με το ιστορικό καταπολέμησης του πληθυσμού βλέπουμε πως κάθε χρόνο γίνονται τρεις επεμβάσεις, ενώ έχει γίνει χρήση διαφορετικών δραστικών ουσιών στις επεμβάσεις που έχουν γίνει από το 2012 μέχρι και το 2015 για την καταπολέμηση του ακάρεος. Από τον πίνακα λοιπόν διακρίνουμε πως η δραστική ουσία amitraz έχει χρησιμοποιηθεί στις περισσότερες επεμβάσεις που έχουν γίνει για την καταπολέμηση του ακάρεος, ενώ έχει γίνει χρήση της δραστικής ουσίας coumaphos μια φορά στην επέμβαση που έγινε το χειμώνα του 2013. Όσον αφορά τη δραστική ουσία tau-fluvalinate έχει χρησιμοποιηθεί δυο φορές τα τελευταία τέσσερα χρόνια, όπου η μια επέμβαση ήταν το χειμώνα του 2012 και η άλλη επέμβαση το χειμώνα του 2015. Παρόλο όμως την περιορισμένη χρήση του tau-fluvalinate τα τέσσερα τελευταία χρόνια, το ποσοστό θνησιμότητας του πληθυσμού στη δραστική ουσία ήταν πολύ χαμηλό μόλις 12,5 % κάτι που σημαίνει πως ο πληθυσμός έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα στη δραστική ουσία.

Πίνακας 3.5: Δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στις επεμβάσεις ανά έτος στα μελίτσια από τα οποία προέρχεται ο πληθυσμός 1.

Έτος	Χειμώνας	Άνοιξη	Καλοκαίρι	Φθινόπωρο
2012	tau-fluvalinate	amitraz	-	amitraz
2013	coumaphos	amitraz	-	amitraz
2014	amitraz	amitraz	-	amitraz
2015	tau-fluvalinate	amitraz	amitraz	-

ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ 2

Παρακάτω στον πίνακα 3.6 φαίνεται το ιστορικό χρήσης ακαρεοκτόνων για το πληθυσμό 2 από το 2012 μέχρι και το 2015. Όπως και στον πληθυσμό 1 θα επικεντρωθούμε περισσότερο στη δραστική ουσία tau-fluvalinate για την οποία έγινε έλεγχος ύπαρξης ή όχι ανθεκτικότητας του πληθυσμού και για την οποία έγινε ο συσχετισμός των αποτελεσμάτων των τοξικολογικών βιοδοκιμών για τον πληθυσμό 2 με το ιστορικό καταπολέμησης του πληθυσμού. Παρατηρώντας λοιπόν τον πίνακα διαπιστώνουμε πως οι επεμβάσεις που έγιναν

στον πληθυσμό 2 τα τελευταία τέσσερα χρόνια ήταν μια με δυο κάθε χρόνο και ήταν λιγότερες σε σχέση με τις επεμβάσεις που έγιναν στον πληθυσμό 1 τα αντίστοιχα έτη. Ενώ και εδώ στον πληθυσμό 2 η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη δραστική ουσία ήταν το amitraz όπου έγιναν τρεις εφαρμογές από το 2012 μέχρι και το 2015 ενώ μια εφαρμογή έγινε με το coumaphos την άνοιξη του 2013 και μια εφαρμογή με οξαλικό οξύ την άνοιξη του 2014 το οποίο είναι ένα οργανικό οξύ που κατατάσσεται στην κατηγορία καταπολέμησης του ακάρεος με φυσικές ουσίες. Όσον αφορά τη δραστική ουσία tau-fluvalinate χρησιμοποιήθηκε μια φορά σε επέμβαση που έγινε το φθινόπωρο του 2014. Αλλά και στον πληθυσμό 2 όπως και στον 1 διαπιστώθηκε ανθεκτικότητα στη δραστική ουσία όπου υπήρξαν χαμηλά ποσοστά θνησιμότητας 47,6% παρόλο που έγινε περιορισμένη χρήση της δραστικής ουσίας (1 φορά στα τέσσερα χρόνια). Ενώ παρατηρείται πως το ποσοστό θνησιμότητας στη δραστική ουσία tau-fluvalinate ήταν χαμηλότερο στον πληθυσμό 1 (12,5%) όπου έγιναν δυο επεμβάσεις τα τελευταία τέσσερα χρόνια σε σχέση με το ποσοστό θνησιμότητας του πληθυσμού 2 (47,6%) όπου έγινε μια επέμβαση τα τελευταία τέσσερα χρόνια.

Πίνακας 3.6: Δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στις επεμβάσεις ανά έτος στα μελίτσια από τα οποία προέρχεται ο πληθυσμός 2.

Έτος	Χειμώνας	Άνοιξη	Καλοκαίρι	Φθινόπωρο
2012	-	amitraz	-	amitraz
2013	-	coumaphos	-	-
2014	-	οξαλικό οξύ	-	tau-fluvalinate
2015	-	amitraz	-	-

ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ 3

Τα αποτελέσματα που αφορούν τις επεμβάσεις με τα διάφορα ακαρεοκτόνα που έγιναν στα μελίτσια που προέρχεται ο πληθυσμός 3 από το 2012 μέχρι και το 2015 εμφανίζονται στο πίνακα 3.7. Από το ιστορικό καταπολέμησης λοιπόν για τον πληθυσμό 3 διακρίνουμε πως υπήρξαν περισσότερες επεμβάσεις (δυο με τρεις επεμβάσεις ανά έτος) σε σχέση με τον πληθυσμό 2 και περίπου ίσες επεμβάσεις με τον πληθυσμό 1. Ενώ όπως και στους πληθυσμούς 1 και 2 που είχαμε περισσότερες επεμβάσεις με τη δραστική ουσία amitraz έτσι και στον πληθυσμό 3 η δραστική ουσία amitraz ήταν η επικρατέστερη επιλογή όπου τα τελευταία τέσσερα χρόνια έγιναν πέντε εφαρμογές. Όσον αφορά τις υπόλοιπες επεμβάσεις

έχει γίνει μια εφαρμογή με τη δραστική ουσία coumaphos την άνοιξη του 2013 και δυο επεμβάσεις με οξαλικό οξύ, η μια το φθινόπωρο του 2013 και η άλλη εφαρμογή το φθινόπωρο του 2014. Τέλος σχετικά με τη δραστική ουσία tau-fluvalinate βλέπουμε πως χρησιμοποιήθηκε σχεδόν σε ετήσια βάση, με τρεις εφαρμογές την άνοιξη του 2012, την άνοιξη του 2014 και την άνοιξη του 2015. Η αυξημένη χρήση του tau-fluvalinate την τελευταία τετραετία συνδέεται με το χαμηλό ποσοστό θνησιμότητας του πληθυσμού στη δραστική ουσία το οποίο ήταν 29,2%. Ενώ παρόλο ότι στον πληθυσμό 3 έγιναν περισσότερες επεμβάσεις με τη δραστική ουσία tau-fluvalinate σε σχέση με τον πληθυσμό 1, ο πληθυσμός 3 είχε πιο υψηλά ποσοστά θνησιμότητας (29,2%) σε σχέση με το πληθυσμό 1 (12,5%) αλλά και μεταξύ των τριών πληθυσμών ο πληθυσμός 2 όπου και έγινε μια μόνο επέμβαση με το tau-fluvalinate στα τέσσερα τελευταία χρόνια είχε το μεγαλύτερο ποσοστό θνησιμότητας (47,6%).

Πίνακας 3.7: Δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στις επεμβάσεις ανά έτος στα μελίσσια από τα οποία προέρχεται ο πληθυσμός 3.

Έτος	Χειμώνας	Άνοιξη	Καλοκαίρι	Φθινόπωρο
2012	-	tau-fluvalinate	amitraz	Amitraz
2013	-	coumaphos	amitraz	οξαλικό οξύ
2014	-	tau-fluvalinate	amitraz	οξαλικό οξύ
2015	-	tau-fluvalinate	amitraz	

4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε για πρώτη φορά στη χώρα μας η ευαισθησία του βαρρόα στο πυρεθρινοειδές ακαρεοκτόνο tau-fluvalinate με βιοδοκιμές που έγιναν σε πληθυσμό που προερχόταν από το Εργαστήριο Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και ο οποίος θεωρούνταν ο ευαίσθητος πληθυσμός αναφοράς. Στη συνέχεια με βάση τα αποτελέσματα από τον ευαίσθητο πληθυσμό μελετήθηκε η ύπαρξη ή όχι ανθεκτικότητας στο tau-fluvalinate σε τρεις φυσικούς πληθυσμούς και έγινε συσχετισμός των αποτελεσμάτων αυτών με το ιστορικό καταπολέμησης για τον κάθε φυσικό πληθυσμό χωριστά.

Έπειτα από πολλές δοκιμές η μέθοδος των φιαλιδίων που εφαρμόστηκε χαρακτηρίζεται ως αποτελεσματική και γρήγορη αφού δίνει αποτελέσματα μέσα σε τρεις ώρες. Έτσι για τη μελέτη της ευαισθησίας του βαρρόα στο πυρεθρινοειδές ακαρεοκτόνο tau-fluvalinate αρχικά υπολογίστηκε μια διαγνωστική δόση με βάση τη θνησιμότητα του ευαίσθητου πληθυσμού. Η διαγνωστική αυτή δόση προέκυψε από τα αποτελέσματα των τοξικολογικών βιοδοκιμών του ευαίσθητου πληθυσμού έπειτα από στατιστική ανάλυση με το πρόγραμμα PriProbit όπου βρέθηκαν οι τιμές $LD_{50}=0,19$ $\mu\text{g}/\text{φιαλίδιο}$ και $LD_{90}=15,5$ $\mu\text{g}/\text{φιαλίδιο}$ (θανατηφόρες δόσεις που θανατώνουν το 50% και το 90% του πληθυσμού για τη δραστική ουσία tau-fluvalinate) του ευαίσθητου πληθυσμού. Η διαγνωστική δόση η οποία χρησιμοποιήθηκε αργότερα για την διερεύνηση της ανθεκτικότητας του βαρρόα στους φυσικούς πληθυσμούς ήταν η τιμή LD_{90} . Παράλληλα ανατρέξαμε και στη διεθνή βιβλιογραφία στην οποία οι τιμές LD_{50} που αναφέρονται είναι ποικίλες και εξαρτώνται από τον τρόπο διεξαγωγής της βιοδοκιμής. Σε εργασίες με δύο πληθυσμούς από Αργεντινή (Maggi *et al.*, 2008) και Ουρουγουάη (Maggi *et al.*, 2011) η βιοδοκιμή έγινε με τρυβλία στο πυθμένα των οποίων υπήρχε η δραστική ουσία και μέσα σε αυτά τοποθετούνταν τα βαρρόα μαζί με τρεις μέλισσες για τροφή. Οι μετρήσεις λαμβάνονταν έπειτα από 24 ώρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η τιμή LD_{50} για τη δραστική ουσία tau-fluvalinate ήταν 0,29 $\mu\text{g}/\text{τρυβλίο}$ για τον πληθυσμό της Αργεντινής και $<0,3$ $\mu\text{g}/\text{τρυβλίο}$ για τον πληθυσμό της Ουρουγουάης. Παρατηρούμε λοιπόν πως προκύπτουν κάποιες διαφοροποιήσεις μεταξύ των

πληθυσμών αναφοράς στις διάφορες μελέτες για την τιμή LD₅₀, κάτι που μπορεί να οφείλεται είτε στο πραγματικό επίπεδο ευαισθησίας του πληθυσμού αναφοράς είτε στη μέθοδο που πραγματοποιείται στην εκάστοτε βιοδοκιμή.

Έπειτα ακολούθησε η μελέτη για ύπαρξη ανθεκτικότητας στο tau-fluvalinate για τους τρεις φυσικούς πληθυσμούς χρησιμοποιώντας ως διαγνωστική δόση τη τιμή LD₉₀=15,5 μg/φιαλίδιο του ευαίσθητου πληθυσμού. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως και οι τρεις φυσικοί πληθυσμοί είχαν χαμηλά ποσοστά θνησιμότητας και επομένως έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στο tau-fluvalinate. Πιο αναλυτικά ο πληθυσμός 1 ήταν ο πιο ανθεκτικός και είχε ποσοστό θνησιμότητας 12,5% κάτι το οποίο σημαίνει ότι το ακαρεοκτόνο δεν είναι αποτελεσματικό. Ο αμέσως επόμενος πιο ανθεκτικός πληθυσμός ήταν ο πληθυσμός 3 με ποσοστό θνησιμότητας 29,2% κάτι που σημαίνει όπως και παραπάνω πως το ακαρεοκτόνο δεν είναι αποτελεσματικό. Τέλος ο λιγότερο ανθεκτικός πληθυσμός μεταξύ των τριών πληθυσμών που είχε υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας (47,6%) ήταν ο πληθυσμός 2 όπου σε αυτή την περίπτωση το ακαρεοκτόνο έχει χαμηλή αποτελεσματικότητα.

Πολλές φορές όμως η ανθεκτικότητα των πληθυσμών συνδέεται με τις επεμβάσεις που γίνονται με τα διάφορα ακαρεοκτόνα από πλευράς μελισσοκόμων. Για το λόγο αυτό έγινε συσχέτιση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στους φυσικούς πληθυσμούς με το ιστορικό καταπολέμησης του κάθε πληθυσμού χωριστά. Αρχικά, από το ιστορικό καταπολέμησης των πληθυσμών παρατηρούμε πως η δραστική ουσία η οποία έχει χρησιμοποιηθεί περισσότερο την τελευταία τετραετία είναι το amitraz, κυρίως επειδή κοστίζει λιγότερο καθώς οι μελισσοκόμοι χρησιμοποιούν αυτοσχέδιες ταινίες εμποτισμένες με το σκεύασμα Tactic, ενώ έχει περιοριστεί η χρήση του tau-fluvalinate εξαιτίας της μείωσης της αποτελεσματικότητας του λόγω της ευρείας του χρήσης από το 1990 και μετά. Συσχετίζοντας τα αποτελέσματα για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στους φυσικούς πληθυσμούς με το ιστορικό καταπολέμησης τους προκύπτει πως παρότι υπήρξε περιορισμένη χρήση της δραστικής ουσίας και για τους πληθυσμούς 1 και 2 τα τελευταία τέσσερα χρόνια, οι πληθυσμοί έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί εάν δεχτούμε πως σε αυτή τη δραστική ουσία η ανθεκτικότητα έχει μικρό κόστος προσαρμοστικότητας (fitness cost) και έχει εδραιωθεί από παλαιότερες εφαρμογές οι οποίες γίνονταν εκτεταμένα. Ενώ η ανθεκτικότητα στον πληθυσμό 3 δικαιολογείται καθώς έχει γίνει αυξημένη χρήση της δραστικής ουσίας την τελευταία τετραετία (σχεδόν 1 ανά έτος).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Le Conte Y., Ellis M., Ritter W., 2010. Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses?. *Apidologie* 41, 353-363 [online] available from: <<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00892103/document>> [accessed January 2016]
- Maggi M., Ruffinengo S., Gende L., Eguaras N., Sardella N., 2008. LC50 baseline levels of amitraz, coumaphos, fluvalinate and flumethrin in populations of Varroa destructor from Buenos Aires Province, Argentina. *Journal Apicultural Research* 47(4). [online] available from: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00218839.2008.11101477>> [accessed March 2016]
- Maggi M., Ruffinengo S. R., Mendoza Y., Ojeda P., Ramallo G., Floris I., Eguaras M. J., 2011. Susceptibility of Varroa destructor (Acari: Varroidae) to synthetic acaricides in Uruguay: Varroa mites' potential to develop acaricide resistance. *Parasitol . Res.* 108, 815–821 [online] available from: <<http://link.springer.com/article/10.1007/s00436-010-2122-5/fulltext.html>> [accessed March 2016]
- Milani N., Della Vedona G., 2002. Decline in the proportion of mites resistant to fluvalinate in a population of Varroa destructor not treated with pyrethroids. *Apidologie* 33, 417-422 [online] available from: <<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00891895/document>> [accessed January 2016]
- Rashid M., Wagchoure E. S., Mohsin A. U., Raja S., Sarwar G., 2012. Control of ectoparasitic mite Varroa destructor in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies by using different concentrations of oxalic acid. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 22(1) 72-76 [online] available from: <<http://www.thejaps.org.pk/docs/v-22-1/31.pdf>> [accessed January 2016]
- Rosenkranz P., Aumeier P., Ziegelmann B., 2010. Biology and control of Varroa destructor. *Journal of Invertebrate Pathology* 103, S96-S119 [online] available from: <<http://www.moraybeedinosaurs.co.uk/Varroa/Rosenkranz-Biology-Control-Varroa.pdf>> [accessed January 2016]

Mozes- Koch R., Slabezki Y., Efrat H., Kalev H., Kamer Y., Yakobson B A., Dag A., 2000. First detection in Israel of fluvalinate resistance in the Varroa mite using bioassay and biochemical methods. Experimental and Applied Acarology 24: 35-43 [online] available from: <<http://link.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1006379114942>>

[accessed January 2016]

Yu-Lun Lisa Fu, 2008. Exploring new methods for Varroa mite control. UMI [online] available from:

<https://books.google.gr/books?id=mB0vMf6T8DwC&pg=PA90&lpg=PA90&dq=Yu-Lun+Lisa+Fu+2008&source=bl&ots=AFZAITOfjv&sig=-pQcXw2IsXNabN_g232NnovCZ_k&hl=el&sa=X&ved=0ahUKEwjotK_vdbLAhVEthoKHYsWBXsQ6AEIGjAA#v=onepage&q=Yu-Lun%20Lisa%20Fu%202008&f=false>

[accessed December 2015]

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Αεράκη Α., 2006. Βαρροϊκή ακαρίαση ιστορία, βιολογικός κύκλος και τρόποι αντιμετώπισης. Πτυχιακή μελέτη, ΤΕΙ Κρήτης [online] available from: <<http://nefeli.lib.teicrete.gr/browse2/steg/fp/2006/Aeraki/attached-document/2006Aeraki.pdf>> [accessed December 2015], Σελ. 63.

Αλυσσανδράκης Ε., 2007. Μελισσοκομία. ΤΕΙ Κρήτης, Σχολή Τεχνολόγων Γεωπόνων, Ηράκλειο, Σελ.97.

Πάκος Π., 2009. Η ανθεκτικότητα των ακάρεων στα ακαρεοκτόνα. Πτυχιακή μελέτη, ΤΕΙ Κρήτης [online] available from: <<http://nefeli.lib.teicrete.gr/browse2/steg/fp/2009/Pakos/attached-document/2009Pakos.pdf>> [accessed January 2016], Σελ. 52.

Παναγιώτου Ε., 2010. Οικονομική ανάλυση της μελισσοκομίας στην Ελλάδα. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Εργαστήριο γεωργικής οικονομικής έρευνας, Σελ. 78.

Ζιώγας Β. και Μαρκόγλου Α., 2010. Γεωργική Φαρμακολογία. Β' Έκδοση, Εκδόσεις των ιδίων, Αθήνα, Σελ. 846.

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

Melissokomia.com. [online] available from: <<http://www.melissokomia.com>> [accessed November 2015].

The Agribusiness Management Portal, 2013, Βαρροϊκή ακαρίαση Varroa destructor.[online] available from : <<http://agribusinessexpert.blogspot.com/2013/02/varroa-destructor.html>> [accessed December 2015].

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

EIKONA 1

<https://tomelissi.files.wordpress.com/2013/02/beestype.gif?w=383&h=225>

EIKONA 2

http://giatomeli.com/Images/beeinformation-images/bee_life_cycle2.jpg

EIKONA 3

<http://teca.fao.org/sites/default/files/Male%20and%20female%20mating.png>

EIKONA 4

<http://teca.fao.org/sites/default/files/Protonymph%20%28left%29%2C%20deutonymph%20%28center%29%2C%20adult%20%28right%29%20of%20Varroa%20destructor%20female.png>

EIKONA 5

<http://teca.fao.org/sites/default/files/imageDorsal%20and%20ventral%20view%20of%20a%20V.%20destructor%20female022.jpg>

EIKONA 6

http://4.bp.blogspot.com/-wU2c3x8GraM/UOsZ9IvJwOI/AAAAAAAAAG0/imz7q_YftlY/s1600/male+varroa+destructor.jpg

EIKONA 7

<http://www.southernoregonbeekeepers.org/wp-content/uploads/2014/01/Varroa-Mite-Life-Cycle.png>

EIKONA 8

<http://www.ellinikomeli.gr/images/stories/varroa/varroacycle.jpg>

EIKONA 9

http://1.bp.blogspot.com/_FrmtPHCjsmA/SXEZD9IKEuI/AAAAAAAAABe4/rXA_xkBAchA/s400/CIMG2499.JPG

EIKONA 10

<http://www.ellinikomeli.gr/images/stories/varroa/varroa2.sized.jpg>

EIKONA 11

<https://tomelissi.files.wordpress.com/2013/11/a-team-studying-honeybees-in-hawaii-found-that-the-varroa-mite-helped-spread-a-particularly-nasty-strain-of-a-disease-called-deformed-wing-virus.jpg>

EIKONA 13

<http://teca.fao.org/sites/default/files/Healthy%20honey%20bee%20%28left%29%2C%20Affected%20honey%20bee%20%28right%29.png>

EIKONA 15

http://3.bp.blogspot.com/_Wte919fQxl0/VBiC76IkKNI/AAAAAAAAABmk/Hs6smbCQs0I/s1600/P1012153.JPG