



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΝΟΣΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΟΥ ΥΜΕΝΟΠΤΕΡΟΥ *APIS*
MELLIFERA ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΟΥΣ**

Βασίλειος Μασούρας

Επιβλέπων: Μαντζούκας Σπυρίδων, Γεωπόνος-Εντομολόγος

ΙΩΑΝΝΙΝΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ 2024

**PATHOGENIC AGENTS OF *APIS MELLIFERA* AND TREATMENT
APPROACHES**

Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή

Ιωάννινα,

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπων καθηγητής
Σπυρίδων Μαντζούκας,
2. Μέλος επιτροπής
Πατατούκας Γεώργιος
3. Μέλος επιτροπής
Υφαντή Παρασκευή

© Μασούρας, Βασίλειος, 2024.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Δήλωση μη λογοκλοπής

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του Ν. 2121/1993 περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι η παρούσα μπτυχιακή μεταπτυχιακή εργασία είναι εξ ολοκλήρου αποτέλεσμα δικής μου ερευνητικής εργασίας, δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) για τη συγγραφή της περιλαμβάνονται στη βιβλιογραφία.

Μασούρας, Βασίλειος

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το είδος της μέλισσας *Apis mellifera* συγκαταλέγεται στους σημαντικότερους επικονιαστές και η επιβίωση των πληθυσμών της είναι ζωτικής σημασίας για την οικονομία, την αγροτική παραγωγή και τα οικοσυστήματα παγκοσμίως. Κατά τις τελευταίες δεκαετίες, παρατηρείται μία διαρκώς αυξανόμενη θνησιμότητα στις μελιτοφόρες μέλισσες σε όλες τις χώρες, οφειλόμενη τόσο σε ανθρωπογενείς ρύπους, όσο και σε παθογόνους μικροοργανισμούς, στους οποίους περιλαμβάνονται ιοί, βακτήρια, μύκητες, ακάρεα και παρασιτικά έντομα. Η παρούσα διπλωματική εργασία αποσκοπεί στη συγκεντρωτική παρουσίαση των κυριότερων παθογόνων που πλήττουν τη μελιτοφόρο μέλισσα, τις ασθένειες που προκαλούν και τους σχετικούς τρόπους αντιμετώπισης. Πιο συγκεκριμένα, αναλύονται στοιχεία φυσιολογίας και ανοσολογίας της *A. mellifera*, αναφέρονται τα κυριότερα παθογόνα και διακρίνονται ανά τύπο (ιοί, βακτήρια, μύκητες, ακάρεα και παρασιτικά έντομα), αναλύονται οι κύκλοι ζωής, τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά, η συστηματική κατάταξη και τα συμπτώματα που προκαλούν, αναλύεται η επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων και ανθρωπογενών ρύπων, συνδυαστικά με επεξηγήσεις για φαινόμενα συννοσηρότητας. Τέλος, παρέχονται οι βασικοί τρόποι αντιμετώπισης, διακρινόμενοι σε βιολογικές και χημικές-βιοχημικές μεθόδους.

Λέξεις-κλειδιά: *Apis mellifera*, Ασθένειες Μελιτοφόρου Μέλισσας, Βιολογικές Μέθοδοι Αντιμετώπισης, Χημικές Μέθοδοι Αντιμετώπισης

ABSTRACT

The *Apis mellifera* species is among the most important pollinators and its survival is of crucial importance for the global economy, the agrarian production and the ecosystem sustainability. During the last decades, there has been an ongoing increase in bee mortality, due to anthropogenic pollution and pathogenic microorganisms, including viruses, bacteria, fungi, mites and parasitic insects. The current work reviews the most important pathogens affecting the Western honeybee, the diseases caused by them and the relevant approaches for treatment. More specifically, that includes elements of physiology and immunology of *A. mellifera*, main pathogens distinguished by type (viruses, bacteria, fungi, mites and parasitic insects), life cycles, morphological characteristics, systematic classification and symptoms of each pathogen, the impact of environmental factors and anthropogenic pollutants on honeybee, cases of co-morbidity due to combination of several pathogenic factors and, finally, treatment approaches based on biological and chemical-biochemical methods.

Keywords: *Apis mellifera*, Honeybee Diseases, Biological Management methods, Chemical Management Methods

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT.....	7
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ.....	8
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ	11
1. Εισαγωγή.....	14
2. Στοιχεία ανοσολογίας της <i>A. mellifera</i>	15
3. Ασθένειες και παθογένεια της <i>A. mellifera</i>	21
3.1 Ιογενείς λοιμώξεις στην <i>Apis mellifera</i>	23
3.1.1 Ιοί της <i>Apis mellifera</i>	24
3.1.2 Οδοί μετάδοσης ιών	27
3.1.3 Οριζόντια μετάδοση	28
3.1.5 Μετάδοση υποβοηθούμενη από φορείς	31
3.1.6 Κάθετη μετάδοση	34
3.1.7 Προσφάτως ανακαλυφθέντες ιοί μελισσών	37
3.2 Βακτηριογενείς ασθένειες	38
3.2.1 Αμερικανική σηψιγονία (AFB)	38
3.2.2 Ευρωπαϊκή σηψιγονία	41
3.3 Ασθένειες μελισσών οφειλόμενες σε μύκητες	44
3.3.1 Ασκοσφαίρωση	45
3.3.2 Νοζέμωση.....	52
3.4 Βαρρόωση	61
3.4.1 Συμπτωματολογία της βαρρόωσης.....	63
3.4.2 Ταξινόμηση και περιγραφή του <i>Varroa destructor</i>	64
3.4.3 Κύκλος ζωής του <i>Varroa destructor</i>	64

3.5 Παρασιτικά έντομα – Σκαθάρι μικρής κυψέλης	69
3.5.1 Μορφολογία και συστηματική ταξινόμηση του <i>Aethina tumida</i>	71
3.5.2 Κύκλος ζωής και αναπαραγωγή	71
3.5.3 Συμπτώματα	73
3.6 Ανθρωπογενείς ρύποι και περιβαλλοντική κρίση	74
3.6.1 Επίπτωση περιβαλλοντικών και ανθρωπογενών παραγόντων στην <i>Apis mellifera</i>	76
3.6.2 Επίδραση των πρακτικών επικοινωνίας στη συσσώρευση ρύπων	77
3.6.3 Κύριες κατηγορίες ρύπων	79
4. Μέθοδοι Αντιμετώπισης ασθενειών.....	88
4.1 Αντιμετώπιση των ιών	89
4.1.1 Βιολογικές μέθοδοι	90
4.1.2 Χημικές μέθοδοι.....	92
4.2 Αντιμετώπιση της Αμερικανικής και της Ευρωπαϊκής σηπιγονίας	93
4.2.1 Βιολογικές μέθοδοι	93
4.2.2 Χημικές – βιοχημικές μέθοδοι	96
4.3 Αντιμετώπιση του <i>Ascospaera apis</i>	98
4.3.1 Βιολογικές μέθοδοι	98
4.3.2 Χημικές – βιοχημικές μέθοδοι	99
4.4 Αντιμετώπιση των ειδών <i>Nosema</i>	100
4.4.1 Βιολογικές μέθοδοι	101
4.4.2 Χημικές – Βιοχημικές μέθοδοι.....	102
4.5 Αντιμετώπιση του <i>Varroa destructor</i>	107
4.5.1 Βιολογικές μέθοδοι	107
4.5.2 Χημικές – βιοχημικές μέθοδοι	109
4.6 Αντιμετώπιση του μικρού σκαθαριού κυψέλης	113
4.6.1 Βιολογικές μέθοδοι	113
4.6.2 Χημικές – βιοχημικές μέθοδοι	115
4.7 Βιο-παρασιτοκτόνα	117

4.7.1 Βοτανικά βιο-παρασιτοκτόνα.....	117
4.7.2 Αξιολόγηση του κινδύνου βιο-παρασιτοκτόνων για την <i>Apis mellifera</i>	121
4.7.4 Βιο-παρασιτοκτόνα από μικροοργανισμούς	125
5. Συμπεράσματα, συζήτηση και μελλοντικές προοπτικές	128
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	130

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

ABPV.....	Ιός οξείας παράλυσης μελισσών
ABV.....	Apis bunyavirus
ADV.....	Apis dicistrovirus
AFB.....	Αμερικανική σηπιγονία
AFV.....	Apis mellifera flavivirus
AIV.....	Apis iridescent virus
ALPV.....	Ιός θανάσιμης παράλυσης ψείρας
AmFV.....	Νηματοειδής ιός της μελιτοφόρου μέλισσας
AMPs.....	αντιμικροβιακά πεπτίδια
ANV.....	Apis Nora virus
ArkBV/BerkBV.....	Arkansas/Berkeley bee virus
ARV/BRV.....	Ραβδοϊός μελισσών
BeeMLV.....	Ιός μελισσών τύπου Macula
BVX/BVY.....	Bee virus X/Y
BQCV.....	Ιός Μαύρης Βασίλισσας
BSRV.....	Big Sioux river virus
CBPV.....	Ιός χρόνιας παράλυσης μελισσών
C/TSBV.....	Chinese/Thai sacbrood virus

TGIP.....trans-generational immune priming

VDV.....Varroa destructor virus

Vg.....Vitellogenin

VOV.....Varroa orthomyxovirus

VSH.....υγιεινή ευαίσθητη στο Varroa

VTLV.....Varroa Tymo-like virus

1. Εισαγωγή

Η δυτική ή ευρωπαϊκή μελιτοφόρος μέλισσα, που ανήκει στην τάξη των υμενοπτέρων και την οικογένεια των Απιδών [western ή European honey bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)], αποτελεί έναν επικονιαστή που απαντά σε όλες τις ηπείρους, εκτός της Ανταρκτικής [1]. Παρά το γεγονός ότι η *A. mellifera* οφείλει τη δημοφιλία της στην παραγωγή μελιού, η αξία της έγκειται κυρίως στο ότι είναι υπεύθυνη για την επικονίαση των φυτών, με εξαιρετικά σημαντική συνεισφορά στην αγροτική παραγωγή [1, 2]. Πράγματι, σύμφωνα με τον οργανισμό, United States Food and Drug Administration (FDA), περίπου το 1/3 των τροφίμων που καταναλώνονται από τον αμερικανικό πληθυσμό συνιστά άμεσο ή έμμεσο αποτέλεσμα επικονίασης της *A. mellifera* [1]. Επιπροσθέτως, ο επικονιαστής αυτός παράγει, εκτός του μελιού, και άλλα χρήσιμα προϊόντα, όπως είναι ο βασιλικός πολτός, ο κηρός, η πρόπολη, καθώς και δηλητήριο, που χρησιμοποιούνται για διάφορους κοσμητολογικούς, οικιακούς και άλλους σκοπούς [1,2].

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία, θα περιγραφούν η φυσιολογία της *A. mellifera*, ο καθοριστικός της ρόλος στη βιωσιμότητα των οικοσυστημάτων σε παγκόσμιο επίπεδο, οι παράγοντες που απειλούν την *A. mellifera* και, κατά συνέπεια, ενισχύουν την κατάρρευση των οικοσυστημάτων, καθώς και οι τρόποι αντιμετώπισης των παραγόντων αυτών. Τέλος, η πτυχιακή εργασία θα ολοκληρωθεί με συμπεράσματα, συζήτηση και μελλοντικές προοπτικές για τη βιολογία της *A. mellifera* και τον οικολογικό της ρόλο.

2. Στοιχεία ανοσολογίας της *A. mellifera*

Οι ανοσολογικοί μηχανισμοί της *A. mellifera* μπορούν να διακριθούν σε μηχανισμούς φυσικής ανοσίας, καθώς και σε μηχανισμούς «κοινωνικής» ανοσίας, δηλαδή σε μηχανισμούς με τους οποίους επιτυγχάνεται ανοσία διαμέσου της αλληλεπίδρασης μεταξύ των μελισσών.

Ως προς τους μηχανισμούς φυσικής ανοσίας, η χημική χυμική και κυτταρική ανοσία της μελιτοφόρου μέλισσας είναι παρόμοιες με τους αντίστοιχους άλλων εντόμων. Ο μηχανισμός, trans-generational immune priming (TGIP), αποτελεί έναν τρόπο μεταφοράς συγκεκριμένης ανοσίας από την προηγούμενη γενεά στην επόμενη. Συνεπώς, τα άτομα της επόμενης γενεάς είναι πιο πιθανό να αντιμετωπίσουν έναν παθογόνο παράγοντα, συγκριτικά με τα γονεϊκά άτομα. Ο TGIP είναι παρόμοιος με την ειδική ανοσία, με διαφορετικούς, όμως, υποκείμενους μηχανισμούς. Για παράδειγμα, έχει παρατηρηθεί πως ο TGIP χρησιμοποιείται ενάντια στο βακτήριο, *Paenibacillus larvae*, που προκαλεί μία θανατηφόρο νόσο των προνυμφών των μελισσών. Η Vitellogenin (Vg), μία πρωτεΐνη που εντοπίζεται στον κρόκο των αυγών, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον TGIP της μελιτοφόρου μέλισσας, καθώς συμμετέχει στην πληροφορία που μεταδίδεται μεταξύ της βασίλισσας και των απογόνων της. Επαγωγείς της ανοσολογικής απόκρισης, όπως είναι τα θραύσματα ή οι μικροοργανισμοί, θεωρούνται pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Η Vg μπορεί να προσδέσει και να μεταφέρει τα PAMPs στους απογόνους, επάγοντας, έτσι, την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την ανοσολογική απόκριση [3]. Σε εργαστηριακά πειράματα, ο εμβολιασμός με *P. larvae*, που είχαν προηγουμένως θανατωθεί με θέρμανση, σε βασίλισσες μελιτοφόρων μελισσών είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των θανάτων των απογόνων κατά 26% [4]. Απόγονοι που έχουν «εμβολιασθεί» στοματικά από τις βασίλισσες κατ' αυτόν τον τρόπο, εμφάνισαν 30% έως 50% περισσότερες πιθανότητες να επιβιώσουν από μία λοίμωξη. Το ανοσολογικό priming στις βασίλισσες τριπλασιάζει τα διαφοροποιημένα αιμοκύτταρα στους απογόνους τους.

Οι κοινωνικοί μηχανισμοί διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: τους μηχανισμούς «φροντίδας» (grooming) και τη συμπεριφορά υγιεινής.

Το grooming αφορά στη συμπεριφορά των μελισσών κατά την οποία χρησιμοποιούν τα πόδια τους και τις γνάθους τους, προκειμένου να απομακρύνουν παράσιτα και σκόνη. Η φροντίδα περιλαμβάνει τόσο την αυτοφροντίδα, όσο και τη φροντίδα άλλων μελών της αποικίας. Η αυτοφροντίδα αφορά στον καθαρισμό των κεραίων και της κεφαλής με τα μπροστινά πόδια και τον καθαρισμό του θώρακα και της κοιλιάς με τα μεσαία ή τα πίσω

πόδια. Η φροντίδα άλλων μελών της αποικίας αποτελεί συμπεριφορά σε επίπεδο αποικίας και τα άτομα επωφελούνται, κατ' αυτόν τον τρόπο, από τα υπόλοιπα άτομα της αποικίας. Οι μέλισσες, παρουσιάζοντας ένα χορό φροντίδας, προσελκύουν άλλα μέλη της αποικίας, τα οποία τις βοηθούν να απομακρύνουν παράσιτα, πραγματοποιώντας καθαρισμό με τις κεραίες ή τα πόδια τους, καθώς και με τη προβοσκίδα τους. Η φροντίδα περιορίζει το φορτίο εξωπαρασίτων εντός των αποικιών, περιορίζοντας ιδιαίτερα τα ακάρεα *Varroa*.

Η συμπεριφορά υγιεινής που στοχεύει τα κύτταρα των γόνων αποτελείται από 3 κύρια βήματα: ανίχνευση, άνοιγμα του καλύμματος των κυψελίδων και απομάκρυνση. Ενήλικα άτομα είναι σε θέση να ταυτοποιήσουν τις διακριτές οσμές που σχετίζονται με τους υγιείς και τους μη υγιείς γόνους και, ακολούθως, απομακρύνουν τους μη υγιείς από το μελίσσι. Η συμπεριφορά υγιεινής αποκρίνεται αποτελεσματικά έναντι των *Varroa*, του μύκητα *Ascosphaera apis*, που προκαλεί ασθένειες τύπου “chalkbrood”, καθώς και του *P. larvae*. Η δοκιμασία “freeze-killed brood”, με την οποία πραγματοποιείται κρυογενής θανάτωση γόνου, είναι μία απλή στρατηγική, για να διαπιστωθεί η συμπεριφορά υγιεινής σε αποικίες μελιτοφόρων μελισσών.

Υπάρχουν δύο διακριτές στρατηγικές άμυνας του ξενιστή, η «αντίσταση» (resistance) και η «ανοχή» (tolerance). Οι ξενιστές που προβάλλουν «αντίσταση» ελαττώνουν το παρασιτικό φορτίο, ενώ οι ξενιστές που εμφανίζουν «ανοχή» ελαττώνουν τη βλάβη που προκαλείται από ένα δεδομένο παρασιτικό φορτίο [5]. Και οι δύο αυτές στρατηγικές οδηγούν πιθανώς σε διαφορετικές δυναμικές ξενιστή-παρασίτου [6]. Η διάκριση μεταξύ «αντίστασης» και «ανοχής» είναι απαραίτητη για την κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ ξενιστή και παρασίτου [7]. Ακόμη, σε κοινωνίες κοινωνικών εντόμων είναι σημαντικό να διαφοροποιήσουμε την αντίσταση και την ανοχή σε ατομικό επίπεδο και σε επίπεδο αποικίας [7]. Παραδείγματος χάριν, μία αποικία που αποτελείται από άτομα που προβάλλουν αντίσταση, είναι επίσης πιθανό να προβάλλουν αντίσταση σε επίπεδο αποικίας [7]. Παρ' όλα αυτά, αν δεν προβάλλουν αντίσταση όλα τα άτομα μίας αποικίας, η αποικία είναι πιθανό να εμφανίσει ανοχή σε μία μόλυνση/λοίμωξη [7]. Αντίθετα, μία αποικία αποτελούμενη από ανεκτικά άτομα είναι επίσης πιθανό να προβάλει αντίσταση έναντι ενδοπαρασίτων, αν η μόλυνση εκκαθαρισθεί σε επίπεδο αποικίας [7].

Η αντίσταση της *A. mellifera* έναντι ακάρεων, όπως είναι το *Varroa destructor*, χαρακτηρίζεται από πολλούς, διαφορετικούς μηχανισμούς, από το επίπεδο της αποικίας, μέχρι το ατομικό επίπεδο. Ένας μείζον μηχανισμός αντίστασης σε επίπεδο αποικίας είναι η «σημνουργία» (swarming), η διαίρεση, δηλαδή, μίας αποικίας σε επιμέρους αποικίες, καθώς έτσι μειώνεται το φορτίο των ακάρεων και, ταυτόχρονα, σε συνδυασμό με μία περίοδο που

δε γεννώνται γόννοι στην παλιά κυψέλη, παρεμποδίζεται η αναπαραγωγή των ακάρεων. Η ανοχή σε επίπεδο αποικίας στη νέα τοποθεσία της κυψέλης προκαλείται από αναπαραγωγή την κατάλληλη χρονική στιγμή και με τον κατάλληλο τύπο γόννων, καθώς αρχικά παράγονται κυρίως γόννοι εργατριών μελισσών, στους οποίους τα ακάρεα έχουν μικρότερη προσαρμοστικότητα [8]. Άλλος ένας τύπος σμηνουργίας είναι μη αναπαραγωγικός και ονομάζεται «δραπέτευση» (absconding). Όταν πραγματοποιείται δραπέτευση, όλα τα ενήλικα άτομα μίας αποικίας, συμπεριλαμβανομένης της βασίλισσας, εγκαταλείπουν την παλιά κυψέλη, μαζί με όλους τους γόννους, και ιδρύουν μία νέα κυψέλη αλλού. Κατά τη διαδικασία αυτή, όλα τα παράσιτα που έχουν προσβάλλει τους γόννους και όλα τα παθογόνα των κυψελίδων επίσης αφήνονται πίσω. Συνεπώς, η δραπέτευση είναι ένας πολύ αποτελεσματικός, φυσικός μηχανισμός άμυνας έναντι των ακάρεων, όπως είναι το *Varroa*. Ο μηχανισμός αυτός εμφανίζεται ιδιαιτέρως στις αφρικανικές μέλισσες, όπου οι αποικίες εγκαταλείπουν κατ' ευθείαν την κυψέλη, οποτεδήποτε οι συνθήκες καταστούν δυσμενείς [7].

Ο καλύτερα μελετημένος μηχανισμός αντίστασης σε επίπεδο αποικίας είναι ο αποκαλούμενος «υγιεινή ευαίσθητη στο *Varroa*» (*Varroa* sensitive hygiene, VSH), που παλαιότερα αποκαλούνταν «κατασταλμένη αναπαραγωγή ακάρεων» (suppressed mite reproduction), καθώς και το grooming, που συνολικά ονομάζεται «κοινωνική ανοσολογική απόκριση» [9]. Η συμπεριφορά υγιεινής αποτελείται από μία σειρά διαφορετικών υποκατηγοριών (ανίχνευση, άνοιγμα και απομάκρυνση), οι οποίες μπορεί να κληρονομούνται ανεξάρτητα και να εκτελούνται από διαφορετικές εργάτριες της αποικίας [10,11]. Υπάρχει, όμως, ένα κόστος της VSH, καθώς το πολύ χαμηλό κατώφλι ανίχνευσης των ακάρεων οδηγεί σε απομάκρυνση σχετικά μεγάλων αριθμών μη μολυσμένων γόννων [7]. Η κληρονομικότητα της VSH στην *A. mellifera* έχει εκτιμηθεί πως είναι αρκετά χαμηλή, στο $h^2 = 0,18$ [7]. Η *A. cerana*, έχοντας μία μακρά ιστορία συνεξέλιξης με τα *V. destructor* και *V. jacobsoni*, απομακρύνει τα ακάρεα *Varroa* από τους γόννους των εργατριών σε τέτοιο βαθμό, ώστε τα ακάρεα δεν προσβάλλουν καν τους γόννους των εργατριών, αλλά αντί αυτού αναπαράγονται αποκλειστικά στους γόννους των κηφήνων [7]. Το κυτταρικό κάλυμμα των κηφήνων της *A. cerana* είναι σκληρό και έχει μία συγκεκριμένη μορφή, με ένα άνοιγμα στην κορυφή, που μπορεί να είναι μία προσαρμογή που να επιτρέπει πιο επιτυχημένη μόλυνση από ακάρεα. Αν άνω τους ενός θηλυκού *Varroa* εισέλθει σε ένα κύτταρο κηφήνα *A. cerana*, τότε ο κηφήνας δε θα είναι σε θέση να ανοίξει το κυτταρικό κάλυμμα, καθώς οι εργάτριες δε θα βοηθήσουν τους κηφήνες να βγουν στην επιφάνεια. Αυτός ο μηχανισμός είναι

αποτελεσματικός απέναντι στο *Varroa* και μειώνει τα υψηλά ποσοστά μόλυνσης και κρατάει τον πληθυσμό των παρασίτων τυπικά κάτω από 800 άτομα ανά αποικία [7].

Grooming είναι η ικανότητα των ενηλίκων μελισσών να απομακρύνουν φορητικά ακάρεα από τους εαυτούς τους και από άλλες μέλισσες. Τα ακάρεα είναι μεγάλα σε σχέση με το μέγεθος της μέλισσας, επομένως είναι πιθανό το καμουφλάζ των επιδερμικών υδατανθράκων να παίζει σημαντικό ρόλο στη φορητική φάση του κύκλου ζωής τους, καθώς και στους γόνους. Πράγματι, το *V. destructor* μπορεί να μεταβάλει ταχέως το προφίλ των επιδερμικών υδατανθράκων του, π.χ. το άρωμα, όταν μετακινείται από μία αποικία σε άλλη [12,13]. Τα *Varroa*, επίσης, έχουν προσαρμοσθεί στο να αγκιστρώνονται στις μέλισσες και να εισέρχονται στους κοιλιακούς σκληρίτες του ξενιστή κατά τη διάρκεια μακρών φάσεων φόρησης. Παρ' όλα αυτά, παρά την προσαρμογή των ακάρεων, οι μέλισσες, ειδικά η *A. ceranae*, μπορούν να ανιχνεύσουν και να απομακρύνουν τα *Varroa* [13]. Τα γνωρίσματα που σχετίζονται με την αντίσταση είναι συνήθως περίπλοκα γνωρίσματα επιπέδου αποικίας. Δεν είναι μόνο περίπλοκα επειδή η συμπεριφορά των μελισσών αποτελείται από διάφορες συντονισμένες υποεργασίες, αλλά επειδή επίσης η βασίλισσα εμφανίζει πολυανδρική συμπεριφορά, με αποτέλεσμα να εμφανίζεται μία σύνθετη, γονοτυπικά, δομή αποικίας [7].

Η πιο ατράνταχτη περίπτωση αντίστασης στο *V. destructor* έχει κάνει την εμφάνισή της σε δύο ανεξάρτητα περιστατικά, ως αποτέλεσμα φυσικής επιλογής, στο νησί Gotland της Σουηδίας και στην πόλη της Avignon της Γαλλίας. Και στις δύο αυτές περιπτώσεις, η αντίσταση στο παράσιτο βασίζεται σε μία -ελαφρώς διαφορετική- αναστολή της αναπαραγωγής του ακάρεου, με το *V. destructor* να εισέρχεται στο γόνο, αλλά να μην καταφέρνει να παράξει απογόνους, ή να εμφανίζει καθυστερημένη ωοτοκία [14,15,16]. Η αντίσταση αυτή ενδεχομένως οφείλεται εν μέρει στην ανοχή που εμφανίζουν οι αντιστεκόμενοι πληθυσμοί μελισσών στο ικό φορτίο [17]. Παρ' όλα αυτά, σε αυτούς τους πληθυσμούς, η ατομική αντίσταση των κηφήνων είναι ο κύριος υποκινητής της ανοχής σε επίπεδο αποικίας, κυρίως λόγω της μείωσης του ρυθμού ανάπτυξης του πληθυσμού των ακάρεων [16]. Το *V. destructor* εμφανίζει οκτώ έως δέκα φορές μεγαλύτερη προτίμηση για τους γόνους των κηφήνων, καθώς οι κηφήνες είναι μεγαλύτεροι σε μέγεθος και η ανάπτυξή τους μετά την έξοδο από τις κυψελίδες διαρκεί 14 ημέρες, αντί των 12 των εργατριών μελισσών. Στην *A. mellifera capensis*, η ανάπτυξη των εργατριών μελισσών διαρκεί ακόμα και 9 ημέρες, κατά μέσο όρο. Συνεπώς, μόνο ένας μονήρης αναπαραγωγικός απόγονος ακάρεου μπορεί να αναπτυχθεί ανά κυψελίδα εργάτριας, γεγονός που αναστέλλει δραστικά την πληθυσμιακή αύξηση των ακάρεων στις αποικίες της *A. m. capensis*. Επιπροσθέτως, οι

κηφήνες ταΐζονται συχνότερα και για περισσότερη ώρα από τις μέλισσες-τροφούς, το οποίο ενδέχεται να μεταφέρει ακούσια ακάρεα στους γόνους, αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα μόλυνσης/λοίμωξης [7]. Κατά συνέπεια, οποιαδήποτε γνωρίσματα αντίστασης στο *V. destructor* που εκφράζονται στους γόνους των κηφήνων θα έχουν μία ισχυρή επίδραση στο ρυθμό της πληθυσμιακής ανάπτυξης του *V. destructor*, επεμβαίνοντας θεμελιωδώς στη συνεξέλιξη ξενιστή-παρασίτου.

Η αντίσταση διακριτών κηφήνων πιθανώς επιτρέπει σε όλη την αποικία την ανοχή στο *Varroa*, καθώς και την επιβίωση ύστερα από τη λοίμωξη, καθώς ακόμα και μία μικρή συχνότητα αντιστασιακών κηφήνων μειώνει απευθείας το ρυθμό αύξησης του πληθυσμού των ακάρεων. Η αποικία μπορεί να αποκτήσει ανοχή, επειδή ναι μεν ενδέχεται να υποστεί λοίμωξη, αλλά η λοίμωξη φθάνει μόνο έως ένα βαθμό, που εξαρτάται από την αναπαραγωγή των ακάρεων στους γόνους των εργατριών. Παρά ταύτα, αν τα γονίδια που καθορίζουν την αντίσταση των κηφήνων έχουν ως αποτέλεσμα και την αντίσταση των εργατριών, οι αποικίες αναμένεται να καταστούν πλήρως ανθεκτικές. Σε αυτήν την περίπτωση, η φυσική επιλογή θα πρέπει να είναι ιδιαίτερα ταχεία, εξ' αιτίας του απλοειδούς αρσενικού γονιδιώματος. Πιθανό ή πιθανά γονίδια/γονίδια αντίστασης θα διαδοθούν ταχύτερα στον πληθυσμό, λόγω εξελικτικού πλεονεκτήματος των αντιστασιακών κηφήνων [7].

Το *V. destructor* έχει ένα πολύ στενό χρονικό παράθυρο για να αρχίσει την αναπαραγωγή μετά τον εγκλεισμό του στην κυψελίδα του γόνου [7]. Μέσα σε 5 h μετά τη σφράγιση της κυψελίδας του γόνου, το ακάρεο καταναλώνει την πρώτη αιμολέμφο και μόνο ύστερα από μερικές ώρες ξεκινά η ωογένεση. Αν το θηλυκό ακάρεο αποτύχει να εκκινήσει την ενεργοποίηση των ωαρίων σε αυτό το στενό χρονικό παράθυρο, θα παραμείνει μη γόνιμο. Η ενεργοποίηση των ωαρίων έχει προταθεί ότι εξαρτάται από διεγέρτες των επιδερμικών υδατανθράκων [7]. Συνεπώς, η έλλειψη τέτοιων ερεθισμάτων πιθανώς αντιπροσωπεύει έναν τρόπο πρόληψης της αναπαραγωγής των ακάρεων. Παρ' όλα αυτά, είναι επίσης πιθανό ότι συγκεκριμένες ενώσεις στην πρώτη αιμολέμφο που καταναλώνεται μπορούν να αναστείλουν την ενεργοποίηση του αναπαραγωγικού κύκλου των ακάρεων. Είναι σαφές ότι η κατανόηση των υποκείμενων φυσιολογικών διεργασιών που παρεμβαίνουν στην αλληλεπίδραση ανάμεσα στο ακάρεο και την προνύμφη-ξενιστή θα είναι θεμελιώδους σημασίας στην κατανόηση αυτού του σημαντικού βήματος στη συνεξέλιξη ξενιστή-παρασίτου. Αυτή είναι η πιο κρίσιμη φάση στον αναπαραγωγικό κύκλο του ακάρεου, στην οποία ο ξενιστής έχει την ευκαιρία να εξελίξει αληθινή αντίσταση.

Οι δυναμικές της αποικίας όχι μόνο επηρεάζουν τον επιπολασμό των γόνων των παρασίτων, όπως είναι το *Varroa*, αλλά επηρεάζουν επίσης τον επιπολασμό των λοιμώξεων από *Nosema* στις ενήλικες μέλισσες. Αν και ο επιπολασμός των *N. apis* και *N. ceranae* μπορεί να διαφέρει, ανάλογα και με τις κλιματικές συνθήκες [7], τυπικά ο επιπολασμός του *Nosema* ευνοείται σε εύκρατα κλίματα (επίσης, στο νότιο ημισφαίριο) και χαρακτηρίζεται από αύξηση στις λοιμώξεις από *Nosema* κατά τη διάρκεια του χειμώνα, φτάνοντας ένα μέγιστο την άνοιξη, πριν οι παλιές χειμερινές εργάτριες αντικατασταθούν από πολλές νέες μη μολυσμένες εργάτριες [7]. Παρ' όλα αυτά, αυτές οι δυναμικές ενδέχεται να εξαφανίζονται υπό κλιματικές συνθήκες ευνοϊκές για το *N. ceranae* [7]. Κατ' αρχήν, υπάρχουν δύο επιλογές προκειμένου μία υγιής εργάτρια να μειώσει τις πιθανότητες να υποστεί παρασιτική λοίμωξη μέσα σε μία αποικία: είτε η απομάκρυνση των μολυσμένων εργατριών από την αποικία, είτε η αποφυγή επαφής με μολυσμένες εργάτριες. Οι μολυσμένες εργάτριες φαίνεται να δέχονται επίθεση, συμπεριλαμβανομένου του δαγκώματος, του τσιμπήματος και του κυνηγιού, από τις μη μολυσμένες συντρόφισσές τους, που σε κάποιες περιπτώσεις κατέληξαν ακόμη και σε θανατηφόρες επιθέσεις σε αυτές τις πειραματικές ομάδες [7]. Τέτοια αγωνιστική συμπεριφορά, που συσχετίστηκε με σημαντικά μεταβαλλόμενες εκφράσεις των επιδερμικών υδατανθράκων, παρατηρήθηκε επίσης σε DWV-μολυσμένες και γενικά ανοσοκατεσταλμένες μελιτοφόρες μέλισσες [7]. Παρά ταύτα, οι υγιείς εργάτριες παρατηρήθηκε ότι επίσης αποφεύγουν υψηλά μολυσματικές συντρόφισσες [7]. Παρουσιάζει ενδιαφέρον το γεγονός ότι αν και λοιμώξεις από *N. ceranae* και *N. apis* πράγματι είχαν ως αποτέλεσμα μεταβολές στα προφίλ υδατανθράκων των μελιτοφόρων μελισσών, αυτά τα συγκεκριμένα στοιχεία μπορεί να μην οδηγούν πάντα σε μεταβαλλόμενες κοινωνικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ συντροφισσών [7]. Συνεπώς, η αναγνώριση των μολυσμένων ατόμων πιθανώς αντανακλά μία απόκριση κοινωνικής ειδικής ανοσίας προς τις λοιμώξεις από *Nosema*.

3. Ασθένειες και παθογένεια της *A. mellifera*

Το ερευνητικό ενδιαφέρον για τους παράγοντες παθογένειας έχει αναθερμανθεί σημαντικά λόγω της διαρκώς αυξανόμενης θνησιμότητας μελισσών ανά την υφήλιο, εξαιτίας της οποίας απειλούνται άμεσα οι κύκλοι αναπαραγωγής των περισσότερων φυτικών ειδών [18,19]. Βασικό θεμέλιο και κοινή αφετηρία όλων των σχετικών μελετών και των προσπαθειών αντιμετώπισης είναι η αναγνώριση αυτών των παραγόντων και η διάκρισή τους σε επιμέρους κατηγορίες, πρωτίστως ανάλογα με το αν προκαλούν μεταδοτικές ή μη-μεταδοτικές ασθένειες.

Στην πρώτη περίπτωση, οι μεταδοτικές ή λοιμογόνες ασθένειες οφείλονται σε παθογόνους μικροοργανισμούς όπως ιοί, βακτήρια, μύκητες, αμοιβάδες και ακάρεα, ενώ σημαντικό ρόλο έχουν και παρασιτικά είδη εντόμων [18-20]. Η σύνθετη φύση της αλληλεπίδρασης κάθε παθογόνου με τις μέλισσες περιπλέκεται ακόμα περισσότερο εξαιτίας των φαινομένων συν-νοσηρότητας, δηλαδή της ταυτόχρονης μόλυνσης με δύο ή περισσότερα διαφορετικά μικρόβια. Επίσης, οι λοιμογόνες ασθένειες κατηγοριοποιούνται και με κριτήριο το στάδιο ανάπτυξης των ξενιστών που προσβάλλουν [18-20]:

- **Ασθένειες γόνου.** Προσβάλλουν αποκλειστικά τον γόνο και συνήθως δεν προκαλούν κατάρρευση της αποικίας, τουλάχιστον όχι χωρίς συν-νοσηρότητα με κάποιο άλλο παθογόνο. Ο μολυσματικός παράγοντας (ιός, βακτηριακό ενδοσπόριο, ολόκληρο βακτήριο κλπ.) εισάγεται στη φωλιά από τις μέλισσες-επικονιαστές, μεταδίδεται ασυμπτωματικά μεταξύ των ενήλικων μελισσών μέσω τροφάλλαξης και καταλήγει στον γόνο κυρίως από τις μέλισσες-τροφούς.
- **Ασθένειες ακμαίων μελισσών.** Το παθογόνο μολύνει αποκλειστικά τις ενήλικες μέλισσες, σε ορισμένες περιπτώσεις ακόμα και τη βασίλισσα. Ο κίνδυνος για τη βιωσιμότητα της αποικίας είναι άμεσος καθώς τα ενήλικα μέλη αποδυναμώνονται και συχνά πεθαίνουν, με αποτέλεσμα να μειώνονται σημαντικά οι αναγκαίες δραστηριότητες εντός κι εκτός κυψέλης, ενώ διαταράσσεται ο φυσιολογικός αναπαραγωγικός κύκλος. Επίσης, ο θάνατος πολλών τροφών οδηγεί σε εγκατάλειψη του γόνου.
- **Ασθένειες γόνου και ακμαίων μελισσών.** Πρόκειται για τη μειοψηφία των λοιμογόνων νόσων και, για ευνόητους λόγους, είναι οι μακράν επικινδυνότερες για την αποικία.

Από τα παραπάνω γίνεται εμφανές ότι μια συννοσηρότητα ασθένειας γόνου με κάποια των ακμαίων μελισσών οδηγεί συχνά σε κατάρρευση της αποικίας, ακόμα και αν εφαρμοστούν μέτρα αντιμετώπισης [18,19].

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται οι κυριότερες ασθένειες της *Apis mellifera* χωρισμένες ανά τύπο παθογόνου.

Πίνακας 1: Κυριότερες ασθένειες και παθογόνα τις *Apis mellifera*

Εμπειρική ονομασία	Οικογένεια / είδος βάσει συστηματικής ταξινόμησης
Ασθένειες από ιούς	
<ul style="list-style-type: none"> • Ιός χρόνιας παράλυσης μελισσών (chronic bee paralysis virus) • Ιός οξείας παράλυσης μελισσών (acute bee paralysis virus) • Ισραηλινός ιός οξείας παράλυσης (Israeli acute paralysis virus) • Ιός μελισσών από το Κασμίρ (Kashmir bee virus) • Ιός κελιού μαύρης βασίλισσας (Black queen cell virus) • Ιός θολών φτερών (cloudy wing virus) • Ιός σάκου γόνου (sacbrood virus) 	Ιοί οικογένειας <i>Dicistroviridae</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Ιός παραμορφωμένων φτερών (deformed wing virus) • Ιός αργής παράλυσης (slow paralysis virus) 	Ιοί οικογένειας <i>Iflaviridae</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Ιός της λίμνης Σινάι (lake Sinai virus) 	Ιοί οικογένειας <i>Secoviridae</i>
Ασθένειες από βακτήρια	
<ul style="list-style-type: none"> • Αμερικανική σηψιγονία (American foulbrood, AFB) 	<i>Paenibacillus larvae subsp. larvae</i>

• Ευρωπαϊκή σηψιγονία (European foulbrood, EFB)	<i>Melissococcus plutonius</i>
• Δευτερογενείς μολύνσεις και συν-νοσηρότητα με EFB	<i>Enterococcus faecalis, Brevibacillus laterosporus, Bacillus pumilis, Paenibacillus alvei και Paenibacillus dendritiformis.</i>
Ασθένειες από μύκητες	
• Νοζέμωση (Nosemosis)	<i>Nosema apis, Nosema ceranae</i>
• Ασκοσφαίρωση ή νόσος ασβεστώδους γόνου (chalkbrood disease)	<i>Ascospaera apis</i>
• Ασπεργίλλωση ή νόσος του λιθώδη γόνου (stonebrood disease)	<i>Aspergillus niger, Aspergillus fumigatus, Aspergillus flavus, Aspergillus niger</i>
Ασθένειες από ακάρεα	
• Βαρρόωση (Varroosis)	<i>Varroa destructor</i>
• Τραχειακή ακαρίαση (bee tracheal disease)	<i>Acarapis woodi</i>
Ασθένειες από αμοιβάδες	
• Αμοιβάδωση (amoeba disease)	<i>Malpighamoeba mellificae Prell</i>
Παρασιτικά έντομα	
• Μικρό σκαθάρι κυψέλης (small hive beetle)	<i>Aethina tumida</i>
• Σκώροι κεριού (wax moths)	<i>Galleria mellonella</i>
Πηγές: [18-20]	

Σε επόμενες παραγράφους εξετάζονται οι σημαντικότερες ασθένειες των διαφόρων τύπων παθογόνων.

3.1 Ιογενείς λοιμώξεις στην *Apis mellifera*

Οι ιοί αποτελούν μια ξεχωριστή ταξινόμηση στις μορφές ζωής και υφίστανται ως μολυσματικοί παράγοντες σε όλα τα υπόλοιπα είδη, από τους πολυκύτταρους οργανισμούς

ξηράς και θάλασσας μέχρι τα βακτήρια και τις αμοιβάδες. Μια βασική αρχή που ακολουθούν όλοι οι τύποι ιών, ανεξάρτητα των επιμέρους βιοχημικών μηχανισμών που εμπλέκονται σε κάθε περίπτωση, μπορεί να περιγραφεί ως εξής [21]: Το ικό σωματίο προσδένεται σε επιφανειακούς υποδοχείς ή πρωτεΐνες του κυττάρου-στόχου, εισέρχεται στο εσωτερικό του και ενσωματώνει το γενετικό του υλικό στο DNA του κυττάρου. Η δομή όλων των ιών είναι αρκετά απλή, καθώς απαρτίζεται από ένα πρωτεϊνικό περίβλημα-καψίδιο εντός του οποίου φυλάσσονται το γενετικό υλικό (σχετικά μικρές αλληλουχίες DNA ή RNA) και μερικά ένζυμα, τα οποία βοηθούν στην ενσωμάτωση του ιικού γενετικού υλικού στο αντίστοιχο του κυττάρου. Οι μοριακοί μηχανισμοί αντιγραφής, μεταγραφής και μετάφρασης του DNA στο κύτταρο εξαναγκάζονται, ουσιαστικά, να συνθέσουν μαζί με τις φυσιολογικές κυτταρικές πρωτεΐνες και τα δομικά συστατικά του ιού, οπότε παράγονται χιλιάδες αντίγραφα του αρχικού ιικού σωματιδίου που διαρρηγνύουν το κύτταρο και επιτίθενται σε άλλα κύτταρα στόχους, επαναλαμβάνοντας τον κύκλο από την αρχή [21].

Όλα τα παραπάνω ισχύουν και για τους ιούς που προσβάλλουν τις μελιτοφόρες μέλισσες (*Apis mellifera*), οι οποίοι μπορούν να εντοπιστούν και σε άλλα είδη υμενόπτερων με συχνότερες περιπτώσεις στα είδη σφήκας και βομβίνων [22-24]. Νεώτερες μελέτες μάλιστα έδειξαν πως ορισμένοι ιοί εντοπίζονται ακόμα και σε άλλες τάξεις αρθρόποδων διαφορετικές των υμενόπτερων, ενώ έχει ανακαλυφθεί πως είναι εφικτή η διαμόλυνση μεταξύ ειδών και η συσσώρευση μεταλλάξεων που εξασθενούν ή ενισχύουν την παθογόνο δράση τους [22-24]. Οι περισσότερες πληροφορίες για τους ιούς που προσβάλλουν μέλισσες προέρχονται από μελέτη του είδους *Apis mellifera*. Οι πρόοδοι που σημειώθηκαν σε αυτό το πεδίο επέτρεψαν την επέκταση των μελετών και σε άλλα συγγενικά είδη με σημαντική συμμετοχή στην επικονίαση, όπως οι βομβίνοι – bumble bees (*Bombus spp*), οι μέλισσες χωρίς κεντρί - stingless bees (e.g., *Melipona spp.*), μέλισσες του γένους Όσμια – mason bees (*Osmia spp.*) και φυλλοκόφτες μέλισσες - leafcutter bees (*Megachile spp.*) [22-24].

Παρακάτω αναφέρονται οι σημαντικότεροι ιοί που προσβάλλουν τις μέλισσες είδους *Apis mellifera* και τα βασικά τους συμπτώματα, ενώ ακολούθως αναλύονται οι βασικές οδοί μετάδοσης.

3.1.1 Ιοί της *Apis mellifera*

Ο ήδη εκτενής κατάλογος ιών που προσβάλλουν την *Apis mellifera* εξακολουθεί να εμπλουτίζεται καθώς ανακαλύπτονται άγνωστα μέχρι πρότινος είδη με τη βοήθεια νέων τεχνολογιών μικροσκοπίας, γενετικής ανάλυσης-αλληλούχισης και ανοσο-ηλεκτροφόρησης

δειγμάτων πρωτεϊνών (Western immunoblotting), ενώ παράλληλα ενσκήπτουν νέες ιογενείς λοιμώξεις προερχόμενες από μεταλλάξεις παλαιότερων στελεχών, από τυχαίο διασταυρούμενο γενετικό ανασυνδυασμό ιών του ίδιου γένους και, ακόμα, από ιούς που φυσιολογικά προσέβαλαν άλλα είδη εντόμων και δη υμενόπτερων αλλά συσσωρεύσαν αρκετές μεταλλάξεις ώστε να κάνουν το ‘γενετικό άλμα’ μετάδοσης στις μελιτοφόρους μέλισσες [22-27]. Παρακάτω αναφέρονται συνοπτικά μερικοί από τους σημαντικότερους ιούς των μελισσών μαζί με τα κυριότερα συμπτώματά τους.

- **Ιός παραμορφωμένων φτερών (Deformed Wing Virus, DWV) [22-25].** Ανήκει στην οικογένεια *Inflaviridae*, γένος *Inflavirus* και πρόκειται για ιό με RNA (ρετροϊός). Όλοι οι ρετροϊοί διαθέτουν ένζυμο τύπου RNA – αντίστροφης μεταγραφάσης (RNA reverse transcriptase), χάρις στα οποία μετατρέπουν το ιικό RNA σε DNA κατάλληλο για ενσωμάτωση στο γενετικό υλικό του κυττάρου – ξενιστή. Ο DWV εντοπίζεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στην κεφαλή και στους σπλαχνικούς ιστούς μολυσμένων ενήλικων μελισσών, ενώ πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις υφίστανται στην θωρακική περιοχή και στα φτερά. Το γονιδίωμά του ανιχνεύεται με τεχνικές αλυσιδωτής αντίδρασης αντίστροφης RNA μεταγραφάσης. Μόνον τα πόδια είναι απαλλαγμένα από ιικά σωματίδια, ακόμα και σε μέλισσες με προχωρημένη λοίμωξη. **Βασικά συμπτώματα [22-24,26]:** Στα τυπικά συμπτώματα περιλαμβάνονται αλλοιώσεις και αποχρωματισμός στα φτερά, μερική ή πλήρης παράλυση στα φτερά και στα πόδια, όπως επίσης σημαντικά μειωμένο προσδόκιμο ζωής (<48 h από την εκδήλωση των συμπτωμάτων).
- **Ισραηλινός ιός οξείας παράλυσης (Israeli Acute Paralysis Virus, IAPV) [22-25].** Είναι ρετροϊός της οικογένειας *Dicistroviridae*, του οποίου το γονιδίωμα μπορεί επίσης ν’ ανιχνευθεί και ταυτοποιηθεί με τεχνικές αλυσιδωτής αντίδρασης αντίστροφης RNA μεταγραφάσης (που είναι βασισμένες στις αρχικές τεχνολογίες αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης, PCR). Όπως και στον DWV, έτσι και στον IAPV υψηλές συγκεντρώσεις ιικών σωματιδίων εντοπίζονται στους σπλαχνικούς ιστούς και στην κεφαλή, ενώ μειωμένες συγκεντρώσεις ανιχνεύονται στα φτερά και καθόλου στα πόδια. **Βασικά συμπτώματα [22-24,26]:** Οι μολυσμένες μέλισσες παρουσιάζουν έλλειψη συντονισμού στις κινήσεις τους, εξέρχονται της αποικίας αναίτια ακόμα και υπό δυσμενείς καιρικές συνθήκες, τα πόδια και τα φτερά τους παραλύουν ταχύτερα και σε μεγαλύτερο βαθμό απ’ ότι στον DWV, ενώ λαμβάνει χώρα απώλεια τριχιδίων και ανάπτυξη σκούρου χρωματισμού στον θώρακα και στην κοιλιά.

- **Ιός Μαύρης Βασίλισσας (Black Queen Cell Virus, BQCV) [22-25].** Πρόκειται για ρετροϊό της οικογένειας *Dicistroviridae* και γένους *Triatovirus*. Συγκαταλέγεται στους ιούς τάξης *Picomavirales*, οι οποίοι είναι γνωστοί για τη δυνατότητα μόλυνσης αεροφόρων οδών και σάκων, οπότε εντοπίζονται σε υψηλές συγκεντρώσεις σε ιστούς του αναπνευστικού συστήματος μελισσών, όπως επίσης και σε σπλαχνικούς ιστούς. Το γονιδίωμα ανιχνεύεται με τεχνικές αλυσιδωτής αντίδρασης αντίστροφης RNA μεταγραφάσης. **Βασικά συμπτώματα [19-21,23]:** Οι προσβαλλόμενες προνύμφες αποκτούν κίτρινη χρώση και παρουσιάζουν καχεξία, ενώ στα τελικά στάδια της λοίμωξης παρουσιάζουν μαύρη χρώση και πεθαίνουν. Οι εξάρσεις του ιού παρατηρούνται κυρίως κατά την άνοιξη και τις πρώτες εβδομάδες του καλοκαιριού.
- **Ιός μελισσών του Κασμίρ (Khasmir Bee Virus, KBV) [22-25].** Είναι ρετροϊός της τάξης *Picomavirales*, οικογένειας *Dicistroviridae* και γένους *Cripavirus*. **Βασικά συμπτώματα [22-24,26]:** Ο ιός προσβάλλει τόσο ενήλικες μέλισσες όσο και τους γόνους, που πεθαίνουν μετά από λίγες μέρες (3-7) από την αρχική μόλυνση. Γενικά, οι μεγαλύτερες σε ηλικία μέλισσες παρουσιάζουν εξωτερική εμφάνιση σαν να έχουν καλυφθεί με λιπαρές ύλες, οι νεώτερες ενήλικες εκτελούν σπασμωδικές κινήσεις και αδυνατούν να πετάξουν και, σε ορισμένες περιπτώσεις, παρατηρείται μερική παράλυση.
- **Ιός αλλοιωμένων - θολών φτερών (Cloudy wing virus, CWV) [22-25].** Ένας ακόμα ρετροϊός που δεν έχει ταξινομηθεί ακόμα, ελάχιστα μελετημένος συγκριτικά με άλλους και υπεύθυνος ή συνυπεύθυνος (ως συννοσηρότητα) για πολλά συμβάντα κατάρρευσης αποικιών μελισσών. **Βασικά συμπτώματα [22-24,26]:** Η τυπική εκδήλωση του CWV περιλαμβάνει μερική παράλυση ενήλικων μελισσών που εξέρχονται της αποικίας αναίτια, θολή και εύθραυστη μορφολογία φτερών, δύσσομα διαρροϊκά συμπτώματα και υψηλή θνησιμότητα.
- **Ιός Sacbrood (SBV, *Morator aetatulas virus*) [19-22].** Είναι ρετροϊός που προσβάλλει κυρίως τις προνύμφες και ανήκει στην τάξη *Picomavirales*, οικογένεια *Inflaviridae* και γένος *Inflavirus*, συγγενικός του DWV. Η πλειοψηφία των μολυσμένων προνυμφών πεθαίνει και ο συνολικός πληθυσμός των εργατών μειώνεται δραματικά σε 1-2 γενιές, με την αποικία να κινδυνεύει με κατάρρευση. **Βασικά συμπτώματα [22-24,26]:** Αρχικά οι προνύμφες εμφανίζουν καχεκτική σταχτόχρωμη μορφολογία, ενώ σε μετέπειτα στάδια της λοίμωξης αποκτούν φαιόχρωμη εμφάνιση και, εν τέλει, ένα 24ωρο πριν πεθάνουν γίνονται

σκούρες καφέ ή μαύρες. Επίσης, η καχεκτική εμφάνιση αποκτά συχνά χαρακτηριστικά ζελατινώδους εύθραυστου ασκού.

- **Ιός χρόνιας παράλυσης μελισσών (Chronic Bee Paralysis Virus, CBPV) [22-24].** Ρετροϊός που προσβάλλει κυρίως τις ενήλικες μελιτοφόρες μέλισσες και παρουσιάζει μορφολογικά και γενετικά χαρακτηριστικά κοινά με ιούς των οικογενειών *Nodaviridae* και *Tombusviridae*, αλλά δεν έχει ταξινομηθεί ακόμα καθώς πρόκειται για ολότελα διαφορετική οικογένεια ιών. Υψηλότερες συγκεντρώσεις ικών σωματιδίων εντοπίζονται συνήθως στους νευρικούς ιστούς. Σημειωτέον ότι δεν πρέπει να συγχέεται με τους ιούς οξείας ή βραδείας παράλυσης. **Βασικά συμπτώματα [22-24,26]:** Ο ιός προκαλεί συμπτώματα χρόνιας παράλυσης σε ενήλικες μέλισσες και μπορεί να εξαπλωθεί σχετικά εύκολα στα υπόλοιπα μέλη της αποικίας, ιδίως εφόσον δεν οδηγεί γρήγορα σε θάνατο όπως άλλοι ιοί. Άξιο αναφοράς είναι πως η εκτεταμένη μόλυνση της αποικίας καταλήγει συχνά σε συμβάντα αιφνίδιας κατάρρευσης καθώς η εξέλιξη της λοίμωξης είναι σχετικά αργή, τα μέλη της αποικίας παραμένουν λειτουργικά για σημαντικό διάστημα και, επιπλέον, μπορεί να μολυνθούν και οι γόννοι σε ορισμένες περιπτώσεις. Τυπικά συμπτώματα περιλαμβάνουν ατροφία νευρώνων, προοδευτικά φθίνουσα κινητικότητα και επιδεινούμενο συντονισμό, μη-φυσιολογικά μοτίβα πετάγματος, άσκοπες μετακινήσεις και απώλεια μνήμης.
- **Ιός βραδείας παράλυσης μελισσών (Slow Bee Paralysis Virus, SBPV) [22-24].** Είναι ρετροϊός της τάξης *Picomavirales*, οικογένειας *Inflaviridae* και γένους *Inflavirus* που μολύνει τόσο τις ενήλικες μελιτοφόρες μέλισσες όσο τους βομβίνους και τους μεταξοσκώληκες. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις του ιού εντοπίζονται στην κεφαλή, στους σιελογόνους αδένες και τον λιπώδη ιστό των μολυσμένων μελισσών, ενώ χαμηλότερες συγκεντρώσεις ανιχνεύονται επίσης στα πόδια και στον σπλαχνικό ιστό. **Βασικά συμπτώματα [22-24,26]:** Η λοίμωξη εκδηλώνεται κυρίως με σταδιακή παράλυση των δύο μπροστινών ζευγών ποδιών, προοδευτικά επιδεινούμενη εικόνα καχεξίας, αδυναμία πετάγματος και εν τέλει θάνατο. Συγκριτικά με τα υπόλοιπα ιογενή σύνδρομα παράλυσης, το συγκεκριμένο είναι το λιγότερο επιθετικό και το βραδύτερα εξελισσόμενο.

3.1.2 Οδοί μετάδοσης ιών

Η γνώση των κυριότερων οδών μόλυνσης και της δεξαμενής ειδών - φορέων είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση της επιδημιολογίας και της λοιμογόνου δυναμικής κάθε τέτοιου ιού. Αρχικά, όλες οι γνωστές οδοί διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες ανάλογα με το αν υφίσταται μετάδοση του εκάστοτε ιού μεταξύ μελισσών της ίδιας γενιάς (οριζόντια

μετάδοση) ή αν συμβαίνει σχεδόν αποκλειστικά από μολυσμένους κηφήνες και βασίλισσες προς τ' αυγά (κάθετη μετάδοση) [22-24,27,28]. Είναι εύλογο πως τα όρια μεταξύ οριζόντιας και κάθετης μετάδοσης δεν είναι πάντα ευδιάκριτα, καθώς αρκετοί ιοί έχουν τη δυνατότητα να εκμεταλλεύονται δύο ή περισσότερες οδούς μόλυνσης. Επίσης, όπως εξηγείται σε επόμενες παραγράφους, η παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων ιικών σωματιδίων στο αναπαραγωγικό σύστημα κηφήνων και βασιλισσών δε συνεπάγεται απαραίτητα λοίμωξη για τη μέλισσα, αλλά ακόμα και έτσι είναι πάντα πιθανό να πραγματοποιηθεί γονιμοποίηση με μια εκ των δύο μελισσών (κηφήνα ή βασίλισσα) να φέρει μόλυνση τόσο στο αναπαραγωγικό σύστημα όσο και στον οργανισμό συνολικά από τον ίδιο ιό [22-24,27,28]. Σε τέτοια περίπτωση, η διάκριση μεταξύ οριζόντιας και κάθετης μετάδοσης είναι αρκετά δύσκολη.

Εδώ, τόσο για την οριζόντια όσο και για την κάθετη μετάδοση αναλύονται οι βασικές οδοί που συμμετέχουν, με τη μεγαλύτερη ποικιλία και πολυπλοκότητα ν' αφορά την οριζόντια μετάδοση.

3.1.3 Οριζόντια μετάδοση

3.1.3.1 Οδός στόματος-κοπράνων

Η συγκεκριμένη οδός είναι, κατά γενική παραδοχή, η πλέον κοινή και συχνότερη για τη μετάδοση ιών στις μέλισσες, τόσο εντός της ίδιας αποικίας όσο και μεταξύ διαφορετικών υποειδών [22-24,27]. Οι περισσότεροι ιοί εντοπίζονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στα κόπρανα, απ' όπου απελευθερώνονται στο περιβάλλον και ύστερα μπορούν να μολύνουν άλλες μέλισσες μέσω των δικτύων – διαδρομών επικονίασης. Επίσης, τα κόπρανα απελευθερώνονται ενίοτε εντός της αποικίας, ιδίως όταν επικρατούν δυσμενείς καιρικές συνθήκες (χαμηλές θερμοκρασίες, ισχυρή βροχόπτωση, άνεμος) ή λόγω διαρροϊκών συμπτωμάτων που προκαλούνται στις μέλισσες από δύσπεπτα συστατικά του μελιού και της γύρης, ενώ ανάλογα συμπτώματα μπορούν να προκαλέσουν και μυκητιασικές λοιμώξεις όπως η νοζεμίαση (από τα είδη μυκήτων *Nosema apis* και *Nosema ceranae*) [22-24,27]. Η πορεία μετάδοσης του ιού ολοκληρώνεται όταν οι μέλισσες επιχειρούν ν' απομακρύνουν τις συσσωρευθείσες μολυσμένων κοπράνων, ως μέρος των διαδικασιών καθαρισμού της αποικίας.

3.1.3.2 Τροφάλλαξη

Ως τροφάλλαξη ορίζεται η διαδικασία μεταφοράς τροφής, δειγμάτων υλικών, υγρών και χημικών σημάτων μεταξύ των μελών μιας αποικίας εντόμων από στόμα σε στόμα ή, ακόμα, από πρωκτό σε στόμα [22,27,31]. Πρόκειται για μια διαδικασία υφιστάμενη κυρίως σε είδη κοινωνικών εντόμων, με χαρακτηριστικά παραδείγματα τα είδη μελισσών και μυρμηγκιών, που όμως δεν πρέπει να συγχέεται με την κοπροφαγία. Η τροφάλλαξη επιτρέπει στα κοινωνικά έντομα ν' ανταλλάσσουν αποθηκευμένες τροφές και δείγματα από υλικά που συνέλεξαν προς ιχνηλάτηση του περιβάλλοντός τους, όπως επίσης για τη μετάδοση αναγκαίων ενδοσυμβιωτικών οργανισμών του πεπτικού σωλήνα [22,27,31].

Μια τόσο άμεση επαφή με εκκρίσεις του πεπτικού συστήματος δε μπορούσε παρά να προσφέρει σημαντική οδό μετάδοσης τροφιμογενών λοιμώξεων, όπως διαπιστώθηκε σε αρκετές μελέτες που εστίασαν αρχικά στην εξάπλωση του Ισραηλινού ιού οξείας παράλυσης (Israeli acute paralysis virus, IAPV) [22,27,28].

3.1.3.3 Υποφαρυγγικοί αδένες και τροφή προνουμφών

Οι υποφαρυγγικοί αδένες είναι ζεύγος σωληνοειδών εκκριτικών οργάνων που υφίστανται στη μετωπική περιοχή του κεφαλιού μελισσών – εργατών και εκκρίνουν βασιλικό πολτό (royal jelly), ένα πρωτεϊνούχο μίγμα ουσιών ζωτικής σημασίας για την τροφή προνουμφών [22,31]. Αρκετοί ιοί έχουν εντοπιστεί τόσο στους υποφαρυγγικούς αδένες μελισσών – εργατών όσο και στον βασιλικό πολτό, γεγονός ενδεικτικό μιας ακόμα οδού μετάδοσης [22,28]. Παραδείγματα τέτοιων λοιμώξεων είναι ο ιός οξείας παράλυσης μελισσών (acute bee paralysis virus, ABPV) και ο στενά συγγενικός IAPV, οι οποίοι απομονώθηκαν από υποφαρυγγικούς αδένες ασθενών αλλά και ασυμπτωματικών εργατών, με τη δεύτερη περίπτωση να μην έχει επεξηγηθεί επαρκώς. Εντούτοις, προς το παρόν αποδίδεται σε παράγοντες όπως φυσική ανοσία των ασυμπτωματικών φορέων ή σε μερική ανοσολογική καταστολή, ενώ δε μπορεί ν' αποκλειστεί ως πιθανότητα η εγγενής δυνατότητα των συγκεκριμένων ιών να παραμένουν σε σχετικά αδρανή κατάσταση για ορισμένο διάστημα και να ενεργοποιούνται αργότερα, υπό συνθήκες ευνοϊκότερες ή κατόπιν επίδρασης κάποιου βιοχημικού ερεθίσματος [22,27,28]. Άλλα σημαντικά παραδείγματα ιών που αξιοποιούν την οδό στόματος – κοπράνων είναι ο ιός παραμορφωμένων φτερών (Deformed wing virus, DWV) που ανιχνεύθηκε στις εκκρίσεις από μέλισσες – τροφαλλάκτριες / τροφοί (nurse bees) και στην τροφή προνουμφών [22-24],

ο ιός μελισσών του Κασμίρ (Kashmir bee virus, KBV) και ο ιός Sacbrood (SBV) που εντοπίστηκαν στην τροφή προνυμφών [22-24,28], όπως επίσης ο ιός εύθραυστων φτερών (Cloudy wing virus, CWV) που εντοπίστηκε σε σφραγισμένους γόνους μελισσών [22-24], με την τελευταία περίπτωση μάλιστα ν' αποτελεί ισχυρή ένδειξη για μετάδοση από τη στοματική κοιλότητα μελισσών – τροφών στις προνύμφες μέσω της παρεχόμενης τροφής.

3.1.3.4 Άλλες πηγές στα τρόφιμα

Ιοί τροφογενών λοιμώξεων έχουν εντοπιστεί και σε άλλες πηγές σχετιζόμενες με τις διατροφικές συνήθειες των μελισσών όπως το μέλι και η γύρη. Οι ιοί KBV και SBV απομονώθηκαν από μέλι, γύρη και βασιλικό πολτό, ο νηματοειδής ιός της μελιτοφόρου μέλισσας (*Apis mellifera* filamentous virus, AmFV) ανιχνεύθηκε σε μέλι και γύρη, ο IAPV σε γύρη, ενώ ο ιός της Μαύρης Βασίλισσας (Black Queen cell virus, BQCV), ο ιός της λίμνης Σινάι (Lake Sinai virus, LSV) και ο SBV έχουν εντοπιστεί σε τεμαχίδια πακεταρισμένης γύρης (pollen pellets) [22-24,28].

3.1.3.5 Ανίχνευση ιών στο πεπτικό σύστημα και στα κόπρανα

Σε αρκετές μελέτες, ο BQCV ανιχνεύθηκε στα κόπρανα και στο πεπτικό σύστημα βασιλισσών, γεγονός που πρακτικά επικύρωσε την ήδη υφιστάμενη θεωρία για μετάδοση μέσω των κοπράνων [22-24]. Ωστόσο, η μετάδοση του BQCV στις ενήλικες μέλισσες φαίνεται πως εξαρτάται εν πολλοίς από τη συννοσηρότητα με τον μύκητα *Nosema apis*, εξαιτίας του οποίου προκαλούνται διαρροϊκά συμπτώματα εντός της αποικίας [22-26]. Άλλοι ιοί που εντοπίστηκαν σε κόπρανα και πεπτικό σύστημα είναι ο ABPV, ο ιός χρόνιας παράλυσης μελισσών (Chronic bee paralysis virus, CBPV), οι DWV, KBV, IAPV και CBPV [22-26].

3.1.4. Μετάδοση μέσω τοπικής επαφής

Ο ιός χρόνιας παράλυσης μελισσών (CBPV) αποδείχθηκε ικανός να μεταδίδεται μέσω επαφής με πρόσφατα απογυμνωμένης επιδερμίδας μολυσμένης μέλισσας [22-24]. Ομοίως, ο IAPV μπορεί να μεταδοθεί μέσω στενής σωματικής επαφής μεταξύ μελισσών – εργατριών και, ακολούθως, μέσω επαφής μεταξύ ορισμένων μελισσών – εργατριών και της βασίλισσας. Συνεπώς, είναι αρκετά πιθανό για πολλούς ιούς ν' ακολουθούν δύο ή περισσότερες οδούς μετάδοσης ταυτόχρονα [22-24].

3.1.5 Μετάδοση υποβοηθούμενη από φορείς

3.1.5.1 Η περίπτωση του *Varroa destructor*

Ένας ακόμη τύπος οριζόντιας μετάδοσης ιών θεωρείται πως είναι η μόλυνση από φορείς από παράσιτα, λοιμογόνα και μη, με χαρακτηριστικά παραδείγματα τα ενδο- και εξω- παρασιτικά ακάρεα [22-24,28-30]. Πιο συγκεκριμένα, τ' ακάρεα και άλλοι παρασιτικοί φορείς μπορούν να μεταφέρουν τα ιικά σωματίδια δι' απλής επαφής στις μέλισσες ('μηχανικοί' φορείς) ή, ακόμα χειρότερα, να λειτουργούν ως ασυμπτωματικοί βιολογικοί φορείς παρέχοντας στους ιούς κατάλληλο περιβάλλον πολλαπλασιασμού [22-24,28-30]. Ισχυρή ένδειξη επ' αυτών αποτελεί το γεγονός ότι απομονώνονται ακάρεα από διάφορα μέρη ασυμπτωματικών και ασθενών μελισσών, παρασκευάζονται ομογενοποιημένα κατεστραμμένων κυττάρων (από τ' ακάρεα) και εντοπίζονται σχεδόν σε κάθε τέτοια περίπτωση συσσωματώματα ιικών δομών [22-24]. Αυτό αποδεικνύει πως τ' ακάρεα τόσο ασυμπτωματικών φορέων όσο και ασθενών μελισσών περιέχουν πράγματι ένα ή περισσότερα είδη ιών, που σε αρκετές περιπτώσεις ταυτοποιήθηκαν ως υπεύθυνα για την εκδηλωνόμενη ασθένεια. Παράδειγμα τέτοιων ακάρεων είναι τα ενδοπαρασιτικά *Acarapis woodi*, τα οποία ζουν και πολλαπλασιάζονται εντός της τραχείας και των αεροφόρων ασκών της ενήλικης μελιτοφόρου μέλισσας [22-24]. Η σημασία τους έγκειται στο ότι έχουν αποδειχθεί (με την παραπάνω γενική μεθοδολογία) φορείς ιών παρεμφερών της οικογενείας *Picornaviridae*, της οποίας τα μέλη διακρίνονται για την ικανότητα μετάδοσης μέσω αεροφόρων οδών [22,28].

Πολύ σημαντικότερο παράδειγμα μολυσματικού φορέα είναι το εξω-παρασιτικό είδος ακάρεων *Varroa destructor*, που είναι κατά γενική παραδοχή το επικινδυνότερο και περισσότερο καταστροφικό παράσιτο μελιτοφόρων μελισσών έως σήμερα [22-24,28-30]. Εκτός της εγγενούς τους λοιμογόνου δράσης, τα εν λόγω ακάρεα μεταδίδουν συχνά τον συνδυασμό ιών ABPV, KBV και IAPV, που αναφέρονται λόγω της συχνής τους συννοσηρότητας ως 'σύμπλεγμα AKI' (AKI complex) [22-24,28-30]. Προς το παρόν δεν έχει αποκομιστεί κάποια άμεση ένδειξη πως οι ιοί συμπλέγματος AKI πολλαπλασιάζονται εντός του *V. destructor*, ενώ μάλιστα για την περίπτωση του ABPV επικρατεί η άποψη ότι απλά φέρει τα ιικά σωματίδια χωρίς να επιτρέπει τον πολλαπλασιασμό τους [22]. Η επιτυχής μετάδοση του συμπλέγματος AKI από *V. Destructor* ολοκληρώνεται συνήθως κατόπιν παρέλευσης 36 h από την αρχική επαφή [22-24,28-30]. Αξιοσημείωτη είναι και η συχνότητα συννοσηρότητας *V. Destructor* με τον DWV, για τον οποίο επίσης επικρατούσε η άποψη ότι τα εξω-παρασιτικά ακάρεα μετέφεραν απλώς τα ιικά σωματίδια, ωστόσο μετέπειτα μελέτες

απέδειξαν ότι ορισμένα στελέχη DWV πολλαπλασιαζόντουσαν εντός του *V. Destructor* και ως εκ τούτου παρουσιάζονταν δράση βιολογικού φορέα [22]. Σημειωτέον πως τα στελέχη του ιού παραμορφωμένων φτερών (DWV) χωρίζονται σε 3 κύριες κατηγορίες, τις DWV-A, -B και -C, με τα στελέχη τύπου DWV-B να παρουσιάζουν τις σημαντικότερες ενδείξεις πως πολλαπλασιάζονται εντός των εξω-παρασιτικών ακάρεων [22-24,28-30]. Η μεταδοτικότητα και η νοσηρότητα των DWV-B συναρτήσκει των καιρικών συνθηκών ακολουθεί μεν το αναμενόμενο μοτίβο επιδείνωσης κατά τους χειμερινούς μήνες, ωστόσο περιπλέκεται κάπως η κατάσταση διότι υπάρχουν αρκετές αναφορές γι' αποικίες που επέζησαν του χειμώνα παρόλη τη μόλυνση με τον DWV-B, ενώ άλλες αποικίες υπό σχεδόν πανομοιότυπες συνθήκες αλλά μολυσμένες με DWV-A ή DWV-C κατέρρευσαν παρόλη τη χαμηλότερη νοσηρότητα των DWV-A/-C [22]. Αξίζει ν' αναφερθεί πως το *V. Destructor* λειτουργεί ως βιολογικός φορέας των στελεχών DWV-B, αλλά για τα DWV-A δείχθηκε υπό εργαστηριακές συνθήκες πως είναι απλά 'μηχανικός' φορέας [22], ενώ για το DWV-C παραμένει ακόμα αδιευκρίνιστος ο ρόλος του.

Ο Ισραηλινός ιός οξείας παράλυσης (IAPV) ανιχνεύεται επίσης σε αποικίες μολυσμένες με *V. Destructor*, που βάσει διαθέσιμων ενδείξεων φαίνεται να λειτουργεί ως βιολογικός φορέας του ιού [22-24,28-30]. Άλλοι ιοί που ανιχνεύθηκαν σε ομογενοποίηση λυμένων κυττάρων αλλά και στο σάλιο του εξω-παρασιτικού ακάρεου ήταν οι KBV, CBPV, ο ιός αργής παράλυσης μελισσών (Slow bee paralysis virus, SBPV) και ο Ραβδοϊός μελισσών 1 (Apis rhabdovirus1/Bee rhabdovirus-1, ARV-1/BRV-1), μολονότι οι ενδείξεις για τον τελευταίο παρέμεναν σχετικά ελλιπείς καθώς τα δείγματα από κύτταρα *V. Destructor* ενδεχομένως να είχαν μολυνθεί από ικό γενετικό υλικό προερχόμενο από τις μέλισσες – ξενιστές [22].

Η μετάδοση LSV μέσω *V. Destructor* έχει συγκεντρώσει επίσης ερευνητικό ενδιαφέρον, καθώς τα ιικά σωματίδια ανιχνεύθηκαν στ' ακάρεα αλλά δεν υπάρχουν προς το παρόν άλλες ενδείξεις, ενώ σημαντικές είναι και οι περιπτώσεις μολύνσεων από ιούς μελισσών τύπου Macula (Bee Macula-like virus, BeeMLV) σε συννοσηρότητα με βαρρόα (νόσος οφειλόμενη στον *V. Destructor* καθαυτό) [22-24]. Τέλος, για τον ιό Μαύρης Βασίλισσας (BQCV) δεν υπάρχει κάποια ένδειξη για τη μετάδοσή του από *V. Destructor* [22].

3.1.5.2 Οι περιπτώσεις των ακάρεων γένους *Tropilaelaps*

Εκτός του *Varroa destructor*, άλλα σημαντικά είδη εξω-παρασιτικών ακάρεων που αλληλεπιδρούν στενά με τις μελιτοφόρες μέλισσες είναι εκείνα του γένους *Tropilaelaps*, με κυριότερους φορείς ιών τα *T. mercedesae* και *T. clarea* [22-24]. Συγκεκριμένα, το *T. mercedesae* βασίζεται πολύ περισσότερο στους γόνους μέλισσας από το *V. destructor* για τους κύκλους αναπαραγωγής και ανάπτυξης, ενώ έχει δειχθεί πως είναι φορέας των DWV και ABPV. Στην περίπτωση του δεύτερου έχει ενδιαφέρον το γεγονός ότι φυλογενετική ανάλυση δειγμάτων από μολυσμένες μέλισσες και φορείς *T. mercedesae* έδειξε σημαντική πιθανότητα να μεταπήδησε ο ιός από άλλα είδη υμενόπτερων στη μέλισσα εξαιτίας του ακάρεου [22-24].

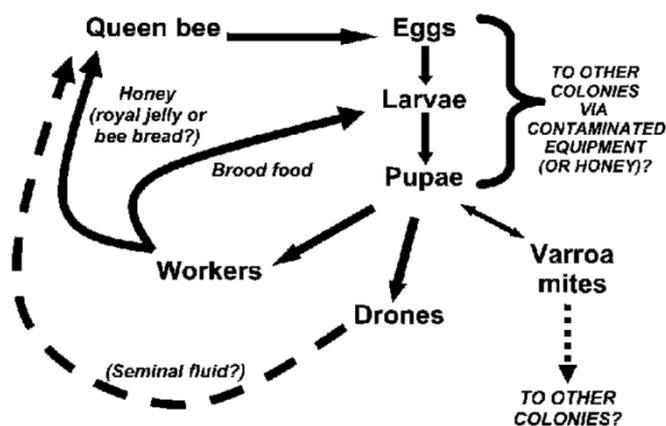
3.1.5.3 Το σκαθάρι *Aethina tumida*

Το σκαθάρι μικρών κυψελίδων (small hive beetle, SHB) *Aethina tumida* συλλέγει θρεπτικές ύλες αναγκαίες για την ανάπτυξη του ίδιου και των προνυμφών του από κυψελίδες μελισσών, ενώ συχνά επιτίθεται σε γόνο και νεαρές ή αδύναμες μέλισσες με σκοπό να της καταναλώσει [22-24]. Μελέτες έδειξαν πως το *A. tumida* έρχεται σε επαφή με τον DWV μέσω διαφόρων τρόπων όπως καταναλώνοντας μολυσμένο γόνο ή μέλισσες, ερχόμενο σε επαφή με μολυσμένο κερί ή εκμεταλλευόμενο την τροφάλλαξη μεταξύ μελισσών [22-24]. Η παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων σε δείγματα εκκρίσεων και κυτταρικών ομογενοποιημάτων από *A. tumida* υποδεικνύει ότι είναι φορέας και ίσως μάλιστα βιολογικός, καθώς ανιχνεύθηκαν και ενδιάμεσα μόρια του κύκλου μεταγραφής ιικού RNA, τα οποία προκύπτουν κατά τον πολλαπλασιασμό του ιού [22]. Ωστόσο, ακόμα και μια τόσο άμεση ένδειξη δεν επαρκεί καθώς το εν λόγω σκαθάρι καταναλώνει μέλισσες, οπότε είναι πιθανό τα θραύσματα ενδιάμεσων μορίων μεταγραφής RNA να προήλθαν από ικό πολλαπλασιασμό σε μολυσμένες μέλισσες [22].

3.1.5.4 Μετάδοση μέσω αναπαραγωγής

Η μετάδοση λοιμώξεων μέσω αναπαραγωγής αποτελεί έναν ακόμα τύπο οριζόντιας μετάδοσης, καθώς εμπλέκει μέλισσες της ίδιας γενιάς [22-24]. Λόγω τεχνικών δυσκολιών στις πειραματικές μελέτες γονιμοποίησης βασιλισσών από κηφήνες, αρκετές από τις ενδείξεις για πιθανή μετάδοση ιών μέσω της αναπαραγωγικής διαδικασίας προέρχεται

κυρίως από μοντέλα τεχνητής προσομοίωσης, όπως επίσης μέσω αναλύσεων δειγμάτων από τις αναπαραγωγικές εκκρίσεις και τους αντίστοιχους ιστούς μολυσμένων βασιλισσών και κηφήνων [22]. Με τέτοιες μεθόδους ανιχνεύθηκαν στο σπέρμα κηφήνων οι ιοί ABPV, BQCV, SBV, AmFV και DWV [22-24]. Επίσης, οι DWV και IAPV εντοπίστηκαν και στη σπερματοθήκη βασιλισσών. Εντούτοις, σημαντικό αντεπιχείρημα για τη δυνατότητα μετάδοσης των συγκεκριμένων ιών μέσω αναπαραγωγής προέρχεται από ορισμένα ευρήματα ομάδων που, αφού επέλεξαν τις αποικίες όπου υποπτευόντουσαν μόλυνση από DWV, συνέλλεξαν δείγματα από το αναπαραγωγικό σύστημα κηφήνων και από χώρους όπου τυπικά διενεργείται η γονιμοποίηση της βασίλισσας [22]. Κατά τον έλεγχο ανιχνεύθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις του ιού στα δείγματα γενετικού υλικού, αλλά δεν καταγράφηκαν ανιχνεύσιμα επίπεδα ικών σωματιδίων σε δείγματα από άλλους ιστούς και, επιπλέον, δεν εκδηλωνόταν κάποιο εκ των τυπικών συμπτωμάτων της ασθένειας [22]. Κατά συνέπεια, η παρουσία και μόνο των ικών σωματιδίων στο αναπαραγωγικό σύστημα ίσως δεν είναι επαρκής αιτία για λοίμωξη. Σημειωτέον πως τα δείγματα προερχόντουσαν από σπέρμα κηφήνων και από κατάλοιπα του ενδοφαλλικού συστήματος που έμεινε στ' αναπαραγωγικό σύστημα της βασίλισσας μετά τη γονιμοποίηση [22].



Σχήμα 1: Συγκεντρωτική απεικόνιση βασικών οδών οριζόντιας και κάθετης μετάδοσης ιών στις *Apis mellifera*. Πηγή: [28]

3.1.6 Κάθετη μετάδοση

Για τις μελιτοφόρους μέλισσες, η κάθετη μετάδοση περιλαμβάνει τη μεταφορά ιών από τις βασίλισσες ή τους κηφήνες (είτε άμεσα μέσω σπέρματος είτε έμμεσα λόγω λοίμωξης της βασίλισσας στο αναπαραγωγικό της σύστημα) προς τους απογόνους [22-24]. Αρκετές

μελέτες ανέφεραν την στατιστικώς σχετιζόμενη ανίχνευση ιών σε βασίλισσες και στ' αυγά τους, γεγονός ενδεικτικό της κάθετης μετάδοσης. Παραδείγματος χάριν, σε μια μελέτη οι ιοί BQCV και DWV ανιχνεύθηκαν σε όλες τις εξεταζόμενες βασίλισσες (N = 10) και σε όλες τους τις σειρές αυγών, 50 έκαστη [22]. Η παρουσία ορισμένων ιών στο αναπαραγωγικό σύστημα της βασίλισσας είναι επίσης μια έμμεση ένδειξη κάθετης μετάδοσης, ιδίως σε περιπτώσεις όπου ανιχνεύθηκαν οι BQCV και DWV στα ωάρια των περισσότερων (όχι απλώς στις εκκρίσεις των οργάνων) [22]. Σε άλλη μελέτη, ο DWV ανιχνεύθηκε στα ωάρια του 80% δείγματος εξεταζόμενων βασιλισσών (N = 86) [22]. Πολύ σημαντική εξέλιξη προήλθε από μελέτες που έδειξαν ότι είναι πράγματι εφικτή η μετάδοση DWV σε ωάρια υγιούς βασίλισσας από κηφήνες με μολυσμένο σπέρμα (οι ίδιοι όμως ασυμπτωματικοί), με αρκετά αυγά να φέρουν ακολούθως υψηλές συγκεντρώσεις του ιού. Εδώ να σημειωθεί όμως ότι δεν είναι θετικοί για DWV όλοι οι γόννοι από μολυσμένες βασίλισσες, ούτε και συμμετέχουν σε κάθετη μετάδοση όλες οι μολυσμένες βασίλισσες, γεγονότα που υποδεικνύουν την ύπαρξη φυσικών εμποδίων ή / και μηχανισμών ως προς τη μετάδοση του ιού κατά την αναπαραγωγή [22-24,27].

Αναφορικά με άλλους ιούς, η ανίχνευση των CBPV, IAPV, KBV, SBV, ABPV, LSV, του ιού θανάσιμης παράλυσης ψείρας (Aphid lethal paralysis virus, ALPV) και του AmFV στα ωάρια βασιλισσών, στο αναπαραγωγικό τους σύστημα και, το κυριότερο, σε πολλά τους αυγά αποτελεί ισχυρή ένδειξη για τη δυνατότητα κάθετης μετάδοσης μέσω αναπαραγωγής [22-24]. Επιπλέον, η ανίχνευση των BQCV, DWV, CBPV, KBV και SBV σε επιφανειακώς αποστειρωμένα αυγά υποδεικνύει ακόμα και τη μετάδοση μεταξύ ωαρίων (transovarial), μια πορεία που προϋποθέτει τη μόλυνση κατά το στάδιο της ωογένεσης [22-24]. Για λιγότερο μελετημένους ιούς όπως οι CWV, LSV, BeeMLV, ARV-1/BRV-1 και ο ιός Moku (MV) δεν υπάρχουν ακόμα αρκετές ενδείξεις για τη δυνατότητα κάθετης μετάδοσης.

Πίνακας 2: Οδοί μετάδοσης ορισμένων σημαντικών ιών της *Apis mellifera*.

Virus	Transmission					
	Horizontal					Vertical
	Oral*	Fecal	Body Contact	Venereal	Vector-mediated	Queen to eggs
IAPV	+	+	+	Ve.S.	+ (Vd)	+
ABPV	+	+	BC.S	Ve.S.	Vd.S., Tm.S.	+
KBV	+	+	BC.S	-	+ (Vd)	+
BQCV	+	+	?	Ve.S.	-	+
DWV	+	+	-	+	+ (Vd, Tm, At.S.)	+
SBV	+	-	-	Ve.S.	-	+
SBPV	+	?	?	?	+ (Vd)	?
CWV	O.S.	?	?	?	-	?
CBPV	+	+	+	-	Vd.S	+
LSV	+	?	?	-	Vd.S.	+
BeeMLV	?	?	?	?	Vd.S.	?
AmFV	+	?	?	Ve.S.	-	+
ALPV	?	?	?	?	?	+
ARV-1/BRV-1	?	?	?	?	Vd.S.	?
ARV-2/BRV-2	?	?	?	?	Vd.S.	?
ABV-1	?	?	?	?	?	?
ABV-2	?	?	?	?	?	?
ArkBV	?	?	?	?	?	?
BerkBPV	?	?	?	?	?	?
BSRV	?	?	?	-	?	?
C/TSBV	+	?	?	?	?	?
BVX	+	?	?	?	?	?
BVY	+	?	?	?	?	?
VTLV	?	?	?	?	Vd.S.	?
AIV	?	?	?	?	?	?
MV	?	?	?	?	?	?
VDV-2	?	?	?	?	?	?
VDV-3	?	?	?	?	?	?
VOV-1	?	?	?	?	?	?
AFV	?	?	?	?	?	?
ANV	?	?	?	?	?	?
ADV	?	?	?	?	?	?

Επεξήγηση συντομεύσεων: ABPV (Acute bee paralysis virus), ABV-1 (Apis bunyavirus-1), ABV-2 (Apis bunyavirus-2), AmFV (Apis mellifera filamentous virus), ADV (Apis dicistrovirus), AIV (Apis iridescent virus), ArkBV και BerkBPV (Arkansas bee virus και Berkeley bee virus), AFV (Apis mellifera flavivirus), ANV (Apis Nora virus), ARV-1/BRV-1 (Apis/Bee rhabdovirus-1), ARV-2/BRV-2 (Apis/Bee rhabdovirus-2), BeeMLV (Bee Macula-like virus), BVX και BVY (Bee virus X και Y), BSRV (Big Sioux river virus), BQCV (Black queen cell virus), IAPV (Israeli acute paralysis virus), C/TSBV (Chinese/Thai sacbrood virus), CWV (Cloudy wing virus), CBPV (Chronic bee paralysis virus), DWV (Deformed wing virus), KBV (Kashmir bee virus), LSV (Lake Sinai virus), MV (Moku virus), SBV (Sacbrood virus), SBPV (Slow bee paralysis virus), VDV-2 και VDV-3 (Varroa destructor virus-2 και -3), VOV-1 (Varroa orthomyxovirus1), VTLV (Varroa Tymo-like virus). **Επεξήγηση συμβολισμών:** + για επιβεβαιωμένη μετάδοση, - για μη-επιβεβαιωμένη μετάδοση, ? άγνωστο, **O.S.** για προτεινόμενη μετάδοση δια στόματος, **BC.S** για προτεινόμενη μετάδοση με σωματική επαφή, **Ve.S.** για προτεινόμενη μετάδοση μέσω

αναπαραγωγής, **Vd** για επιβεβαιωμένη μετάδοση από ακάρεα *Varroa destructor*, **Vd.S.** για προτεινόμενη μετάδοση από *Varroa destructor*, **Tm** για επιβεβαιωμένη μετάδοση από ακάρεα *Tropilaelaps mercedesae*, **Tm.S.** για προτεινόμενη μετάδοση από *Tropilaelaps mercedesae mercedesae*, **At.S.** για προτεινόμενη μετάδοση από το σκαθάρι *Aethina tumida*.

Πηγή: [22]

3.1.7 Προσφάτως ανακαλυφθέντες ιοί μελισσών

Πολλά νέα είδη ιών που μολύνουν τις μελιτοφόρες μέλισσες έχουν ανακαλυφθεί τα τελευταία 10 χρόνια, εφαρμόζοντας καινοτόμες τεχνολογίες γονιδιακής αλληλούχισης (high throughput sequencing technologies, HTS) [22-24]. Αρκετοί από αυτούς τους ιούς έχουν ταξινομηθεί βάσει ήδη γνωστών τάξεων, οικογενειών και γενών, εντούτοις για ορισμένους όπως οι CWV και CBPV δε στάθηκε εφικτή μέχρι στιγμής η ταξινόμηση καθώς παρουσιάζουν μορφολογικά και γενετικά χαρακτηριστικά ευκρινώς διακριτά από άλλους τύπους ιών [22]. Άλλα παραδείγματα νέων ιών είναι οι *Moku*, *Apis Nora virus* (ANV), *Apis bunya virus-1,2* (ABV-1, ABV-2), *Apis dicistrovirus* (ADV) και *Apis flavivirus* (AFV), *AmFV*, *Apis rhabdovirus 1,2* (ARV-1,-2)/*Bee rhabdovirus-1,2* (BRV-1,-2) και άλλοι από τις οικογένειες *Iflaviridae*, *Tymoviridae*, *Nudiviridae* και *Parvoviridae* [22-24]. Επίσης, από το 2018 και έπειτα άρχισαν να ταυτοποιούνται νέοι ιοί τύπου *picorna* σε αποικίες μελιτοφόρων μελισσών στην Αυστραλία [22-24]. Προς το παρόν δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για τον φυλογενετικό χαρακτηρισμό των περισσότερων αυτών ιών, ενώ σημαντικές είναι οι ελλείψεις σε γνώση για τους τρόπους μετάδοσης, τη συννοσηρότητα με ήδη γνωστά παθογόνα, την επιδημιολογία ανά ήπειρο, τη μεταλλαξιμότητα και το σύνολο των συμπτωμάτων.

3.2 Βακτηριογενείς ασθένειες

Υπάρχουν διάφορες βακτηριογενείς ασθένειες που προσβάλλουν την *Apis mellifera*, με κυριότερες την Αμερικανική σηψιγονία (American foulbrood, AFB) και την Ευρωπαϊκή σηψιγονία (European foulbrood, EFB), αμφότερες εξαπλωμένες σε όλο τον κόσμο και υπεύθυνες για την κατάρρευση σημαντικού αριθμού αποικιών ετησίως [33,34,38]. Τα υπεύθυνα παθογόνα προσβάλλουν τον γόνο και προκαλούν τη χαρακτηριστική δυσάρεστη οσμή, ενώ η αποικία εξασθενεί συνολικά και μπορεί να οδηγηθεί σε κατάρρευση, ιδίως αν η μόλυνση εξελίσσεται σε συν-νοσηρότητα με κάποιο άλλο παθογόνο [33,34,38]. Η AFB οφείλεται στο βακτήριο *Paenibacillus larvae* και η EFB στο *Melissococcus plutonius*.

Στις περισσότερες χώρες τις ΕΕ οι AFB και EFB ελέγχονται μέσω καύσης συμπτωματικών αποικιών και με αυστηρή τήρηση των πρακτικών υγιεινής από πλευράς μελισσοουργών, ώστε να παρεμποδιστεί η εξάπλωση [33,35,41]. Η χρήση αντιβιοτικών απαγορεύεται εντός ΕΕ κυρίως λόγω απουσίας μέγιστου ορίου καταλοίπων (maximum residue limit, MRL) στα προϊόντα μελιού, αλλά σε χώρες όπως οι ΗΠΑ και ο Καναδάς γίνεται συστηματική χρήση ακόμα και ως προληπτικό μέτρο [33,35,41]. Πρόκειται για μια φαρμακευτική προσέγγιση με αμφίβολα αποτελέσματα, καθώς τ' αντιβιοτικά σκευάσματα εξοντώνουν μεν το μεγαλύτερο μέρος των βακτηρίων αλλά αποτυγχάνουν στην αντιμετώπιση των ανθεκτικών ενδοσπορίων χάρις στα οποία εξαπλώνεται η μόλυνση [33,35,41]. Εν ολίγοις, μειώνεται η σοβαρότητα των συμπτωμάτων και επεκτείνεται χρονικά η βιωσιμότητα της αποικίας, αλλά δεν αντιμετωπίζεται ο αληθινός μολυσματικός παράγοντας, οπότε η νόσος αναζωπυρώνεται μόλις τερματιστεί η αγωγή. Ενδεικτικά, εκτιμάται πως το 10 – 20% των μολυσμένων με AFB αποικιών υποκύπτουν στην ασθένεια μόλις διακοπεί η χορήγηση [33]. Επιπλέον, όπως και σε όλα σχεδόν τα γνωστά βακτηριακά είδη, η συχνή χορήγηση αντιβιοτικών ευνοεί την ανάπτυξη ανθεκτικότητας, οπότε αγχρηστεύεται το φάρμακο.

3.2.1 Αμερικανική σηψιγονία (AFB)

Συγκαταλέγεται στις σημαντικότερες ασθένειες της μελιτογόνου μέλισσας και τα ενδοσπόρια, που είναι ο κύριος μολυσματικός παράγοντας, μπορούν να επιβιώσουν σε πληθώρα συνθηκών για 2 ή περισσότερες δεκαετίες χωρίς ν' απωλέσουν τη βλαστική τους ικανότητα [33-37]. Η νόσος χαρακτηρίζεται ως λοιμώδης ασθένεια με επιζωοτικό χαρακτήρα, οφείλεται στο είδος βακτηρίων *Paenibacillus larvae subspecies larvae* και προσβάλλει αποκλειστικά τον γόνο [33-37].

3.2.1.1 Μορφολογία και συστηματική ταξινόμηση του *Paenibacillus larvae*

Το *Paenibacillus larvae larvae* συγκαταλέγεται στα θετικά κατά Gram σπορογόνα βακτήρια με διαστάσεις 0.5-0,6 x 1,5-6 μm [33-37]. Η τυπική μορφολογία του αντιστοιχεί σε εκείνη των βακίλων, ωστόσο εμφανίζεται πολλές φορές ως νηματόμορφο σε κυτταροκαλλιέργειες και σε δείγματα μολυσμένων μελισσών. Τα ενδοσπόρια αποτελούν την ανθεκτική και μεταδοτική μορφή του βακτηρίου, ενώ οι βλαστικές μορφές σπάνια ευθύνονται για τη μόλυνση [33-37].

Πίνακας 3: Συστηματική ταξινόμηση βακτηρίου της νόσου AFB.

Τάξη	<i>Bacillales</i>
Οικογένεια	<i>Paenibacillaceae</i>
Γένος	<i>Paenibacillus</i>
Είδος	<i>Paenibacillus larvae</i>
Υποείδος	<i>Paenibacillus larvae</i> <i>larvae</i>
Πηγές: [33,38]	

3.2.1.2 Επιδημιολογία και μετάδοση

Η Αμερικανική σηπτιγονία μπορεί να εκδηλωθεί οποιονδήποτε μήνα του χρόνου, εφόσον η αποικία εκτρέφει γόνο και η τροφή του είναι μολυσμένη με ενδοσπόρια *Paenibacillus larvae larvae* [33-37]. Οι μεγαλύτερες απώλειες σε γόνο παρατηρούνται συνήθως κοντά στο μέσον και προς το τέλος της μελισσοκομικής χρονιάς. Βασικές προϋποθέσεις για την εκδήλωση της ασθένειας είναι [33-37]:

1. Κατάλληλο περιβάλλον. Αυτό περιλαμβάνει την κακή κατάσταση κάθε κηρήθρας, την πρόχειρη ή, γενικά, αντίθετη σε ορθές πρακτικές εγκατάσταση της κυψέλης, την φτωχή σε αναγκαίες θρεπτικές ύλες τροφή και την ανεπαρκή επιτήρηση της αποικίας.
2. Στάδιο ανάπτυξης του γόνου. Ιδανικά, ο γόνος πρέπει να βρίσκεται σε φλαση προνύμφης κάτω των 55 h.
3. Μολυσματικό φορτίο. Είναι εύλογο πως μεγαλύτερος αριθμός ενδοσποριδίων συνεπάγεται περισσότερες πιθανότητες για μόλυνση.

4. Συν-νοσηρότητα. Η ταυτόχρονη μόλυνση της αποικίας με κάποιο άλλο παθογόνο, ιδίως αν πρόκειται γι' ασθένεια των ενήλικων μελισσών, ευνοεί την εξάπλωση του *Paenibacillus larvae larvae*. Σε περίπτωση, όμως, συν-νοσηρότητας με άλλη ασθένεια του γόνου υπάρχει πιθανότητα ανταγωνισμού μεταξύ των δύο παθογόνων.

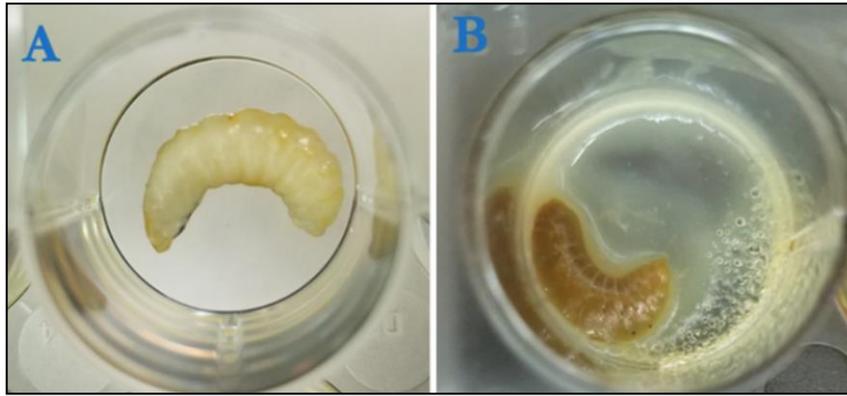
Η τυπική εξέλιξη της νόσου πραγματοποιείται ως εξής [33-37]: Οι επικονιαστές φέρνουν στην αποικία γύρη και θρεπτικές ύλες μολυσμένες με ενδοσπόρια, οι (ενήλικες) μέλισσες ανταλλάσσουν τα παραπάνω μέσω τροφάλλαξης, οι τροφοί συνθέτουν τη μολυσμένη τροφή γόνου και τη μεταφέρουν στα κελιά, οι γόνοι καταναλώνουν τις θρεπτικές ύλες και μαζί τους προσλαμβάνουν τα ενδοσπόρια. Αυτά, μόλις καταλήξουν στο πεπτικό σύστημα αρχίζουν να μετατρέπονται στις βλαστικές μορφές, οι οποίες πολλαπλασιάζονται και προκαλούν τη νόσο, ενώ παράλληλα μεγάλο μέρος τους παράγει εκ νέου ενδοσπόρια. Η νόσος εξελίσσεται αργά και δύσκολα γίνεται αντιληπτή σε χαμηλά επίπεδα μόλυνσης, γεγονός εξαιρετικά επικίνδυνο για μελίτσια που δεν ελέγχονται συστηματικά [33-37].

Η εξάπλωση της νόσου εντός της αποικίας γίνεται κυρίως μέσω των μελισσών – εργατριών, οι οποίες προσπαθούν να καθαρίσουν τα μολυσμένα κελιά και ν' απομακρύνουν τον νεκρό γόνο, αλλά προσκολλώνται πάνω τους πολλά ενδοσπόρια και τα μεταφέρουν τόσο σε άλλες ενήλικες μέλισσες όσο και σε γειτονικά κελιά γόνου [33-37].

3.2.1.3 Συμπτώματα Αμερικανικής σηψιγονίας

Στα συμπτώματα περιλαμβάνονται τα κάτωθι [33-37]:

1. Σημαντικά μειωμένη δραστηριότητα στην αποικία. Αυτό σημαίνει λιγότερα και συντομότερα δρομολόγια επικονιαστών, μέλισσες που παραμένουν στην κυψέλη χωρίς να πετάνε και μικρότερη συχνότητα συναθροίσεων σε σμήνη.
2. Εμφάνιση χαρακτηριστικής μορφολογίας αποσάθρωσης στον σφραγισμένο γόνο.
3. Έντονη οσμή σηπόμενου ψαριού από τις εισόδους της αποικίας και κυρίως κοντά στη φωλιά γόνου.
4. Νεκρός γόνος με χαρακτηριστική εμφάνιση αφυδατωμένου σκουρόχρωμου υπολείματος.



Σχήμα 2: Σύγκριση υγιούς γόνου (A) με νεκρό γόνο (B) λόγω AFB. Πηγή: [39]

Ο γόνος που πεθαίνει λόγω AFB χάνει τη συνοχή του, μαλακώνει και συσσωρεύεται ως ημίρρευστη μάζα στο κατώτερο τμήμα του κελιού, ενώ το χρώμα του γίνεται αρχικά γκριζοκίτρινο [33-37]. Αργότερα, το χρώμα αλλάζει σε σκούρο καφέ και ο γόνος έχει μετατραπεί σε κολλώδη μάζα, ενώ κατόπιν παρέλευσης κάποιου χρονικού διαστήματος τα πτώματα αφυδατώνονται και σχηματίζουν τα χαρακτηριστικά σκουρόχρωμα υπολείμματα –αναφέρονται ως λέπι της σηψιγονίας [33-37].

3.2.2 Ευρωπαϊκή σηψιγονία

Η Ευρωπαϊκή σηψιγονία προκαλείται από το βακτήριο *Melissococcus plutonius* και χαρακτηρίζεται ως χαμηλότερης επικινδυνότητας συγκριτικά με την AFB [33,40,41]. Ωστόσο, μπορεί να εξασθενίσει τις μολυσμένες αποικίες και, εφόσον εκδηλωθεί ταυτόχρονα με κάποιο άλλο παθογόνο, οδηγεί υπό συνθήκες σε κατάρρευση. Σε πολλές περιοχές του κόσμου η νόσος είναι ενδημική και σημειώνει εποχικά ξεσπάσματα, ωστόσο καταγράφεται την τελευταία δεκαετία μια κατακόρυφη άνοδος κρουσμάτων και σε χώρες που, υπό φυσιολογικές συνθήκες, είχαν ελάχιστα έως μηδενικά. Σχετικά παραδείγματα είναι η Νορβηγία, η Ελβετία, η Φινλανδία, Η Ελλάδα, η Ολλανδία, η Ιταλία και η Τσεχία [18]. Ενδιαφέρον έχει το γεγονός ότι η σοβαρότητα της ασθένειας ποικίλει από χώρα σε χώρα, μάλιστα σε τέτοιο βαθμό που συγγεόταν με AFB [33].

Η εξάπλωση της νόσου ευνοείται σε περιοχές με μεγάλη πυκνότητα μελισσιών [33,40,41]. Ο μολυσμένος γόνος πεθαίνει συνήθως στα πρώτα στάδια ανάπτυξης και το χαρακτηριστικό του σύμπτωμα, που διακρίνει μακροσκοπικά τις δύο σηψιγονίες, είναι η απουσία σφραγισμένων κελιών κατά το στάδιο της σίτισης (feeding stage) [33,40,41]. Η AFB είναι θανατηφόρα από μόνη της, ενώ στην EFB ο θάνατος γόνου επέρχεται συχνά λόγω δευτερογενών μολύνσεων και όχι άμεσα από το *Melissococcus plutonius* [33,40,41]. Παραδείγματα βακτηρίων που εντοπίζονται στα μολυσμένα κελιά σε αφύσικα υψηλά μολυσματικά φορτία και, κατ' επέκταση, ενοχοποιούνται για τις δευτερογενείς μολύνσεις είναι τα *Enterococcus faecalis*, *Brevibacillus laterosporus*, *Bacillus pumilis*, *Paenibacillus alvei* και *Paenibacillus dendritiformis* [33,40,41].

3.2.2.1 Μορφολογία και συστηματική ταξινόμηση του *Melissococcus plutonius*

Το *Melissococcus plutonius* είναι ένα αναερόβιο και θετικό κατά Gram βακτήριο με μορφολογία κόκκου [33,42]. Οι αποικίες του σε τρυβλίο με στερεό θρεπτικό υλικό εμφανίζονται ευκρινείς, μικρές σε έκταση και λευκόχρωμες.

Πίνακας 4: Συστηματική ταξινόμηση βακτηρίου της νόσου EFB.

Τάξη	<i>Lactobacillales</i>
Οικογένεια	<i>Enterococcaceae</i>
Γένος	<i>Melissococcus</i>
Είδος	<i>Melissococcus plutonius</i>
Πηγή: [42]	

3.2.2.2 Επιδημιολογία και μετάδοση

Η νόσος χαρακτηρίζεται ως λοιμώδης ασθένεια με επιζωοτικό χαρακτήρα και μπορεί να εκδηλωθεί ανά πάσα στιγμή του έτους, ωστόσο τα περισσότερα κρούσματα καταγράφονται συνήθως κατά τους εαρινούς μήνες [40,41]. Αναφορικά με τον τρόπο μετάδοσης, υπάρχει μια σημαντική διαφορά μεταξύ των *Paenibacillus larvae* (AFB) και *Melissococcus plutonius* (EFB): Η μεταδοτική μορφή του πρώτου είναι τα ενδοσπόρια, ενώ του δεύτερου είναι οι βλαστικές μορφές –δηλαδή τα βακτήρια ως έχουν.

Με εξαίρεση τη μεταδοτική μορφή των δύο σηψιγονιών, η πορεία μετάδοσης είναι σχεδόν πανομοιότυπη [40,41]:

Οι επικονιαστές φέρνουν στην αποικία γύρη και θρεπτικές ύλες μολυσμένες με βακτήρια τα οποία εξαπλώνονται μεταξύ των ενήλικων μελισσών μέσω τροφάλλαξης, οι τροφοί συνθέτουν τη μολυσμένη τροφή γόνου και τη μεταφέρουν στα κελιά, οι γόνοι καταναλώνουν θρεπτικές ύλες και παράλληλα εισάγουν στο πεπτικό τους σύστημα τα βακτήρια. Μόλις φθάσουν στον πεπτικό σωλήνα, τα βακτήρια αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται και να σχηματίζουν αποικίες, βιοσυνθέτοντας παράλληλα τοξίνες και πρωτεολυτικά ένζυμα για ν' αδρανοποιήσουν την ανοσολογική απόκριση και να διασπάσουν τους σπλαχνικούς ιστούς του γόνου. Ο μολυσμένος γόνος μπορεί να πεθάνει σε σύντομο διάστημα, ακόμα και μετά από 4 μέρες αν το μολυσματικό φορτίο είναι μεγάλο ή υπάρχει κάποια συν-νοσηρότητα. Και σε αυτήν την περίπτωση, η εξάπλωση εντός της αποικίας γίνεται από τις εργάτριες που προσπαθούν να καθαρίσουν τα μολυσμένα κελιά, αλλά στο μεταξύ μεταφέρουν βακτήρια σε γειτονικά κελιά και άλλες ενήλικες μέλισσες.

3.2.2.3 Συμπτώματα Ευρωπαϊκής σηψιγονίας

Στα συμπτώματα περιλαμβάνονται τα κάτωθι [40-43]:

1. Μεγάλος αριθμός ασφράγιστων κελιών.
2. Χαρακτηριστική οσμή σηπόμενου ψαριού.
3. Εμφάνιση σκουρόχρωμων στιγμάτων στη φωλιά του γόνου.
4. Νεκρός γόνος, με ζελατινώδη μορφολογία και λευκό χρώμα.
5. Σε πιο προχωρημένα στάδια, ο νεκρός γόνος εμφανίζεται αφυδατωμένος και σκουρόχρωμος, όπως περίπου στα τυπικά 'λέπια' της AFB.

3.2.2.4 Διάγνωση

Δεδομένης της ομοιότητάς τους στα συμπτώματα, οι AFB και EFB μπορούν να διακριθούν με διαγνωστικά κριτήρια τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων, τους χρόνους εξέλιξης της μόλυνσης, την παρουσία δευτερογενών μολύνσεων στον νεκρό γόνο και, ίσως το κυριότερο

εμπειρικό κριτήριο, την απουσία σφραγίσματος σε μολυσμένα κελιά [40-43]. Για μεγαλύτερη ακρίβεια και ταχύτερη διάγνωση αξιοποιούνται μέθοδοι όπως [40-43]:

- Οπτική μικροσκοπία. Η διάκριση είναι σχετικά εύκολη, καθώς βασίζεται στις μορφολογικές διαφορές των δύο βακτηρίων (βάκιλος ή νηματώδες στην AFB και κόκκος στην EFB) και στην παρουσία ή μη μεγάλου αριθμού ενδοσπορίων.
- Κυτταροκαλλιέργειες. Η ανάπτυξη των δύο μικροοργανισμών σε τρυβλία με στερεό θρεπτικό υλικό αποδίδει αποικίες με διακριτά μορφολογικά χαρακτηριστικά.
- Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR). Πρόκειται για την μέθοδο με την υψηλότερη ακρίβεια, αφού επιτρέπει την απευθείας σύγκριση και ταυτοποίηση τμημάτων DNA.
- Ανίχνευση αντιγόνου. Κάθε βακτήριο διαθέτει στο κυτταρικό του τοίχωμα διαφορετικούς τύπους πρωτεϊνών, οπότε η επίδραση κατάλληλου αντισώματος συζευγμένου με φθορίζουσα χρωστική μπορεί να δείξει αν ένα συγκεκριμένο αντιγόνο είναι παρόν στο δείγμα. Σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος, έχει ταυτοποιηθεί το παθογόνο.

3.3 Ασθένειες μελισσών οφειλόμενες σε μύκητες

Οι περισσότεροι μύκητες που καταλήγουν στο εσωτερικό μιας αποικίας μελισσών αδυνατούν ν' αναπτυχθούν, ωστόσο υπάρχουν είδη όπως τα *Nosema apis*, *Nosema ceranae*, *Ascophæra apis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans*, *Trichoderma lignorum*, *Mucor biemalis* και ορισμένα του γένους *Rhizopus* που όχι μόνο αναπτύσσονται αλλά εκδηλώνουν και παθογόνο δράση [18,45]. Μεταξύ αυτών, τις σοβαρότερες ασθένειες προκαλούν τα κάτωθι:

Πίνακας 5: Κυριότεροι παθογόνοι μύκητες και ασθένειες στις μέλισσες.

Παθογόνοι μύκητες	Ασθένεια
<i>Nosema apis</i> , <i>Nosema ceranae</i>	Νοζέμωση (nosemosis)

<i>Aspergillus niger, Aspergillus fumigatus, Aspergillus flavus, Aspergillus niger</i>	Ασπεργίλλωση ή νόσος του λιθώδη γόνου (stonebrood disease)
<i>Ascospaera apis</i>	Ασκοσφαίρωση, κιμωλίαση, ασβεστίαση ή νόσος του ασβεστώδη γόνου (chalkbrood disease)
Πηγές: [18,45,50]	

Η τυπική πορεία εξέλιξης μιας μυκητιακής ασθένειας στις μέλισσες περιλαμβάνει την εισαγωγή σπορίων στην αποικία, λχ μέσω επικονίασης σε μολυσμένα άνθη, την ανάπτυξή τους σε συνθήκες αυξημένης θερμοκρασίας και θρεπτικών υλών, την παραγωγή ενζύμων (πχ πρωτεολυτικών) ικανών να διασπούν προστατευτικές μεμβράνες και λοιπούς φραγμούς της φυσιολογίας του ξενιστή, την απομύζηση θρεπτικών υλών τόσο από την κυψέλη όσο και από τον ξενιστή, τον πολλαπλασιασμό (με αγενή ή εγγενή αναπαραγωγή) και την ανάπτυξη μηχανισμών προστασίας από το ανοσοποιητικό σύστημα των μελισσών [18,45,55]. Η ανάπτυξη ενός παθογόνου μύκητα στην αποικία ευνοείται από παράγοντες όπως οι υψηλές θερμοκρασίες, οι υψηλές τιμές υγρασίας, η περιβαλλοντική μόλυνση, η αποδυνάμωση των μελισσών λόγω δηλητηρίασης από παρασιτοκτόνα, η συν-νοσηρότητα με άλλα παθογόνα και, ακόμα, οι επαναλαμβανόμενες επιθέσεις από θηρευτές (άλλα έντομα και πτηνά) που αποδυναμώνουν την αποικία και διαταράσσουν τις φυσιολογικές της λειτουργίες [18,45,50].

3.3.1 Ασκοσφαίρωση

Η σκοσφαίρωση είναι ασθένεια του γόνου μελισσών και αναφέρεται επίσης ως κιμωλίαση, ασβεστίαση ή ασβεστώδης γόνος (chalkbrood disease). Προκαλείται από τον μύκητα *Ascospaera apis*, ο οποίος μολύνει τον γόνο της *Apis mellifera* στα πρώτα στάδια ανάπτυξης και του δημιουργεί μια αφυδατωμένη γυψόμορφη μορφολογία [18,45,46,50]. Παρότι θανατηφόρα για τον γόνο, η νόσος συνήθως δεν οδηγεί σε κατάρρευση της αποικίας εκτός αν υφίσταται συν-νοσηρότητα με κάποιο άλλο παθογόνο, το οποίο προσβάλλει τις ενήλικες μέλισσες [18,45,46,50]. Εξαιτίας της ασκοσφαίρωσης μειώνονται σημαντικά τόσο ο πληθυσμός, αφού πεθαίνει μεγάλο μέρος του μολυσμένου γόνου, όσο και η παραγωγή μελιού –συχνά έως και 37% ετησίως. Κατά την τελευταία δεκαετία παρατηρείται μια

ανοδική τάση στα κρούσματα *Ascospaera apis* παγκοσμίως, γεγονός που αποδίδεται στην κλιματική αλλαγή και στην αποσταθεροποίηση των οικοσυστημάτων, στην αποδυνάμωση του ανοσοποιητικού συστήματος μελισσών εξαιτίας της επεκτεινόμενης χρήσης παρασιτοκτόνων και, ακόμα, σε ανθρώπινες δραστηριότητες σχετιζόμενες με τις αυξημένες ανάγκες για τρόφιμα [18,45-47,50].

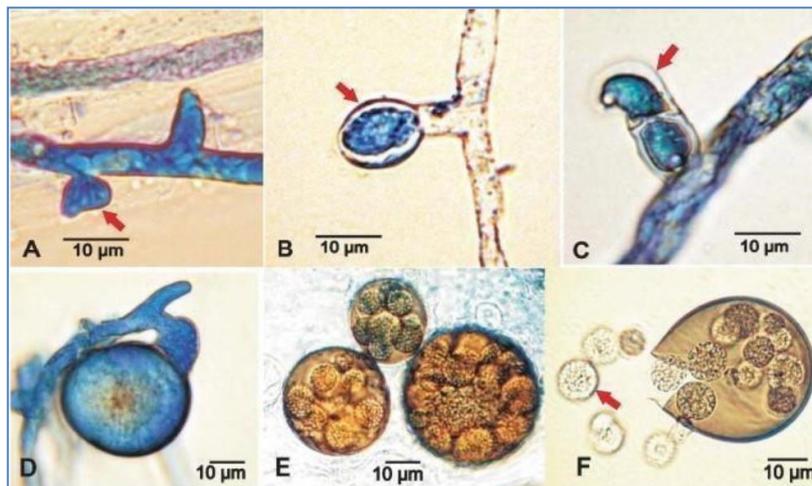
3.3.1.1 Μορφολογία και αναπαραγωγή του *Ascospaera apis*

Το είδος *Ascospaera apis* ανήκει στη συνομοταξία των ετεροθαλικών *Ascomycota*, όπου η αναπαραγωγή γίνεται κατά βάση μεταξύ μορφολογικά πανομοιότυπων απλοειδών κυττάρων [18,45,46,50]. Ο αριθμός ειδών – ξενιστών είναι περιορισμένος και έτσι ο μύκητας αναπτύσσει πολλές προσαρμογές εξειδικευμένες ως προς τους λιγιστούς του ξενιστές, προκειμένου να ενισχύει τη μεταδοτικότητά του. Επίσης, κάθε μύκητας δημιουργεί στις υφές του εξειδικευμένες αναπαραγωγικές δομές που βοηθούν στη διάκριση κατάλληλου ταιριού [18,45,46,50].

Η επιβίωση και η ανάπτυξη του *Ascospaera apis* εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα θρεπτικά συστατικά που λαμβάνει απομυζώντας τον γόνο μελιτοφόρων μελισσών [18,45-47]. Παρότι οι συνθήκες θερμοκρασίας και pH στο πεπτικό σύστημα του γόνου δεν ευνοούν, γενικώς, την ανάπτυξη σπορίων για τους περισσότερους μύκητες, το συγκεκριμένο είδος ευδοκιμεί σε αυτές. Σε εργαστηριακές καλλιέργειες, με χρήση στερεού θρεπτικού υλικού σε τρυβλία, ο μύκητας σχηματίζει υφές και αναπτύσσεται ως ένα λευκόχρωμο, πυκνό μικκύλιο [45,46,48]. Η μορφολογία και το μοτίβο ανάπτυξης είναι χαρακτηριστικά σχεδόν πανομοιότυπα σε κάθε περίπτωση, ωστόσο οι μικρές διαφοροποιήσεις που καταγράφονται έχουν διαγνωστική αξία καθώς επιτρέπουν τη διάκριση στελεχών. Ένα κοινό μορφολογικό χαρακτηριστικό όλων των ειδών του γένους *Ascospaera* είναι η δημιουργία μικρών σφαιρικών κυστών σπορίων [45,46,48]. Τόσο το σχήμα όσο και το μέγεθος των ασκοσπορίων (ascospores) διαφέρουν μεταξύ των ειδών *Ascospaera*, με ένα τυπικό άσκωμα να περιέχει πολλές ασκοκύστες και να εκτείνεται σε εύρος 47 – 140 μm [45,46,48]. Κάθε σφαιρικό συσσωμάτωμα σπορίων εκτείνεται σε διάμετρο 7 – 19 μm (Σχήμα 3).

Πίνακας 6: Συστηματική ταξινόμηση *Ascospaera apis*. Πηγή:

Τάξη	<i>Onygenales</i>
Οικογένεια	<i>Ascosphaeraceae</i>
Γένος	<i>Ascospaera</i>
Είδος	<i>Ascospaera apis</i>
Πηγή: [48]	



Σχήμα 3: Μικτή αποικία δύο ιδιόμορφων *Ascospaera apis* αντίθετου τύπου ζευγαρώματος (ARSEF 7405 και 7406) σε θρεπτικό υλικό YGPSA. Θερμοκρασία επώασης 35 °C και παροχή 6% CO₂. Πηγή: [46]

3.3.1.2 Επιδημιολογία της ασκοσφαιρίωσης

Η νόσος του ασβεστώδη γόνου παρατηρείται κυρίως την άνοιξη, όταν η ανάπτυξη του μύκητα ευνοείται από τον αυξημένο πληθυσμό ξενιστών (γόνου), τις υψηλότερες θερμοκρασίες και την εντονότερη δραστηριότητα εντός της αποικίας, όταν οι επικονιαστές μεταφέρουν στην κυψέλη γύρη και μαζί της μολυσματικό φορτίο σπορίων [18,45-47,50]. Η

εξάπλωση της μόλυνσης εντός της αποικίας εξαρτάται από παράγοντες όπως η μεταδοτικότητα του στελέχους, τον ρυθμό παραγωγής νέων σπορίων, την ανθεκτικότητα ως προς την ανοσολογική απόκριση των μελισσών και την αποτελεσματικότητα της διασποράς των σπορίων [18,45-47,50]. Επίσης, ο *Ascospheera apis* εξαπλώνεται ευκολότερα σε κυψέλες με σχετικά μικρό αριθμό ενήλικων μελισσών, καθώς έτσι δεν υπάρχουν αρκετές τροφοί να προστατεύουν και να φροντίζουν τον γόνο. Επίσης, υπάρχουν και ποικιλίες *Apis mellifera* με εγγενή ανθεκτικότητα προς τον μύκητα, οφειλόμενη είτε σε αυστηρότερες πρακτικές υγιεινής είτε σε γονίδια που σχετίζονται με αποτελεσματικότερη ανοσολογική απόκριση, ενώ σημαντικός είναι ο ρόλος των καιρικών συνθηκών: Χαμηλές θερμοκρασίες και έντονα καιρικά φαινόμενα εμποδίζουν τις μέλισσες να εκτελούν συχνές και μεγάλες διαδρομές εκτός κυψέλης, άρα μειώνονται οι πιθανότητες έκθεσης στα σπόρια, ενώ δυσχεραίνεται η ανάπτυξη των μυκήτων αφού απαιτούν υψηλές θερμοκρασίες (35 – 37 °C) [18-21,24]. Ενδεικτικά, ο γόνος της *Ascospheera mellifera ligustica* είναι λιγότερο ευάλωτος σε μόλυνση από τον μύκητα συγκριτικά με τους γόνους της *Ascospheera mellifera mellifera* και της *Ascospheera mellifera carnica*.

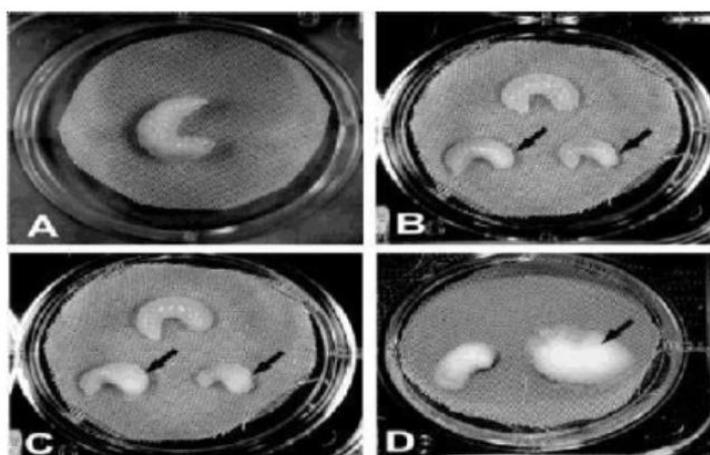
Η μέλισσα μολύνεται όταν ο μύκητας διαπερνά τις περιτροφικές μεμβράνες (peritrophic membranes) και τους μαλακούς ιστούς (cuticle) [45,46,50]. Αυτό προϋποθέτει όμως να επιβιώσει επαρκές μολυσματικό φορτίο σπορίων από τους φυσικούς μηχανισμούς μη-εξειδικευμένης άμυνας, όπως το κερί και τα στρώματα ακόρεστων λιπαρών οξέων του μαλακού ιστού, που έχουν αντιμυκητιακή δράση ευρέως φάσματος [45,51,52]. Μόλις διαπεράσει ο μύκητας τους φυσικούς φραγμούς, ξεκινά η ανοσολογική απόκριση και ταυτόχρονα παράγονται αντιμικροβιακά πεπτίδια (antimicrobial peptides, AMPs), ενώ πολλά σπόρια εξουδετερώνονται από μακροφάγα [45,51,52].

3.3.1.3 Εξέλιξη και συμπτώματα

Γενικώς, δύο είναι οι κύριες πορείες μόλυνσης με *Ascospheera apis*: Διάρρηξη των περιτροφικών μεμβρανών και μαλακών ιστών ή πρόσληψη σπορίων μέσω τροφής. Είναι πλέον γνωστό ότι η μόλυνση λαμβάνει χώρα κυρίως μέσω κατανάλωσης μολυσμένης τροφής από τον γόνο, όπου τα σπόρια εισέρχονται στο πεπτικό σύστημα και δημιουργούν αποικία [18,45-47,49,50]. Ο μύκητας μπορεί να μολύνει τον γόνο οποιασδήποτε κάστας μελισσών, από τροφούς και κηφήνες μέχρι της βασίλισσας, με την περισσότερο ευάλωτη φάση ζωής να είναι οι πρώτες 4 μέρες της προνύμφης. Οι ενήλικες μέλισσες δε μολύνονται,

ωστόσο μεταφέρουν τα σπόρια εντός της αποικίας, από άνθος σε άνθος ή ακόμα και σε ξένες κυψέλες, όταν οι επικονιαστές επιχειρούν να κλέψουν θρεπτικές ύλες [19]. Εντός της αποικίας, η τροφάλλαξη είναι η κύρια οδός μετάδοσης του παθογόνου μεταξύ των ασυμπτωματικών ενηλίκων, ενώ η ασθένεια κατατάσσεται ως κάθετης μετάδοσης (vertical transmission) αφού επηρεάζει αποκλειστικά τον γόνο [18,45-47,50]. Κύρια πηγή μετάδοσης στις επιτηρούμενες αποικίες είναι ο μολυσμένος εξοπλισμός, ενώ στ' αποθηκευμένα προϊόντα της κυψέλης (μέλι, κερι, κηρήθρα) τα σπόρια μπορούν να παραμείνουν σε λανθάνουσα κατάσταση –δηλαδή βιώσιμα- για τουλάχιστον 15 χρόνια, εάν δε γίνεται τακτικός εργαστηριακός έλεγχος σε δείγματα [18,45-47,50].

Τα σπόρια που καταναλώθηκαν από τον γόνο εγκαθίστανται στον πεπτικό σωλήνα και η ανάπτυξή τους ενεργοποιείται από χημικά σήματα, όπως το φυσιολογικά εκλυόμενο CO₂. Ο μολυσμένος γόνος παρουσιάζει προοδευτική μείωση στην πρόσληψη τροφής, καθώς ο αναπτυσσόμενος *Ascospaera apis* παράγει πρωτεολυτικά ένζυμα που διασπούν αρχικά τον επιθηλιακό ιστό του πεπτικού σωλήνα κι εντέλει το πεπτικό σύστημα, επεκτείνει τις υφές του προς όλες τις εσωτερικές κοιλότητες του γόνου και, στα τελικά στάδια της νόσου, το μικκύλιο διαρρηγνύει το οπίσθιο άκρο της προνύμφης (Σχήμα 4A-C) [45-47,49,50]. Ο θάνατος επέρχεται ως συνέπεια της πλήρους απορρύθμισης των μεταβολικών διεργασιών, της μηχανικής διάρρηξης του οργανισμού, της διακοπής στην κυκλοφορία της αιμολέμφου και του εκτεταμένου θανάτου ιστών λόγω τοξικών προϊόντων του μύκητα [45-47,49,50].



Σχήμα 4: Εξέλιξη μόλυνσης γόνου με *Ascospaera apis* σε εργαστηριακές συνθήκες. (A) Δείγμα ελέγχου (control) γόνου μέλισσας, (B) γόνος με μόλυνση 72 h όπου παρατηρείται σχηματισμός λευκόχρωμης μάζας μικκυλίου κάτω από τον μαλακό ιστό, (C) γόνος με μόλυνση

78 h όπου παρατηρείται τυπική κλινική εικόνα της μόλυνσης, (D) προχωρημένο στάδιο της ασθένειας μετά από 6 μέρες, όπου ο γόνος έχει πεθάνει και καλυφθεί με τη χαρακτηριστική ασβεστώδη εναπόθεση υλικού. **Πηγή: [45]**

Ο νεκρός γόνος εμφανίζει τη χαρακτηριστική μορφολογία ασβεστώδους υλικού (**Σχήμα 5**), με χρώμα λευκό ή μαύρο ανάλογα με το αν έχουν αναπτυχθεί πλήρως τα ασκοσπόρια [18,45-47,50]. Σημειωτέον ότι κάθε σκουρόχρωμη ‘μούμια’ (μια ορολογία που χρησιμοποιείται και στην ακαδημαϊκή βιβλιογραφία) περιέχει έως 110 ασκοσπόρια, ενώ στις αντίστοιχες λευκές το ανοιχτόχρωμο υλικό αποτελείται κυρίως από κυτταρικά υπολείμματα και τεμαχίδια υφών χωρίς ν’ ανιχνεύονται ασκοσώματα ή ασκοσπόρια [45].



Σχήμα 5: Νεκρός γόνος με χαρακτηριστική ασβεστώδη μορφολογία. Οι καφέ ‘μούμιες’ είναι το ενδιάμεσο στάδιο μεταξύ της λευκής (απουσία ασκοσωμάτων και ασκοσπορίων) και της μαύρης (πληθώρα ασκοσωμάτων και ασκοσπορίων). **Πηγή: [45]**

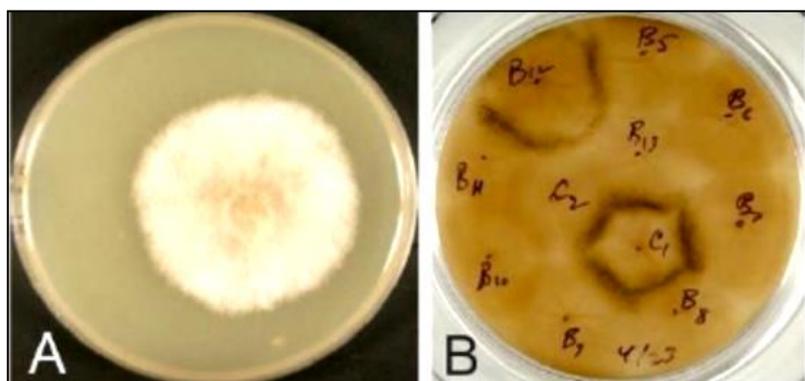
Ο μύκητας μολύνει πρωτίστως τον γόνο εργατριών και κηφήνων, δευτερευόντως της βασίλισσας. Στα συμπτώματα περιλαμβάνονται [18,45-47,49,50]:

- Ασθενικός γόνος με μικρές αναπτυσσόμενες δομές υφής στους μαλακούς τους ιστούς.
- Περιορισμένη κινητικότητα και σταδιακή μείωση της προσλαμβανόμενης τροφής.
- Σε προχωρημένα στάδια, ο νεκρός γόνος εμφανίζεται λευκόχρωμος, διογκωμένος, εύθραυστος και με σπογγωειδή χαρακτηριστικά.

- Λόγω της χαμηλής του συνοχής, μπορεί να καταλαμβάνει σαν λευκή άμορφη μάζα όλο το κάτω μέρος του κελιού.
- Αργότερα, η ανάπτυξη ασκοσπορίων και ασκοσωμάτων εμφανίζεται ως καφέ, σκούρα καφέ και μαύρη χρώση.

3.3.1.4 Διάγνωση της ασκοσφαίρωσης

Η εμπειρική διάγνωση της ασθένειας βασίζεται στον εντοπισμό νεκρού γόνου με λευκή, καφέ ή μαύρη ασβεστώδη εμφάνιση στις εισόδους της κυψέλης, στον πυθμένα του κυτίου ελεγχόμενης αποικίας, σε κελιά της φωλιάς γόνου ή σε σημεία πολύ κοντά στην αποικία, όπου οι ενήλικες μέλισσες απέρριψαν τον μολυσμένο γόνο [18,45,46,50]. Μέσω της οπτικής μικροσκοπίας επιτυγχάνεται υψηλότερη ακρίβεια, καθώς μπορούν να παρατηρηθούν συναθροίσεις σπορίων, υφές και σποροκύστες σε μικρά δείγματα ιστού από τον εξεταζόμενο γόνο [18,45,46,50]. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρούνται οι σποροκύστες (μέση διάμετρος 60 μm) που περιέχουν συσσωματώματα σπορίων (μέση διάμετρος 12 μm), που με τη σειρά τους συγκροτούνται από τα μεταδοτικά σπόρια (μέση διάμετρος 1.4 – 2.9 μm) [45]. Καθώς μπορεί να υπάρξει σύγχυση με τις βακτηριογενείς νόσους πετρώδους γόνου (stonebrood), είναι αναγκαίο μερικές φορές να γίνεται καλλιέργεια του παθογόνου *in vitro* με περιοδική θερμική κατεργασία προς εξολόθρευση άλλων παθογόνων, που δε μπορούν να προκαλέσουν τη χαρακτηριστική ασβεστώδη μορφολογία [45,50]. Η ανάπτυξη του μύκητα παρατηρείται συνήθως μεταξύ 2^{ης} – 3^{ης} μέρας (Σχήμα 6A), ενώ μετά τις 4 – 6 πρώτες μέρες επώασης εμφανίζονται σκουρόχρωμα στίγματα που αντιστοιχούν σε ασκοσώματα (Σχήμα 6B) [18,45,46,50].



Σχήμα 6: Καλλιέργειες *in vitro* του μύκητα *Ascospaera apis*. Πηγή: [45]

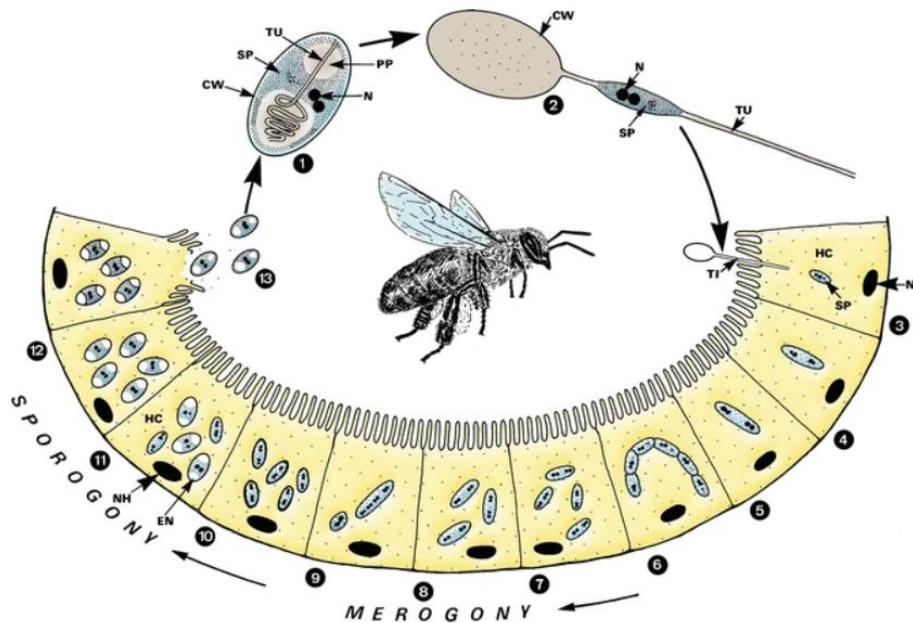
3.3.2 Νοζέμωση

Η νοζέμωση είναι ασθένεια που προκαλείται στις μελιτογόνες μέλισσες από είδη μυκήτων του γένους *Nosema*, με κυριότερα τα *Nosema apis* και *Nosema ceranae* [53,50,51-58]. Επίσης, το 2017 αναφέρθηκαν στην Ουγκάντα περιστατικά μόλυνσης αποικιών μελισσών με ένα νέο είδος, το *Nosema neumanii*, για τη μεταδοτικότητα και την παθογένεια του οποίου δεν υπάρχουν ακόμα επαρκείς πληροφορίες [53]. Μεταξύ των δύο σημαντικότερων ειδών, το *Nosema ceranae* είναι περισσότερο μεταδοτικό και ευθύνεται για την πλειοψηφία των κρουσμάτων νοζέμωσης, ενώ συχνά καταγράφονται περιπτώσεις ταυτόχρονης μόλυνσης και με τα δύο είδη [53,50,51-58]. Αμφότερα προκαλούν πληθώρα συμπτωμάτων, αρκετές φορές θανατηφόρων, γεγονός που τοποθετεί τη νοζέμωση στη λίστα των κυριότερων αιτιών θνησιμότητας στις μέλισσες παγκοσμίως.

3.3.2.1 Κύκλος ζωής και μετάδοση

Τα σπόρια *Nosema apis* και *Nosema ceranae* είναι παθογόνα που προσβάλλουν τον επιθηλιακό ιστό του πεπτικού σωλήνα όλων των τύπων μελισσών, από τις εργάτριες και τους κηφήνες μέχρι τη βασίλισσα [53,50,55,56]. Στο εξωτερικό περιβάλλον, οι εν λόγω μύκητες υφίστανται υπό τη μορφή σπορίων, τα οποία πρέπει να εισέλθουν στον πεπτικό σωλήνα μέσω πρόσληψης τροφής και νερού από τη μέλισσα. Στις ευνοϊκές θερμές συνθήκες του πεπτικού επιθηλίου τα σπόρια ακινητοποιούνται στην εξωκυττάρια μήτρα, ενυδατώνονται και αρχίζουν ν' απελευθερώνουν το σπορόπλασμα (υδατικό περιεχόμενο του σποριδίου με κυτταρικά οργανίδια και DNA) στο εσωτερικό του επιθηλιακού κυττάρου – στόχου [53,50,55,56]. Εντός του κυττάρου – ξενιστή, το σπορόπλασμα μετατρέπεται σε ένα μητρικό μικροσκοπικό κύτταρο αναφερόμενο ως μερόντιο (meront), που με τη σειρά του απορροφά θρεπτικές ύλες και εξελίσσεται πρώτα σε σπορόντιο (sporont) και ακολούθως σε σποροβλάστη. Οι σποροβλάστες μετατρέπονται σε ώριμους σπόρους που μπορούν να διαπερνούν την εξωκυττάρια μήτρα του ξενιστή [53,50,55,56]. Αμφότερα τα *Nosema apis* και *Nosema* μπορούν να μεταδίδονται από ένα επιθηλιακό κύτταρο σε άλλο. Στο τελικό στάδιο του κύκλου, μεγάλος αριθμός σπορίων εξέρχεται από τον πεπτικό σωλήνα μέσω των συχνών διαρροϊκών κενώσεων της μολυσμένης μέλισσας, οπότε μπορεί να μολύνει νέους

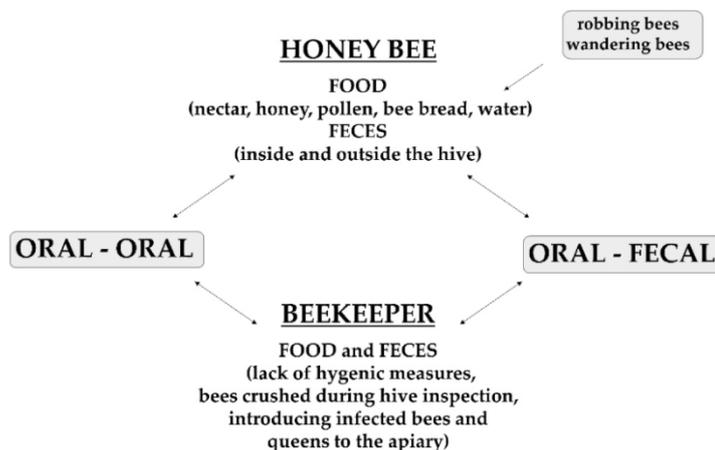
ξενιστές [53,50,55,56]. Τα *Nosema* καταστρέφουν το πεπτικό σύστημα και συνεπώς η μέλισσα δε μπορεί να καταβολήσει την προσλαμβανόμενη τροφή. Ως αποτέλεσμα αυτού, μεγάλες ποσότητες μη-χωνευμένων σακχάρων εντοπίζονται στα κόπρανα, καθιστώντας τα έτσι ελκυστικά για κατανάλωση από άλλες μέλισσες (μόλυνση μέσω της οδού στόματος – κοπράνων) [53].



Σχήμα 7: Απεικόνιση του τυπικού κύκλου ζωής για τα *Nosema apis* και *Nosema ceranae*.

Πηγή: [55]

Οι σπόροι *Nosema* μεταδίδονται και μέσω μελιού, γύρης και λοιπών εκκρίσεων της μέλισσας που παράγονται και ανταλλάσσονται μέσω τροφάλλαξης (μόλυνση δια της οδού στόματος – στόματος) (Σχήμα 8). Μάλιστα, ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι στην περίπτωση της τροφάλλαξης η μετάδοση οφείλεται κυρίως στις δραστηριότητες των κηφήνων [18]. Ο κύκλος ζωής του *Nosema apis* ολοκληρώνεται συνήθως εντός 5 ημερών, ενώ του *Nosema ceranae* είναι αρκετές φορές μικρότερος κατά 1-2 ημέρες [53,50,55,56].



Σχήμα 8: Βασικές οδοί μετάδοσης των μυκήτων *Nosema* στην *Apis mellifera*. Πηγή:[50]

Ενδιαφέρον έχει το γεγονός πως το *N. ceranae* μπορεί να μολύνει βλαστικά κύτταρα (basal cells) του πεπτικού επιθηλίου μελισσών ενώ το *N. apis* όχι, γεγονός που εξηγεί την ισχυρότερη παθογόνο δράση και θνησιμότητα μελισσών του πρώτου είδους [53]. Επιπλέον, μελέτες όπως εκείνη του Forsgren και των συνεργατών του έδειξαν ότι απαιτείται 4-5 φορές μικρότερο φορτίο σπορίων για μόλυνση μελισσών από *N. ceranae* συγκριτικά με *N. apis*, ενώ μόλις 85 σπορίδια του πρώτου επαρκούν για θνησιμότητα 50% των ξενιστών [53]. Ωστόσο, ορισμένες μελέτες έδειξαν σχεδόν αντίθετα αποτελέσματα, κάτι που αποδόθηκε αφενός στη γενετική ποικιλομορφία των εξεταζόμενων ποικιλιών μέλισσας και αφετέρου στις διαφορετικές καιρικές / θερμοκρασιακές συνθήκες, όπου τα δύο είδη μυκήτων χαρακτηρίζονται από διαφορετική ανθεκτικότητα [53]. Τέλος, η συν-νοσηρότητα των *Nosema* με άλλα παθογόνα όπως ο ιός κελιού μαύρης βασίλισσας (BQCV) οδηγεί σε σημαντικά υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας [53,50,55,56].

Η πλειοψηφία των κρουσμάτων *Nosema ceranae* εντοπίζεται σε θερμότερα κλίματα, όπως το μεσογειακό, ενώ του *Nosema apis* σε ψυχρότερα σαν το ηπειρωτικό και το μεταβατικό της κεντρικής και βόρειας Ευρώπης [53,50,55,56]. Σημαντικό είναι πως η κλιματική αλλαγή φαίνεται να ευνοεί την εξάπλωση του μεταδοτικότερου και πιο παθογόνου *N. ceranae* σχεδόν σε όλες τις περιοχές της Ευρώπης και της Αμερικής, εκτοπίζοντας το ηπιότερο *N. apis*, ενώ στην Ασία και δη στην Άπω Ανατολή παρατηρούνται συν-νοσηρότητες των δύο ειδών σε 35% των εξεταζόμενων δειγμάτων [53,56].

3.3.2.2 Εξέλιξη της νόσου και συμπτώματα

Νοζέμωση τύπου Α

Η νοζέμωση τύπου Α προκαλείται από το *Nosema apis* και εξαρτάται άμεσα από την εναλλαγή των εποχών. Πιο συγκεκριμένα, οι μέλισσες εργάτριες που συλλέγουν γύρη, νέκταρ και λοιπές θρεπτικές ύλες κλεμμένες, ακόμα και κλεμμένες από άλλες αποικίες, έρχονται σε επαφή με τα σπόρια και τα μεταφέρουν στην κυψέλη τους [53,50,54-56]. Κατά τους θερινούς μήνες, η ασθένεια εξελίσσεται αργά και συνήθως χωρίς εμφανή συμπτώματα. Ο γόνος και οι περισσότερες νεαρές ενήλικες μέλισσες δεν έχουν μολυνθεί ακόμα καθώς τα είδη *Nosema* δεν προσβάλλουν τις προνύμφες. Επιπλέον, η αργή εξέλιξη της νόσου οφείλεται και στην ευαισθησία των σπορίων *Nosema apis* σε υψηλές θερμοκρασίες [53,50,55,56]. Προς το φθινόπωρο, οι περισσότερες μέλισσες της αποικίας είναι πλήρως ανεπτυγμένες και ο αριθμός των μολυσμένων έχει αυξηθεί σημαντικά σε σχέση με το καλοκαίρι. Κατά τους χειμερινούς μήνες, σχεδόν όλη η αποικία έχει μολυνθεί και πλέον εκδηλώνονται εμφανή συμπτώματα με κυριότερα την αδυναμία, την εξαιρετικά μειωμένη μάζα σώματος και τις συχνές διαρροϊκές κενώσεις [53,50,55,56]. Εάν η αποικία επιζήσει μέχρι την άνοιξη, τότε συνήθως εκδηλώνεται ένα δεύτερο κύμα αναζωπύρωσης της νόσου που συχνά καταστρέφει την αποικία.

Σε ατομικό επίπεδο, η μόλυνση με *N. apis* επηρεάζει κατά κύριο λόγο τις μέλισσες εργάτριες. Τα επιθηλιακά κύτταρα του πεπτικού σωλήνα προσβάλλονται, η παραγωγή πεπτικών ενζύμων ελαττώνεται, οι υποφαρυγγικοί αδένες των μελισσών – τροφών (nurse bees) ατροφούν και ως εκ τούτου μειώνεται η παραγωγή βασιλικού πολτού [53,50,55,56]. Εξαιτίας της καταστροφής του πεπτικού επιθηλίου, η πέψη και απορρόφηση τροφής δυσχεραίνεται σε σημείο να επέρχεται ακόμα και θάνατος λόγω ασιτίας, ενώ όσες μέλισσες επιζούν έχουν καχεκτική εμφάνιση καθώς στερούνται των αναγκαίων θρεπτικών υλών για την ανάπτυξη του λιπώδους ιστού [53,50,55,56].

Το πιο χαρακτηριστικό σύμπτωμα της νοζέμωσης, τόσο τύπου Α όσο και C, είναι οι συχνές διαρροϊκές κενώσεις που, συνδυαστικά με την αδυναμία επιτέλεσης βασικών πρακτικών υγιεινής και καθαρισμού της αποικίας, συσσωρεύονται στο μπροστινό τμήμα της κυψέλης, στα πλαίσια και στην είσοδο [53,50,55,56]. Σε προχωρημένο στάδιο της μόλυνσης, οι ενήλικες μέλισσες έχουν διογκωμένο πεπτικό σύστημα και αδυνατούν να πετάξουν, οπότε μετακινούνται περπατώντας σε περιορισμένη έκταση της αποικίας και προς τις εισόδους, μολύνοντάς τες περαιτέρω.

Αξίζει ν' αναφερθεί πως η μόλυνση με *Nosema apis* προκαλεί ταχύτερη μετατροπή των τροφών σε φύλακες (guardians) και επικονιαστές (foragers) [53]. Συνολικά, ο αριθμός των μελισσών ελαττώνεται, η εαρινή ανάπτυξη της αποικίας αναστέλλεται και η παραγωγή μελιού μειώνεται κατακόρυφα, ενώ σε περιπτώσεις μικρών αποικιών ή μόλυνσης υψηλού επιπέδου η αποικία καταρρέει προς το τέλος χειμώνα έως τον πρώτο μήνα της άνοιξης [53,50,55,56]. Τέλος, ακόμα και μη – θανατηφόρες για τη συνολική αποικία μολύνσεις έχουν σχετιστεί με μειωμένη αποτελεσματικότητα κατά τη μεταφορά σπέρματος από τους κηφήνες προς την σπερματο-αποθήκη της βασίλισσας, όπως επίσης με σημαντικά μικρότερο αριθμό αυγών.

Πίνακας 7: Βασικά συμπτώματα της νοζέμωσης τύπου Α και C.

Είδος Nosema	Συμπτώματα	Χρονική περίοδος
<i>Nosema apis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Συχνή διάρροια. • Συσσώρευση ύλης κοπράνων σε κυψελίδες και εισόδους. • Νεκρές μέλισσες στις εισόδους. • Διογκωμένη κοιλιακή περιοχή. • Καχεκτικές μέλισσες που δεν πετούν. 	Πρώιμη άνοιξη.
<i>Nosema ceranae</i>	<ul style="list-style-type: none"> • ‘Ασυμπτωματικός δολοφόνος’ – 4 φάσεις μόλυνσης • Πολλές νεκρές μέλισσες, ακόμα και η βασίλισσα. • Πιθανότερη η κατάρρευση αποικίας. 	Φθινόπωρο ή πρώιμος χειμώνας.
Πηγές: [53,50,55,56]		

Νοζέμωση τύπου C

Η νοζέμωση τύπου C προκαλείται από το μεταδοτικότερο και ισχυρότερα παθογόνο *Nosema ceranae*, το οποίο προσβάλλει τόσο επιθηλιακά όσο και βλαστικά κύτταρα του πεπτικού σωλήνα, οδηγώντας σχεδόν πάντα σε πλήρη κατάρρευση το πεπτικό σύστημα [53,50,54-56]. Και Όπως συμβαίνει και στη νοζέμωση τύπου A, στις μέλισσες – τροφούς παρατηρείται ατροφία στους υποφαρυγγικούς αδένες και μειωμένη παραγωγή βασιλικού πολτού, ωστόσο έρχεται να προστεθεί στα συμπτώματα η ορμονική ανισορροπία: Μειωμένα επίπεδα βιτελλογενίνης (vitellogenin, Vg), ενός πρωτεϊνικού σηματοδοτικού μορίου σημαντικού για την αναπαραγωγή και την κοινωνική δομή των μελισσών, όπως επίσης αυξημένα επίπεδα ‘νεανικής’ ορμόνης (juvenile hormone, JH), ενός ρυθμιστή της πορείας βιτελλογένεσης, επιδρούν εξαιρετικά αρνητικά στην εκτροφή του γόνου [50,54,56]. Συγκεκριμένα, απορρύθμιση του ορμονικού μηχανισμού Vg-JH προκαλεί αλλαγή των μοτίβων συμπεριφοράς στις μολυσμένες τροφούς, οι οποίες μετατρέπονται σε επικονιαστές πολύ νωρίτερα συγκριτικά με τις αντίστοιχες μη-μολυσμένες και έτσι απομένουν ελάχιστες τροφοί για τη φροντίδα του γόνου [50,54,56]. Επίσης, η μειωμένη έκκριση Vg επάγει οξειδωτικό στρες και ακολούθως έντονη βουλιμία (ενεργειακό στρες), εξαιτίας της οποίας οι μολυσμένες τροφοί επιδίδονται πολύ συχνότερα σε τροφάλλαξη και έτσι εξαπλώνουν περισσότερο το πρωτόζωο. Στη νοζέμωση τύπου C οι περισσότερες μέλισσες πεθαίνουν εκτός της αποικίας, σε αναζήτηση θρεπτικών υλών και κάνοντας επικονίαση, πιθανότατα λόγω εξάντλησης, αδυναμίας καταβολισμού της προσλαμβανόμενης τροφής, κατάρρευσης του μεταβολισμού τους και απώλεια μνήμης [50,54,56]. Σε εργαστηριακές δοκιμές, η διάρκεια ζωής των μολυσμένων μελισσών εκτείνονταν το πολύ έως 8 ημέρες (κατόπιν μόλυνσης), ανεξάρτητα από την ποσότητα σποριδίων που τις μόλυναν. Επίσης, στις περισσότερες εργαστηριακές μελέτες παρατηρήθηκε ακόμα και ανοσοκαταστολή.

Η νοζέμωση τύπου C αναφέρεται και ως ‘στεγνή νοζέμωση’ καθώς δεν παρατηρούνται εξίσου συχνές διαρροϊκές κενώσεις [53,50,54-56]. Καθώς δεν υπάρχουν εμφανή συμπτώματα χαρακτηριστικά του τύπου C, η έγκαιρη ανίχνευσή της από τους μελισσοουργούς είναι εξαιρετικά δύσκολη. Η εξέλιξη της νόσου ολοκληρώνεται σε 4 στάδια [53,50,54-56]:

- Η πρώτη φάση (άνοιξη - πρώτος φθινοπωρινός μήνας) είναι εντελώς ασυμπτωματική και ο συνολικός αριθμός σποριδίων στην αποικία σπάνια υπερβαίνει τα 106.

- Στη δεύτερη φάση (φθινόπωρο και χειμώνας) αρχίζουν να παρατηρούνται νεκρές μέλισσες κοντά στην αποικία και λιγότερες εντός και το ποσοστό μολυσμένων ενήλικων μελισσών είναι $\geq 65\%$, αλλά η βασίλισσα εξακολουθεί να παράγει αυγά προς συντήρηση του πληθυσμού.
- Στην τρίτη φάση (επόμενη άνοιξη) παρατηρείται η λεγόμενη ‘ψευδής ανάνηψη’: Η αποικία φαίνεται αναζωογονημένη και διαθέτει μεγάλο αριθμό μελισσών, σχεδόν όλα τα πλαίσια κελιών γόνου έχουν καλυφθεί, η βασίλισσα δεν εμφανίζει κάποιο σύμπτωμα και ο ήδη μικρός αριθμός νεκρών μελισσών ελαττώνεται. Ωστόσο, ένα προειδοποιητικό σημάδι της ‘ψευδούς ανάνηψης’ είναι οι αποπροσανατολισμένες κινήσεις μερικών μελισσών και η σημαντικά μειωμένη τάση σχηματισμού σμήνους, ιδίως κοντά στα κελιά γόνου από μέλισσες τροφούς. Το ποσοστό των μολυσμένων μελισσών είναι $< 65\%$ καθώς υπάρχουν ακόμα πολλές νεαρές ενήλικες που εξήλθαν των κελιών γόνου πρόσφατα, άρα δεν πρόλαβαν να μολυνθούν ακόμα.
- Στην τέταρτη και επικινδυνότερη φάση (προχωρημένο φθινόπωρο – αρχές τελευταίου χειμώνα), το ποσοστό μολυσμένων μελισσών υπερβαίνει κατά πολύ το 65% και ο αριθμός νεκρών μελισσών εντός και κυρίως εκτός αποικίας αυξάνεται δραματικά. Στην καλύτερη περίπτωση, από την αρχική αποικία επιζούν η βασίλισσα και μερικοί γόνοι. Η παθογόνος δράση του *Nosema ceranae* ενισχύεται σημαντικά όταν οι μολυσμένες μέλισσες εκτίθενται επιπλέον σε νικοτινοειδή, ενώ συχνές είναι οι περιπτώσεις συν-νοσηρότητας του πρωτόζωου με τον ιό κελιού μαύρης βασίλισσας (BQCV).

3.3.2.3 Διαγνωστικές μέθοδοι

Δεδομένης της διαφορετικής συμπτωματολογίας για τους δύο τύπους νοζέμωσης, Α και C, όπως επίσης και της εκτενούς ασυμπτωματικής περιόδου του επικινδυνότερου τύπου, είναι ζωτικής σημασίας τόσο για τους μελισσοουργούς όσο και για τους ερευνητές η διάκριση των δύο ειδών και η εκτίμηση του επιπέδου μόλυνσης με τη βοήθεια διαγνωστικών μεθόδων. Οι σημαντικότερες διαγνωστικές μέθοδοι παρατίθενται στον **Πίνακα 8**.

Πίνακας 8: Μέθοδοι για τη διάκριση ειδών *Nosema* και τον ποσοτικό προσδιορισμό σπορίων.

Μέθοδος	Τύπος μεθόδου	Απαιτούμενος εξοπλισμός	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Οπτική μικροσκοπία (light microscopy)	Ποσοτική	Οπτικό μικροσκόπιο, εξοπλισμός προετοιμασίας δείγματος	Απλή, γρήγορη, χαμηλού κόστους, μετρά συνολικά σπόρια	Δεν προσδιορίζει είδος
Ηλεκτρονική μικροσκοπία (electron microscopy)	Ποιοτική	Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, αντιδραστήρια κατεργασίας δείγματος	Διάκριση ειδών	Υψηλό κόστος, χρονοβόρα
Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)	Ποιοτική	Θερμικοί κυκλοποιητές, πηγή UV, αντιδραστήρια	Διάκριση ειδών, υψηλή ευαισθησία	Υψηλό κόστος, απαιτεί ακρίβεια
Ανοσοδιάχυση (immunodiffusion)	Ποιοτική	Πολλαπλά τρυβλία, μηχανήμα εξέτασης τρυβλίων, ELISA kit και αντιδραστήρια	Απλή, ταχεία και χαμηλού κόστους	Ανιχνεύει μόνο <i>Nosema ceranae</i>

			Διακρίνει νεκρά από ζωντανά	Δε
Μικροσκοπία φθορισμού (fluorescence)	Ποιοτικ ή	Μικροσκόπιο φθορισμού	κύτταρα, μετρά συνολικά σπόρια	προσδιορίζει είδος

Πηγές: [53,50,54-56]

Επίσης, σημαντικές εμπειρικές ενδείξεις αποτελούν τα εξής [53,50,40]:

- Ανεξήγητα αυξημένες απώλειες κατά τους χειμερινούς μήνες είναι εικόνα υποκλινικής μορφής.
- Επίμονη διάρροια και ελάττωση του πληθυσμού κατά την άνοιξη είναι εικόνα οξείας μορφής.

3.4 Βαρρόωση

Ως βαρρόωση ή βαρροϊκή ακαρίωση αναφέρεται βιβλιογραφικά η ασθένεια που προκαλείται στη μελιτογόνο μέλισσα από το εξω-παρασιτικό ακάρι *Varroa destructor* και θεωρείται ως η μεγαλύτερη απειλή παγκοσμίως για τη μελισσοκομία [29,60,61,50,63]. Ενδεικτικά, στις ΗΠΑ οι απώλειες εμπορικά αξιοποιούμενων αποικιών *Apis mellifera* λόγω της συγκεκριμένης ασθένειας υπολογίζονταν σε 40.5% για την περίοδο 2015 – 2016 και 45.5% για την 2020 – 2021, ενώ οι αντίστοιχες απώλειες που καταγράφηκαν στην Ευρωπαϊκή Ένωση ήταν 20.9% για την περίοδο 2016 – 2017 και 16.7% για την 2018 – 2019 [29]. Στην περίπτωση της Ουρουγουάης, η μέση χειμερινή απώλεια αποικιών για την περίοδο 2013 – 2014 ήταν 11.25% λόγω βαρρόωσης, με ανάλογα δεδομένα να συλλέγονται κι από άλλες γειτονικές χώρες της Λατινικής Αμερικής [29]. Δεδομένης της αρνητικής επίδρασης του *Varroa destructor* στον παγκόσμιο πληθυσμό μελισσών, αναπτύχθηκε πληθώρα μεθόδων πρόληψης και αντιμετώπισης, όπως επίσης νέα συστήματα και πρακτικές διαχείρισης, εντούτοις η πλήρης εξάλειψη του παθογόνου ακάρεου από μολυσμένες αποικίες παραμένει αδύνατη και συνεπώς οι προσπάθειες αφορούν κυρίως τη δραστική μείωση του μολυσματικού φορτίου.

Η σοβαρότητα των συμπτωμάτων βαρρόωσης εξαρτάται από την έκταση της μόλυνσης και συχνά ακολουθεί τη σταθερή αυξητική πορεία του πληθυσμού ακάρεων κατά τους εαρινούς μήνες έως το μεσοκαλοκαίρο [29,60,61,50,63]. Προς τον Ιούλιο, οι μολυσμένες αποικίες χαρακτηρίζονται από υψηλούς λόγους γόνου προς ενήλικες μέλισσες (high brood-to-adult bee ratio) [29,50,60,61,63], ενώ καταγράφονται υψηλές συγκεντρώσεις των ενζύμων οξειδάση της φαινόλης (phenol oxidase, POX) και οξειδάση της γλυκόζης (glucose oxidase, GOX) στην πλειοψηφία των ενήλικων μελισσών [29]. Πρόκειται για δύο ένζυμα με σημαντικούς ρόλους στην ανοσολογική απόκριση της *Apis mellifera* και οι υψηλές τους συγκεντρώσεις σε μολυσμένες αποικίες αποδίδονται τόσο στα εξω-παρασιτικά ακάρεα όσο και σε παθογόνα (λχιούς) τα οποία εισάγουν στην αποικία ως φορείς [29,50,60-63]. Έχει παρατηρηθεί πως οι συγκεντρώσεις GOX και POX ελαττώνονται έως τα τέλη Αυγούστου στις μέλισσες, γεγονός που σχετίστηκε με μειωμένες συγκεντρώσεις άλλων παθογόνων στην αποικία για τα οποία είναι φορέας το *Varroa destructor* [18]. Εντούτοις, είναι μια απατηλά ενθαρρυντική παρατήρηση, καθώς η μείωση των επιπέδων άλλων παθογόνων δεν αποτελεί ένδειξη αντιμετώπισης της πολλαπλής μόλυνσης αλλά σχετίζεται με τον φυσιολογικό κύκλο του ακάρεου

και την ικανότητά του να δρα ως φορέας τη συγκεκριμένη περίοδο. Κατά τους φθινοπωρινούς μήνες, το μέσο βάρος των μελισσών - εργατριών είναι σημαντικά μικρότερο σε μολυσμένες αποικίες συγκριτικά με τις καθαρές, ανεξάρτητα από την έκταση της μόλυνσης [29,50,60,61,63].

Το κρίσιμο όριο μόλυνσης μιας αποικίας με *Varroa destructor* συνήθως υπερβαίνεται κατά τους χειμερινούς μήνες και η αποικία οδηγείται σε κατάρρευση, χωρίς ωστόσο να είναι απόλυτο κάτι τέτοιο αφού ο πληθυσμός – και καθ' επέκταση η παθογόνος δράση – των εξω-παρασιτικών ακάρεων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως οι καιρικές συνθήκες, η επάρκεια σε θρεπτικές ύλες, τα γενετικά χαρακτηριστικά και οι μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις, όπως επίσης η έγκαιρη ή μη εφαρμογή μεθόδων αντιμετώπισης [29,50,60,61,63]. Λόγου χάριν, η ανάπτυξη ενός πληθυσμού ακάρεων *Varroa* είναι συνήθως χαμηλότερη όταν το ετήσιο επίπεδο βροχοπτώσεων είναι χαμηλότερο του μέσου όρου για δεδομένη περιοχή [29]. Επιπλέον, αποικίες με μεγαλύτερη παραγωγή μελιού και περισσότερους γόνους αποτελούν ευνοϊκό περιβάλλον για τον πολλαπλασιασμό *Varroa*, καθώς έτσι εξασφαλίζονται περισσότερες θρεπτικές ύλες και φορείς. Ενδιαφέρον έχει πως οι πρακτικές υγιεινής των μελισσών, ένας φαινότυπος τον οποίο προσπαθούν να ευνοούν οι μελισσοκόμοι σε ελεγχόμενες αποικίες, συχνά αποδεικνύονται ανεπαρκείς για τον περιορισμό της μόλυνσης με *Varroa* εν αντιθέσει με άλλα παθογόνα, ακόμα και διαφορετικά είδη ακάρεων [29].

Όπως αναφέρθηκε στην παρούσα παράγραφο και αναλύθηκε εκτενώς στην , το *Varroa destructor* δρα ως φορέας ποικιλίας παθογόνων και δη ιών όπως ο ιός παραμορφωμένων φτερών (DWV), ο ιός οξείας παράλυσης μελισσών (ABPV), ο ισραηλινός ιός οξείας παράλυσης, ο ιός μελισσών του Κασμίρ (KBV) και ο ιός Sacbrood (SBV) [29,60,62]. Ο DWV εξελίχθηκε παράλληλα με την *Apis mellifera* και ανιχνεύεται σε αποικίες παγκοσμίως χωρίς να υφίσταται συν-νοσηρότητα με τ' ακάρεα *Varroa*, ωστόσο η εξάπλωσή τους σε μια περιοχή διευκολύνει σημαντικά τη μετάδοση του DWV τόσο σε ενήλικες μέλισσες όσο και στον γόνο [29,63]. Ανάλογα με τον ιό, τα *Varroa* μπορούν να δρουν ως βιολογικοί φορείς (ο ιός πολλαπλασιάζεται στους οργανισμούς τους), ως φυσικοί φορείς (φέρουν ιικά σωματίδια χωρίς να πολλαπλασιάζεται ο ιός) ή συνδυασμό των παραπάνω [60,62]. Το διαρκώς μεταβαλλόμενο τοπίο στους ιούς μελισσών και η σύνθετη αλληλεπίδραση των οδών μετάδοσης με τον κύκλο ζωής του *Varroa destructor* συνιστούν προκλήσεις τόσο για τις ερευνητικές προσπάθειες όσο και για την υγειονομική διαχείριση αποικιών.

3.4.1 Συμπτωματολογία της βαρρόωσης

Η παρασιτική δράση του *Varroa* προκαλεί διάφορα προβλήματα τόσο σε ατομικό επίπεδο όσο και σε ολόκληρη την αποικία. Αρχής γενομένης από τους τραυματισμούς και τις δευτερογενείς μολύνσεις, οι ανοιχτές πληγές που προκαλούν στις μέλισσες στοματικές κοιλότητες των εξω-παρασίτων επουλώνονται μερικώς αφήνοντας ουλώδη ιστό, ενώ αυξάνονται σημαντικά οι πιθανότητες μόλυνσης από βακτήρια που φυσιολογικά πολλαπλασιάζονται εντός της αποικίας χωρίς να μολύνουν τις υγιείς μέλισσες [29,50,60,61,63]. Επίσης, η διαρκής απομύζηση των μελισσών προκαλεί χαμηλές συγκεντρώσεις ερυθροκυττάρων στο αίμα τους και περιορισμένη παραγωγή του ενζύμου POX, ενώ οι συνολικές τους μεταβολικές διεργασίες (λχ οξείδωση / σύνθεση λιπαρών οξέων, γλυκόλυση / γλυκονεογένεση) παρουσιάζουν αυξημένη λειτουργία ως αποτέλεσμα της ανοσολογικής τους απόκρισης αλλά και της κατανάλωσης λιπώδους ιστού από τα παράσιτα [29,60,61].

Σε μακροσκοπικό επίπεδο, η εξέλιξη της νόσου είναι σχετικά βραδεία κι έτσι αργούν να εκδηλωθούν εμφανή συμπτώματα, αλλά μόλις εξαπλωθεί επαρκώς η μόλυνση στον οργανισμό της μέλισσας και στην ευρύτερη αποικία παρατηρούνται τα εξής [29,50,60,61,63]:

- Οι δραστηριότητες του μελισσιού περιορίζονται τόσο σε ένταση (ασθενικές μέλισσες) όσο και σε έκταση (περιορισμένα δρομολόγια για επικοινωνία).
- Ο γόνος παρουσιάζει μορφολογία σηψιγονίας και είναι περισσότερο διάσπαρτος.
- Τα σφραγίσματα πολλών κελιών (cells) εμφανίζουν σκοτεινότερο χρωματισμό, είναι βυθισμένα και συχνά έχουν δομικές ασυνέχειες όπως σχισμές και ανοίγματα.
- Στα κελιά με τις περισσότερες φθορές εντοπίζονται νεκρές προνύμφες ή ακόμα και νύμφες στο τελευταίο στάδιο ανάπτυξης, ενώ δίπλα τους ανιχνεύονται και νεκρά ή ζωντανά ακάρεα *Varroa*.
- Οι μολυσμένες μέλισσες έχουν σημαντικά μικρότερο βάρος από τις υγιείς, ενώ οι κινήσεις τους είναι αποπροσανατολισμένες.
- Σε μολυσμένες αποικίες είναι μικρότερες οι πιθανότητες απόκτησης νέας βασίλισσας.

Σε όλα τα παραπάνω έρχονται να προστεθούν και τα συμπτώματα λοίμωξης από ιούς και λοιπά παθογόνα, τα οποία εισάγουν στην αποικία ως βιολογικοί ή φυσικοί φορείς τ' ακάρεα.

3.4.2 Ταξινόμηση και περιγραφή του *Varroa destructor*

Το ενήλικο θηλυκό ακάρι έχει κόκκινο – καφέ χρώμα και το αντίστοιχο αρσενικό είναι άσπρο, ενώ αμφότερα εμφανίζουν πεπλατυσμένη ωοειδή μορφολογία με μήκος 1–1.8 mm και πλάτος 1.5–2 mm [29,50,60,61,64]. Διαθέτουν 8 πόδια και στερούνται οφθαλμών, τα δε γεωμετρικά χαρακτηριστικά του σώματός τους επιτρέπουν την εύκολη διείσδυση στην κοιλιακή περιοχή ενήλικων μελισσών.

Πίνακας 9: Συστηματική κατάταξη *Varroa destructor*

Τάξη	<i>Mesostigmata</i>
Οικογένεια	<i>Varroidae</i>
Γένος	<i>Varroa</i>
Είδος	<i>Varroa destructor</i>
Πηγή: [64]	

Τα είδη και υποείδη μελισσών – ξενιστών μπορούν να βοηθήσουν στη διάκριση των ειδών ακάρεων γένους *Varroa* [29,63]: Τόσο το *Varroa destructor* όσο και το *Varroa jacobsoni* παρασιτούν στην *Apis cerana*, την ασιατική μελιτογόνο μέλισσα, αλλά το δεύτερο δεν προσβάλλει την *Apis mellifera* (δυτική μελιτογόνος μέλισσα). Μάλιστα, μέχρι το 2000 τα δύο είδη ακάρεων ταυτίζονταν, καθώς παρουσιάζουν 99.7% ομοιότητα στα γονιδιώματά τους. Μακράν υψηλότερη μεταδοτικότητα και παθογόνο δράση έχει το *Varroa destructor* [29].

3.4.3 Κύκλος ζωής του *Varroa destructor*

3.4.3.1 Φάση αναπαραγωγής

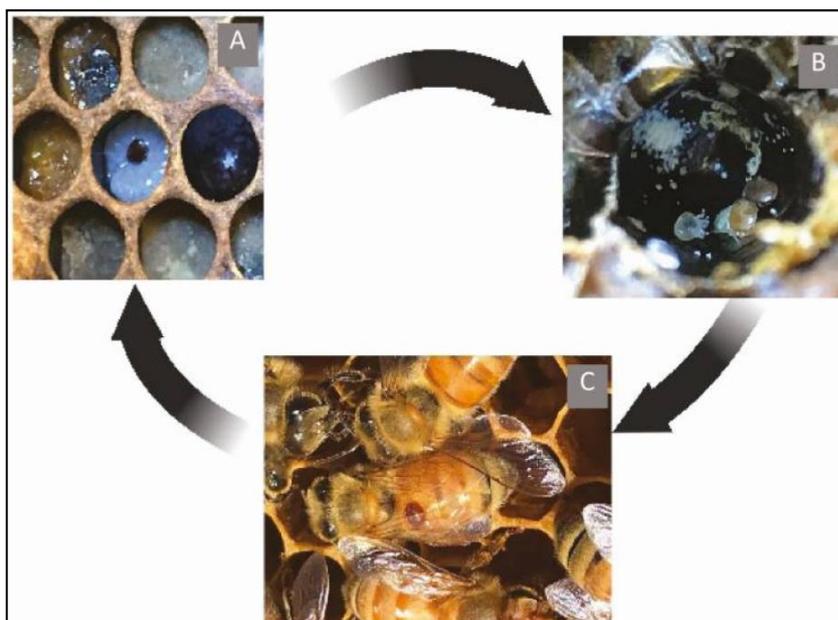
Ο κύκλος ζωής του *Varroa destructor* διακρίνεται στη φάση αναπαραγωγής και στη φάση διασποράς [29,50,60,61,63]. Ξεκινώντας με την αναπαραγωγή, ένα ενήλικο θηλυκό ακάρι -που αναφέρεται βιβλιογραφικά ως ιδρύτρια- εισβάλλει στο κελί μιας προνύμφης μέλισσας πέμπτου σταδίου (**Σχήμα**). Ακολούθως, η ιδρύτρια εισχωρεί στην τροφή του γόνου, που βρίσκεται στο

κατώτερο τμήμα του κελιού, κι παραμένει κρυμμένη για 6 – 20 h ανάλογα με το αν είναι κελί εργάτριας ή κηφήνα [29,50,60,61,63]. Το κελί σφραγίζεται από ενήλικες μέλισσες και ξεκινά η ανάπτυξη της προνύμφης, αλλά μόλις φθάσει στο στάδιο νύμφης εκκρίνει χημικά σήματα τα οποία εκκινούν την παραγωγή αυγών από την ιδρύτρια. Συνολικά εκκολάπτονται ένα αρσενικό και περισσότερα θηλυκά ακάρεα, τα οποία πολλαπλασιάζονται και αναπτύσσονται τρεφόμενα τόσο από θρεπτικές ύλες του κελιού όσο και από τον ίδιο τον γόνο [29,50,60,61,63].

Τα *Varroa destructor* πολλαπλασιάζονται με προαιρετικά αρρενοτόκο παρθενογένεση [29,50,60,61,63]. Λόγω του απλοειδούς – διπλοειδούς συστήματος καθορισμού γενετικού φύλου, το πρώτο αυγό της ιδρύτριας (περίπου 60 h μετά το σφράγισμα του κελιού) δεν είναι γονιμοποιημένο (προκύπτουν μόνο από απλοειδές κύτταρο) και έτσι εξελίσσεται σε αρσενικό. Τα υπόλοιπα αυγά, που απελευθερώνονται κάθε 24–36 h, είναι γονιμοποιημένα (προκύπτουν από διπλοειδή κύτταρα) και συνεπώς αναπτύσσονται προς θηλυκά [29,50,60,61,63]. Μία ιδρύτρια παράγει συνήθως 4 – 5 απογόνους σε κελί εργάτριας και 5 ή περισσότερους σε κελί κηφήνα, ενώ σε κάθε περίπτωση διαμορφώνει έναν μικρό χώρο στο κατώτατο τοίχωμα του κελιού όπου τρέφονται και αναπτύσσονται οι απόγονοί της. Με βάση τις ποσότητες εκκριμάτων και ύλης κοπράνων εκτιμάται πως τ' ακάρεα καταναλώνουν 1 μl υγρών ξενιστή ανά ημέρα [29]. Η ανάπτυξη των ακάρεων ολοκληρώνεται εντός 5-6 ημερών σε κελιά εργατριών και 7-8 ημερών σε κελιά κηφήνων. Αφού ωριμάσουν, τα *Varroa* ζευγαρώνουν μεταξύ τους πάνω στις αποθέσεις ύλης κοπράνων κι έτσι εξασφαλίζεται η παραγωγή γονιμοποιημένων αυγών για μελλοντικές ιδρύτριες [29,50,60,61,63]. Μάλιστα, θεωρείται πως τα περισσότερο ανεπτυγμένα θηλυκά ζευγαρώνουν πρώτα και συνήθως γίνονται οι επόμενες ιδρύτριες, ενώ εκείνα που εισβάλουν μεν σε κελιά αλλά παράγουν μόνο αρσενικούς απογόνους είναι συχνά τα πιο μικρόσωμα. Ενδιαφέρον έχει πως 17% των μολυσμένων κελιών εργατριών και 23% των αντίστοιχων για τους κηφήνες δεν περιέχουν καθόλου ώριμα ακάρεα, γεγονός που υποδεικνύει ότι δεν είναι πάντα επιτυχές το ζευγάρωμα μεταξύ αρσενικού και θηλυκών [29]. Σε ένα κελί εισβάλει συνήθως μία μόνο ιδρύτρια, ωστόσο έχει παρατηρηθεί και η ταυτόχρονη εισβολή δύο ή περισσότερων που όμως δε συγκρούονται μεταξύ τους, απεναντίας ακολουθούν τον τυπικό κύκλο ζωής και αποδίδουν συνδυαστικά μεγάλο αριθμό απογόνων με περισσότερες πιθανότητες για γονιμοποιημένα αυγά [29].

3.4.3.2 Φάση διασποράς

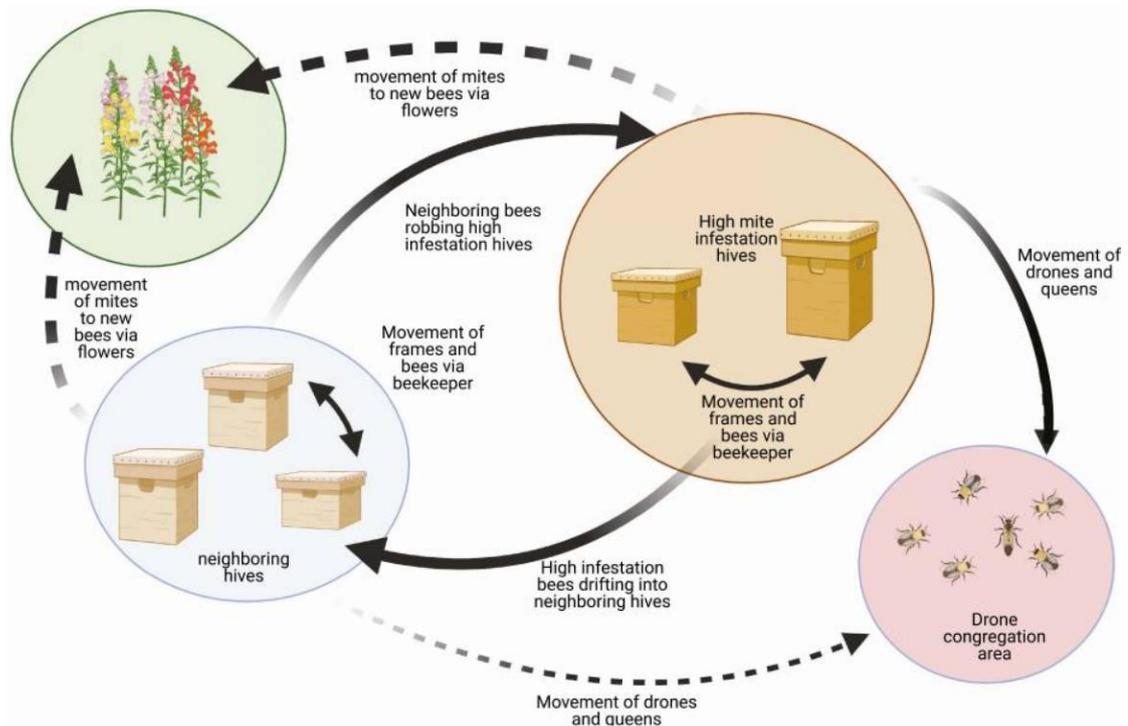
Η δεύτερη φάση είναι εκείνη της διασποράς, όπου η προνύμφη κατάφερε να επιβιώσει από τον αναπτυσσόμενο πληθυσμό ακάρεων και να εξελιχθεί σε ενήλικη μέλισσα, οπότε εγκαταλείπει το κελί και μαζί της εξαπλώνονται τα *Varroa* στην υπόλοιπη αποικία [29,50,60,61,63]. Εδώ αξίζει να σημειωθεί πως η ορολογία ‘φάση διασποράς’ επικράτησε έναντι της ‘φάσης φορέα’ (phoretic phase), καθώς στη δεύτερη περίπτωση το παράσιτο αξιοποιεί τον ξενιστή μόνο ως φορέα, ενώ τα *Varroa* όχι μόνο μεταφέρονται από τις ενήλικες μέλισσες στα υπόλοιπα κελιά αλλά επιπλέον τρέφονται από αυτές [29]. Η φάση διασποράς ξεκινά με την ιδρύτρια και τους θηλυκούς απογόνους της να προσκολλώνται στην αναδυόμενη μέλισσα (Σχήμα 9), ενώ το αρσενικό και τα υπανάπτυκτα θηλυκά μένουν πίσω στο κελί κι αργότερα πεθαίνουν από ασιτία [29,50,60,61,63]. Έχοντας εγκαταλείψει το αρχικό κελί, σχεδόν κάθε θηλυκό ακάρι μεταπηδά σε μέλισσες νοσηλεύτριες, ενώ σε σπάνιες περιπτώσεις εντοπίζονται μερικά να περπατούν στην κυψέλη.



Σχήμα 9: Απλοποιημένη απεικόνιση αναπαραγωγικού κύκλου *Varroa destructor*. (A) Εισβολή της ιδρύτριας στο κελί και εισχώρηση στην τροφή γόνου. (B) Εκκόλαψη ενός αρσενικού και περισσότερων θηλυκών ακάρεων που αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται τρεφόμενα από τον γόνο. (C) Αποχώρηση των ακάρεων από το κελί μαζί με την ενήλικη μέλισσα. Πηγή: [29]

Το πιο πιθανό σημείο να εντοπιστούν ακάρεα σε μια ενήλικη μέλισσα είναι ανάμεσα στους στερνίτες της κοιλιακής περιοχής [29]. Η προτίμηση των παρασίτων να μεταπηδούν σε νοσηλεύτριες αποδίδεται στην εξελικτική τους προσαρμογή, καθώς οι συγκεκριμένες μέλισσες παρέχουν για ευνόητους λόγους αυξημένη πρόσβαση σε κελιά γόνου.

Κατά τη φάση διασποράς, τα *Varroa* μπορούν να εξαπλωθούν ακόμα και σε άλλες αποικίες μελισσών, ιδίως όταν η αρχική αποικία γίνεται πολυπληθής ή, λόγω της μόλυνσης, περιορίζονται σημαντικά οι διαδικασίες επικοινωνίας και επεξεργασίας θρεπτικών υλών [29,50,60,61,63]. Αυτό συμβαίνει διότι μερικές από τις μέλισσες που διενεργούν την επικοινωνία αναζητούν τροφή σε άλλες αποικίες, απ' όπου κυριολεκτικά κλέβουν μια μικρή ποσότητα θρεπτικών υλών και παράλληλα μεταδίδουν το ακάρι (Σχήμα 10). Επίσης, μολυσμένοι επικοινωνιστές της αρχικής αποικίας μεταφέρουν το παράσιτο σε άνθη και λοιπές επιφάνειες, όπου μολύνονται οι αντίστοιχες μέλισσες άλλων αποικιών. Τέλος, δεν είναι λίγες οι περιπτώσεις μεταφοράς του ακάρεου από τον μελισσοουργό προς την αποικία λόγω μη-τήρησης ορθών πρακτικών υγιεινής [29,50,60,61,63].



Σχήμα 10: Οδοί μόλυνσης άλλων αποικιών μελισσών κατά τη φάση διασποράς. Πηγή: [29]

3.5 Παρασιτικά έντομα – Σκαθάρι μικρής κυψέλης

Στα σημαντικότερα παρασιτικά έντομα που προσβάλουν τη μελιτογόνο μέλισσα συγκαταλέγεται το μικρό σκαθάρι κυψέλης (small hive beetle, SHB), ήτοι *Aethina tumida* [25,68-71]. Πρόκειται για ένα είδος εντόμων της οικογένειας *Nitidulidae*, που φυσιολογικά ενδημεί στην υπο-Σαχάρια Αφρική αλλά εξαπλώθηκε σε πολλές χώρες μέσω των παγκόσμιων οδών εμπορίου [68,70]. Τα περισσότερα είδη της συγκεκριμένης οικογένειας τρέφονται με σηπόμενα φρούτα και καρπούς, μύκητες, κουφάρια ζώων, άνθη και γύρη, ενώ συγκεκριμένα για το *Aethina tumida* θεωρείται πως κατέληξε σε αποικίες *Apis mellifera* μέσω γύρης που μετέφεραν οι επικονιαστές, οπότε σταδιακά ανέπτυξε συμβιωτική σχέση με τις μέλισσες και, κυρίως μετά τη μεγάλη του εξάπλωση ανά την υφήλιο, λειτουργεί και ως παράσιτο [68,70]. Οι θρεπτικές ύλες που αντλεί το σκαθάρι εντοπίζονται κυρίως στις εκκρίσεις κατεργαζόμενης γύρης, στο μέλι και στην τροφή του γόνου. Οι επιπτώσεις της μόλυνσης από SHB είναι συχνά αμελητέες, εντούτοις σε περιπτώσεις συν-νοσηρότητας με κάποιο άλλο παθογόνο μπορούν να καταστρέψουν την αποδυναμωμένη αποικία, γεγονός όχι πάντα αρνητικό αφού έτσι περιορίζουν έμμεσα την εξάπλωση του άλλου παθογόνου σε γειτονικές αποικίες [68]. Μάλιστα, η αναπαραγωγή του σκαθαριού ευνοείται ιδιαίτερα σε εγκαταλελειμμένες ή σχεδόν κατεστραμμένες αποικίες, όπου τα κατάλοιπα προϊόντων γύρης, μελιού και σηπόμενου γόνου θ' αποτελούσαν ιδανικό περιβάλλον επώασης κάποιου άλλου, πολύ πιο επικίνδυνου παθογόνου. Η εξάπλωση του SHB στις δυτικές χώρες ευνοήθηκε από το γεγονός ότι, σε αντίθεση με τις αφρικανικές ποικιλίες μέλισσας, οι αντίστοιχες δυτικές αφήνουν συνήθως πολύ μεγαλύτερες ποσότητες θρεπτικών υλών σε κυψέλες που εγκαταλείπουν.

Για λόγους που μένει να διευκρινιστούν σε περαιτέρω μελέτες, οι ευρωπαϊκές ποικιλίες μελιτογόνου μέλισσας είναι περισσότερο ευάλωτες στο SHB συγκριτικά με τις αντίστοιχες αφρικανικές, καθώς η μόλυνση προκαλεί σημαντικότερες φθορές στην αποικία και τα

συμβάντα κατάρρευσης είναι πολύ πιο συχνά [68,71]. Εδώ ας σημειωθεί πως το σκαθάρι καταφέρνει να εγκαθίσταται μακροπρόθεσμα σε ένα τοπικό οικοσύστημα αξιοποιώντας ως εναλλακτικούς ξενιστές τις αποικίες άλλων υμενόπτερων, συγγενικών προς την *Apis mellifera* όπως οι βομβίνοι, ενώ εξίσου σημαντική είναι η ικανότητά του να δημιουργεί ενίοτε και συμβιωτική σχέση με τη μολυσμένη αποικία μελισσών [68,70].

Τα ενήλικα *Aethina tumida* μπορούν να πετάνε και να μεταναστεύουν μεταξύ πολλών αποικιών του ίδιου μελισσοκομείου ανεξάρτητα από την υγεία και τη δύναμη της προσβαλλόμενης αποικίας, ωστόσο η επιτυχής εγκατάσταση και ο πολλαπλασιασμός γίνονται σε αποδυναμωμένες ή εγκαταλελειμμένες αποικίες [25,68-70]. Τα ενήλικα σκαθάρια βρίσκουν καταφύγιο στα κατώτερα τμήματα ασφράγιστων κελιών γόνου, σε στερεά κατάλοιπα κηρήθρας που συσσωρεύονται στον πάτο της κυψέλης και σε μικρές φθορές του εξοπλισμού μελισσοουργίας, ιδίως σε ξύλινες λαβές. Εντός κυψέλης, τα σκαθάρια προτιμούν για μόνιμη εγκατάσταση και πολλαπλασιασμό τη φωλιά γόνου, όπου διαθέτουν περισσότερα σημεία απόκρυψης και πρόσβαση σε πληθώρα θρεπτικών υλών. Η αυξημένη παρουσία μελισσών – εργατριών σε διάφορα σημεία της κυψέλης αποτρέπει την εγκατάσταση σκαθαριών, καθώς επιτίθενται στους εισβολείς [68].



Εικόνα 1: Ενήλικο *Aethina tumida*. Πηγή: [68]

3.5.1 Μορφολογία και συστηματική ταξινόμηση του *Aethina tumida*

Τα ενήλικα μικρά σκαθάρια κυψέλης έχουν κατά μέσο όρο μήκος 5.7 mm και πλάτος 3.2 mm, εντούτοις οι διαστάσεις τους μπορεί να ποικίλουν ανάλογα με τη διαθεσιμότητα θρεπτικών υλών και τα ιδιάζοντα χαρακτηριστικά κάθε κλίματος [68,70].

Πίνακας 10: Συστηματική ταξινόμηση του μικρού σκαθαριού κυψέλης.

Τάξη	<i>Coleoptera</i>
Οικογένεια	<i>Nitidulidae</i>
Γένος	<i>Aethina</i>
Είδος	<i>Aethina tumida</i>
Πηγές: [68,70]	

3.5.2 Κύκλος ζωής και αναπαραγωγή

Τα ενήλικα *Aethina tumida* μπορούν να καλύπτουν πετώντας μεγάλες αποστάσεις, ακόμα και λίγα χιλιόμετρα [68,70]. Τυπικά ξεκινούν τη μετακίνησή τους κοντά στο σούρουπο, με τ' αρσενικά συχνά να προπορεύονται των θηλυκών. Όλα τα ενήλικα σκαθάρια προσελκύονται από τις οσμές που αναδύονται σε μια κυψέλη λόγω προϊόντων και εκκρίσεων όπως η επεξεργαζόμενη γύρη, το μέλι, φερομόνες ενήλικων μελισσών, πτητικά οργανικά συστατικά απεκκρίσεων και, ακόμα, πτητικές ενώσεις που συνθέτουν μέσω ζύμωσης σακχάρων μελιού διάφοροι συμβιωτικοί (μη-παθογόνοι) μύκητες όπως ο *Kodamea ohmeri* [68,70].

Τα μικρά σκαθάρια είναι επαρκώς ανεπτυγμένα για ν' αναπαραχθούν περίπου μία εβδομάδα μετά την ανάδυσή τους από το χώμα -ή γενικά το ασφαλές μέρος όπου τοποθετήθηκαν αρχικώς τ' αυγά [68,70]. Τα ενήλικα θηλυκά εναποθέτουν τ' αυγά τους απευθείας στην αποθηκευμένη γύρη ή, εφόσον δεν παρέμβει κάποια εργάτρια, στα κελιά γόνου. Συνολικά, ένα υγιές θηλυκό σκαθάρι παράγει από 1000 – 2000 αυγά [68,70]. Σημειωτέον ότι μερικές φορές προσβάλλονται ακόμα και σφραγισμένα κελιά γόνου, αφού το θηλυκό καταστρέφει το σφράγισμα και εναποθέτει αυγά πάνω στον γόνο. Τ' αυγά SHB (Εικόνα 2) έχουν τυπικά μήκος 1.4 mm και πλάτος 0.26 mm, ενώ εμφανίζουν υαλώδη λευκόχρωμη μορφολογία και

εναποτίθενται σε συσσωρεύσεις των 10 – 30. Στις περιπτώσεις μεγάλων αποικιών με πολλές μέλισσες, τα θηλυκά εναποθέτουν αυγά σε σχισμές και απόμερες κοιλότητες, ενώ σε μικρότερες κυψέλες με λίγες ενήλικες μέλισσες προτιμούν τη φωλιά γόνου.



Εικόνα 2: Αυγά *Aethina tumida*. Πηγή: [68]

Τα περισσότερα αυγά εκκολάπτονται σε διάστημα 3 – 6 ημερών και η βιωσιμότητά τους εξαρτάται άμεσα από τη διατήρηση της υγρασίας σε σχετικά υψηλά επίπεδα [68,70]. Οι προνύμφες χαρακτηρίζονται από επιμήκη λευκόχρωμη εμφάνιση και η ανάπτυξή τους διαρκεί μεταξύ 15 – 60 μέρες ανάλογα με τη θερμοκρασία του χώματος, τη διαθεσιμότητα θρεπτικών υλών και την υγρασία. Έχει διαπιστωθεί πως χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνουν σημαντικά τον χρόνο ανάπτυξης, ενώ στους 34°C επιτυγχάνεται η βέλτιστη απόδοση των 5 ημερών [68].

Οι ώριμες προνύμφες έχουν μήκος περίπου 1 cm και αρχίζουν το στάδιο της περιπλάνησης (wandering), κατά το οποίο αναζητούν κατάλληλο μέρος για την ολοκλήρωση της ανάπτυξής τους προς ενήλικα σκαθάρια, συνήθως σε μαλακά σημεία του χώματος [68,70]. Η διάρκεια αυτού του τελευταίου σταδίου ποικίλει σημαντικά, από 8 μέρες έως 2 μήνες, και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως ο τύπος χώματος, η υγρασία, η πυκνότητα, η δυνατότητα απορρόφησης υδάτων βροχής, η θερμοκρασία και ο τυχόν ανταγωνισμός με άλλα είδη και προνύμφες. Οι θηλυκές προνύμφες τυπικά ωριμάζουν λίγο συντομότερα από τις αρσενικές και, επιπλέον, βρέθηκε ότι ο κυριότερος παράγοντας ανάπτυξης είναι η υγρασία, γεγονός που εξηγεί γιατί στην υπο-Σαχάρια Αφρική (όπου είναι γηγενές το είδος)

δεν υπάρχουν προβλήματα εξάπλωσης ανάλογα με εκείνα της Ευρώπης και της Αμερικής [68,70].

3.5.3 Συμπτώματα

Στα τυπικά συμπτώματα μόλυνσης με *Aethina tumida* περιλαμβάνονται τα εξής [25,68-71]:

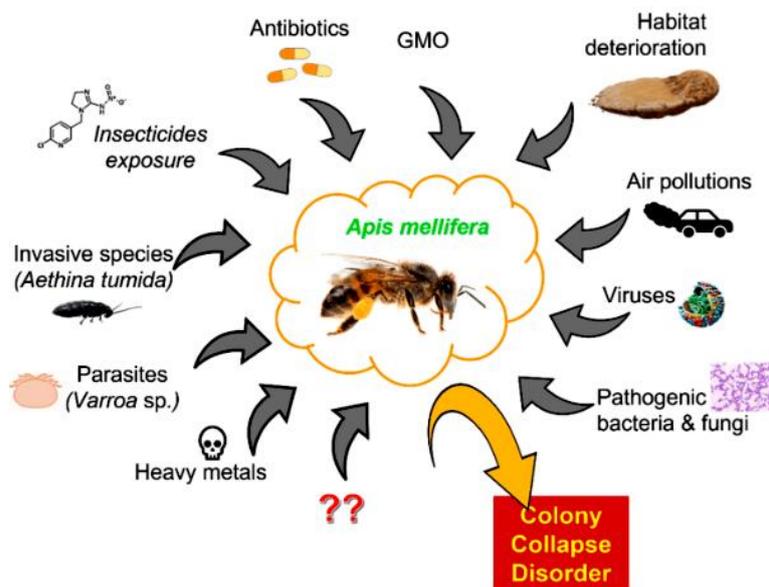
- Διακριτές στοές μέσα στην κηρήθρα.
- Κελιά γόνου με φθορές, ακόμα και κατεστραμμένα σφραγίσματα.
- Νεκρός γόνος.
- Αυξημένη συσσώρευση ύλης κοπράνων στα κελιά και στο μέλι (με προέλευση το σκαθάρι).
- Χαρακτηριστική οσμή σηπόμενου πορτοκαλιού. Αυτή οφείλεται στη ζύμωση υδατανθράκων που περιέχονται στο μέλι από διάφορους μικροοργανισμούς, κυρίως μύκητες, οι οποίοι συμβιώνουν φυσιολογικά με τις μέλισσες αλλά οι δραστηριότητες του SHB ευνοούν την ανεξέλεγκτη ανάπτυξή τους. Επίσης, μπορεί να μεταφέρονται στην κυψέλη από το σκαθάρι.

3.6 Ανθρωπογενείς ρύποι και περιβαλλοντική κρίση

Επί του παρόντος, η βιοποικιλότητα και οι πληθυσμοί εντόμων μειώνονται παγκοσμίως ως αποτέλεσμα διαφόρων παραγόντων, από την επεκτεινόμενη εξάπλωση παθογόνων μικροοργανισμών (βακτήρια, παράσιτα, μύκητες και ιοί) και την κλιματική αλλαγή μέχρι την ακατάπαυστη καταστροφή βιότοπων και την ανθρωπογενή ρύπανση [72,73]. Πρόκειται για παράγοντες στενά αλληλεξαρτώμενους, καθώς η περιβαλλοντική κρίση σε συνδυασμό με την καταστροφή βιότοπων (λχ για εμπορική εκμετάλλευση ή για ενσωμάτωση στον αστικό σχεδιασμό) συμβάλουν στη διατάραξη της τροφικής αλυσίδας, εξαναγκάζουν πληθυσμούς ζώων και εντόμων σε μετανάστευση προς άλλα φυσικά οικοσυστήματα, δημιουργούν μη-βιώσιμες συνθήκες τόσο για τη χλωρίδα όσο και για την πανίδα, περιορίζουν την επικοινωνία και, λόγω ακραίων καιρικών φαινομένων, καταστρέφουν αποικίες άλλοτε μεγάλων πληθυσμών [72,73,77]. Όλα αυτά συμβάλλουν και στην εξάπλωση ήδη γνωστών παθογόνων, προηγουμένως τοπικά περιορισμένων σε ορισμένα οικοσυστήματα, ενώ παράλληλα αναδύονται άγνωστα μέχρι πρότινος μικρόβια και ιοί [72,73,76,78]. Κοινό επιστέγασμα των παραπάνω είναι η ανθρωπογενής μόλυνση του περιβάλλοντος, που εκτός των προαναφερθέντων έμμεσων συνεπειών (κλιματική

αποσταθεροποίηση, διατάραξη οικοσυστημάτων κλπ) έχει και άμεσες συνέπειες σχετιζόμενες με την τοξική δράση των ρύπων.

Ανθρωπογενείς ρύποι όπως τα εντομοκτόνα, τα βαρέα μέταλλα και τα αιωρούμενα σωματίδια που προέρχονται από βιομηχανικές ή αγροτικές δραστηριότητες προκαλούν τοξικά σύνδρομα, συχνά θανατηφόρα, σε πολλά είδη εντόμων και δη στις μελιτοφόρες μέλισσες [72,73,76,80,83]. Τα οξεία σύνδρομα τοξικότητας καταλήγουν συνήθως σε μαζικούς θανάτους και γρήγορη κατάρρευση αποικιών, εντούτοις η παρατεταμένη έκθεση σε συγκεντρώσεις ρύπων χαμηλότερες από τις άμεσα θανάσιμες καθιστά τα έντομα περισσότερο ευάλωτα σε άλλες παθολογικές καταστάσεις, εξασθενεί το ανοσοποιητικό τους και μειώνει την ανθεκτικότητα προς άλλους παράγοντες στρες (stressors) όπως οι εναλλαγές θερμοκρασίας και καιρικών φαινομένων [76-81,83]. Επιπλέον, στα είδη κοινωνικών εντόμων παρατηρούνται και φαινόμενα τοξικότητας στους νευρικούς ιστούς σχετιζόμενα με περιορισμένες ικανότητες μάθησης, ασθενή μνήμη και χαμηλά επίπεδα δραστηριότητας εντός της αποικίας.



Σχήμα 11: Παράγοντες πρόκλησης φαινομένων κατάρρευσης αποικίας στις *Apis mellifera*.

Πηγή: [76]

Γενικώς, η λειτουργία μιας αποικίας κοινωνικών εντόμων (λχ μέλισσες, σφήκες και μυρμήγκια) βασίζεται σε οργανωμένες διαδικασίες όπως η φροντίδα του γόνου, η συνεργασία μεταξύ εντόμων – εργατών για την εύρεση τροφής και, ακόμα, την καλλιέργεια συγκεκριμένων ειδών μυκήτων, αναπαραγωγή μικρού αριθμού θηλυκών ή μόνο της βασίλισσας με συγκεκριμένο μέρος του πληθυσμού, ιχνηλάτηση του φυσικού τους περιβάλλοντος, ανταλλαγή χημικών σημάτων ως μέσο μετάδοσης πληροφοριών, καθαρισμός της αποικίας και πολλές ακόμα, όλες τους βασιζόμενες εν πολλοίς στη λειτουργική μνήμη των εντόμων και στη διατήρηση της ιεραρχικής τους δομής [73,84]. Συνεπώς, οι ρύποι που επηρεάζουν ατομικά κάθε έντομο έχουν επιπτώσεις σε όλη την αποικία. Φερ' ειπείν, ένας εργάτης συλλογής γύρης ή άλλων τροφίμων έρχεται σε επαφή με ρύπους, τους συσσωρεύει στον οργανισμό του κι έπειτα τους μεταφέρει στα υπόλοιπα έντομα μέσω τροφάλλαξης, ανταλλαγής χημικών σημάτων και άλλων δραστηριοτήτων. Η ανίχνευση χαμηλών συγκεντρώσεων ρύπων σε κάθε έντομο ξεχωριστά είναι εξαιρετικά δύσκολη, εντούτοις τείνουν να συσσωρεύονται σε προϊόντα συλλογικής εργασίας όπως το κερι και το μέλι, οπότε οι τοξικές τους ιδιότητες αυξάνονται συν τον χρόνο και η έκθεση γόνων σε αυτές οδηγεί σε μικρότερο προσδόκιμο ζωής [73,76,80,83].

3.6.1 Επίπτωση περιβαλλοντικών και ανθρωπογενών παραγόντων στην *Apis mellifera*

Στους κυριότερους περιβαλλοντικούς και ανθρωπογενείς παράγοντες συγκαταλέγονται τα συνθετικά παρασιτοκτόνα, η κλιματική αλλαγή, οι ανθρωπογενείς ρύποι, η εισαγωγή νέων ειδών στα οικοσυστήματα, η καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων φυτών, η διαχείριση του εδάφους και οι πρακτικές μελισσοουργίας [72,73]. Όλοι αυτοί οι παράγοντες παρατίθενται στον **Πίνακα 11** συνδυαστικά με τις επιπτώσεις τους στη μελιτογόνο μέλισσα.

Πίνακας 11: Περιβαλλοντικοί – ανθρωπογενείς παράγοντες και επίδραση στην *Apis mellifera*.

Παράγοντες	Επιπτώσεις στην <i>Apis mellifera</i>
Παρασιτοκτόνα	Αυξημένη θνησιμότητα, διατάραξη φυσιολογικών μεταβολικών λειτουργιών

Κλιματική αλλαγή	Μεταβολές στη συμπεριφορά, τη φυσιολογία και τη γεωγραφική κατανομή, διατάραξη των διεργασιών επικονίασης
Εισαγωγή νέων ειδών	Ανταγωνισμός για τις διαθέσιμες πηγές θρεπτικών υλών, αλλοιώσεις στο προϋπάρχον οικοσύστημα, πιθανές σχέσεις θηρευτή - θηράματος
Γενετικά τροποποιημένα φυτά (GMOs)	Αλλαγές στις διεργασίες επικονίασης
Διαχείριση γης	Απώλεια φυσικών οικοσυστημάτων, αυξημένος ανταγωνισμός μεταξύ διαχειριζόμενων - ελεύθερων μελισσών
Πρακτικές μελισσοουργίας	Χρήση υβριδίων, διατάραξη στις σχέσεις διαχειριζόμενων μελισσών και ελεύθερων υμενόπτερων
Ανθρωπογενείς ρύποι	Πιθανό τοξικό σύνδρομο, διατάραξη της ομοιόστασης, εξασθένηση του ανοσοποιητικού συστήματος
Αλληλεπίδραση μεταξύ παραγόντων	Λίγες διαθέσιμες μελέτες, σχετικές κυρίως με αλληλεπίδραση παθογόνων – ρύπων και παθογόνων - παρασιτοκτόνων
Πηγές: [72,73]	

3.6.2 Επίδραση των πρακτικών επικονίασης στη συσσώρευση ρύπων

Καθώς τα κοινωνικά υμενόπτερα έχουν σημαντικό ρόλο στην επικονίαση και η επιβίωσή τους βασίζεται σε διαρκή αξιοποίηση πόρων του περιβάλλοντός τους, είναι εύλογο ότι η παρουσία μέτριων ή υψηλών επιπέδων ρύπων κοντά στην αποικία οδηγεί σχεδόν

αναπόφευκτα σε επαφή των εντόμων με τους τοξικούς παράγοντες. Μερικοί σημαντικοί παράγοντες για την έκθεση σε ρύπους είναι οι εξής:

- Στις μελιτοφόρες μέλισσες συνηθίζεται η επεξεργασία και ο καθαρισμός της τροφής πριν δοθεί στη βασίλισσα, οπότε η έκθεση του κυριότερου αναπαραγωγικού μέλους της αποικίας σε ρύπους περιορίζεται σημαντικά, ενώ στους βομβίνους (bumblebee) η βασίλισσα έρχεται σε άμεση επαφή με τυχόν ρύπους καθώς συμμετέχει στη διαδικασία επικοινωνίας [73,84]. Συνεπώς, οι πρακτικές λήψης τροφής έχουν σημαντικό ρόλο.
- Τα είδη κοινωνικών εντόμων αξιοποιούν συνήθως πολύ μεγαλύτερη ποικιλία θρεπτικών υλών και έτσι μπορούν ν' αποφύγουν ορισμένες μολυσμένες πηγές [73].
- Ιπτάμενα υμενόπτερα εκτελούν μεγαλύτερες διαδρομές αναζήτησης θρεπτικών υλών συγκριτικά με τα επίγεια (πχ μέλισσες – μυρμήγκια) [73,84], οπότε μια τοπική εστία ρύπων θα επηρεάσει περισσότερο τα δεύτερα [73].
- Απομονωμένες μέλισσες (ή όποιο άλλο κοινωνικό έντομο) συνήθως εκτελούν μικρότερες διαδρομές επικοινωνίας και εύρεσης τροφής συγκριτικά με τα μέλη μιας αποικίας, οπότε δυνητικά εκτίθενται περισσότερο σε τοπικά εντοπιζόμενες πηγές ρύπων [73,84].
- Οι μεταβολικές ανάγκες κάθε είδους καθορίζουν εν πολλοίς τη συχνότητα αναζήτησης και τις απαιτούμενες ποσότητες τροφής, άρα και την έκθεση σε τυχόν ρύπους απορροφημένους σε λουλούδια και λοιπά φυτά [73,84].
- Κάθε φυτικό είδος απορροφά ρύπους αιωρούμενους στην ατμόσφαιρα ή διαλυμένους στον υδροφόρο ορίζοντα σε διαφορετικές ποσότητες, ανάλογα με τα φυσιολογικά και βιοχημικά – μεταβολικά του χαρακτηριστικά, πχ το *Brassica juncea* (ινδική μουστάρδα) και το *Eichhornia crassipes* (υάκινθος νερού) τείνουν ν' απορροφούν βαρέα μέταλλα όπως Pb και Mo σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από άλλα φυτά, ενώ ανάλογες ιδιότητες παρουσιάζουν και τα ηλιοτρόπια (sunflowers) και λόγω αυτών βρίσκουν εφαρμογές σε διεργασίες βιο-αποκατάστασης μολυσμένων εδαφών [73]. Επομένως, οι διατροφικές προτιμήσεις μιας αποικίας υμενόπτερον επικοινωνίας σε τέτοια φυτικά είδη συνεπάγεται και μεγαλύτερο κίνδυνο έκθεσης σε ρύπους.

3.6.3 Κύριες κατηγορίες ρύπων

Πολλοί είναι οι ανθρωπογενείς ρύποι που παρουσιάζουν τοξικές ιδιότητες για τις μέλισσες, με την πρώτη και περισσότερο μελετημένη κατηγορία να περιλαμβάνει τα διάφορα εντομοκτόνα αλλά και μια ευρεία ποικιλία παρασιτοκτόνων, ζιζανιοκτόνων, μυκητοκτόνων και απωθητικών ζώων [72-78]. Η ισχυρότερη τοξική δράση προέρχεται από εντομοκτόνα, εντούτοις οι υπόλοιπες κατηγορίες χημικών προϊόντων για χρήση σε αγρούς έχει σχετιστεί με τοξικά σύνδρομα περισσότερο χρόνιας φύσης, όπως επίσης με έμμεσες επιπτώσεις από την ανάπτυξη υπερ-ανθεκτικών στελεχών μυκήτων ή/και παρασίτων που δυνητικά πλήττουν τα έντομα επικονίασης [72,73,76-78].

Τα βαρέα μέταλλα είναι η δεύτερη βασική κατηγορία ρύπων, περισσότερο υφιστάμενων κοντά σε βιομηχανικές ζώνες και πυκνοκατοικημένες περιοχές. Μπορούν να εντοπιστούν σε όλα τα σώματα νερού και στο έδαφος, απ' όπου απορροφώνται στα φυτά, ενσωματώνονται στους ιστούς τους και προσλαμβάνονται από μέλισσες (και άλλα έντομα) κατά την επικονίαση [72,73,79-81]. Οι επιπτώσεις των βαρέων μετάλλων στο οικοσύστημα πολλαπλασιάζονται κατά την προοδευτικά αυξανόμενη συσσώρευσή τους κατά μήκος της τροφικής αλυσίδας.

Η τρίτη κατηγορία αφορά τα αιωρούμενα σωματίδια (Particulate Matter, PMs), που σχηματίζονται ως παραπροϊόντα σε διαδικασίες που εμπλέκουν καύση ανθρακούχας ύλης και συνήθως προέρχονται από τον βιομηχανικό τομέα, την αυτοκίνηση, την παραγωγή ενέργειας και τη διαχείριση αποβλήτων / απορριμμάτων [72,73,82,83]. Μόλις οι μέλισσες έρθουν σε επαφή με τη μολυσμένη επιφάνεια, η μικροσωματιδιακή ύλη προσκολλάται στα σώματά τους ή καταναλώνεται μαζί με τη γύρη, οπότε ακολούθως μεταφέρεται πίσω στην αποικία και συσσωρεύεται στα προϊόντα ή διαμοιράζεται μέσω της τροφάλλαξης [72,73,82,83]. Όσο μικρότερη η μέση διάμετρος των σωματιδίων τόσο περισσότερο εισχωρεί στους ιστούς προκαλώντας διάφορα συμπτώματα (τύφλωση, απόφραξη, αναπνευστική ανεπάρκεια), ενώ οι προσροφημένες ενώσεις ευθύνονται για επιπλέον τοξική δράση.

3.6.3.1 Παρασιτοκτόνα

Ο όρος 'παρασιτοκτόνα' αναφέρεται σε μια ευρεία ποικιλία χημικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται στην αγροτική παραγωγή και περιλαμβάνει εντομοκτόνα, μυκητοκτόνα,

αποθητικά ζώων, βακτηριοκτόνα, ζιζανιοκτόνα (για φυτικά είδη ζιζανίων), σκευάσματα εξειδικευμένα σε ορισμένα είδη παρασίτων και μυοκτόνα [74,75]. Απ' όλα αυτά, τα κοινωνικά έντομα επηρεάζονται περισσότερο από εντομοκτόνα και μυκητοκτόνα, ενώ οι υποβοηθούμενες αποικίες μελισσών εκτίθενται συχνά και σε ακαρεοκτόνα προς εξόντωση των επικίνδυνων εξω-παρασιτικών *Varroa destructor* [72,73,76-78]. Η μεγαλύτερη ζημιά ίσως προκαλείται από τα κατάλοιπα εντομοκτόνων και εν γένει παρασιτικών που εναποτίθενται στ' άνθη, όπου οι μέλισσες έρχονται σε επαφή με τον ρύπο και τον μεταφέρουν στην αποικία [72,73,76-78]. Η τοξικότητα τέτοιων ποσοτήτων συνήθως είναι χαμηλή για κάθε έντομο ατομικά, εντούτοις η συσσώρευσή τους στην αποικία και κυρίως στις αποθηκευμένες τροφές μπορεί να προκαλέσει χρόνια τοξικά σύνδρομα ή ακόμα και αιφνίδια κατάρρευση.

Πίνακας 12: Κύριες κατηγορίες συνθετικών παρασιτοκτόνων.

Κατηγορία παρασιτοκτόνου	Τύπος δραστικής ουσίας	Παραδείγματα
Εντομοκτόνα	Οργανοφωσφορικά	Malathion, methyl parathion
	Καρβαμιδικά	Aldicarb, carbaryl, methomyl
	Πυρεθροειδή	Cypermethrin, permethrin
	Οργανοχλωριούχα	Lindane
	Νεονικοτινοειδή	Imidacloprid
	N-φαινυλ-πυραζόλες	Fipronil
Ζιζανιοκτόνα	Φωσφονικά	Glyphosate
	Χλωροφαινοξυ-ζιζανιοκτόνα	2,4-D mecoprop
	Παράγωγα διπυριδύλης	Paraquat
	Μη-επιλεκτικά	Χλωριούχο νάτριο
Μυοκτόνα	Αντιπηκτικά	Warfarin, brodifacoum

	Δηλητήρια μεταβολισμού	Φλωρο-οξικό νάτριο
	Ανόργανα	Φωσφίδιο του αλουμινίου
Μυκητοκτόνα	Θειοκαρβαμιδικά Τριαζόλες	Metam-sodium Myclobutanil, fluconazole
Πτητικά – για χρήση με καπνό	Αλογονούχα οργανικά Οργανικά	Βρωμιούχο μεθύλιο, χλωροπικρίνη Δισουλφίδιο του άνθρακα
Διάφορα	Αρσενικούχα Πυριδίνες	Αρσενικούχος μόλυβδος 4-αμινοπυριδίνη

Πηγές: [74,75]

Τα περισσότερα εντομοκτόνα σχεδιάζονται ως νευροτοξίνες, με χαρακτηριστικά παραδείγματα τα οργανο-φωσφορικά και τα μεθυλο-καρβαμιδικά που αναστέλλουν την ενζυμική δράση ακετυλοχολινεστεράσης, όπως επίσης τα νεονικοτινοειδή (neonicotinoids) που είναι ανταγωνιστές για την πρόσδεση σε νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης [72,73,76-78]. Τόσο η δράση της ακετυλοχολινεστεράσης όσο και οι προαναφερθέντες υποδοχείς είναι ζωτικής σημασίας για τη λειτουργία των νευρικών κυττάρων. Συγκεντρώσεις τέτοιων νευροτοξινών σε επίπεδα χαμηλότερα της θανάσιμης δόσης (lethal dose) επηρεάζουν μακροπρόθεσμα τη μνήμη και τις ικανότητες μάθησης στις μέλισσες, τη δυνατότητα πετάγματος, την κινητικότητα και την κοινωνική συμπεριφορά στην αποικία [72,73,76-78]. Παρατεταμένη έκθεση μελισσών σε συγκεντρώσεις νεονικοτινοειδών χαμηλότερης της τοξικής δόσης (όπως πχ έχουν ανιχνευθεί στη γύρη μολυσμένων ανθέων) εξασθενεί το ανοσοποιητικό σύστημα, ενώ βρέθηκε επίσης ότι επάγει οξειδωτικό στρες μέσω πρόκλησης δυσλειτουργιών στον μεταβολισμό ρετινοειδών [72,73,76-78]. Μάλιστα, το νεονικοτινοειδές θειομεθοζάμη (thiamethoxam) αναστέλλει την έκφραση ορισμένων γονιδίων που εμπλέκονται στην ανοσολογική απόκριση τόσο γόνων όσο και ενήλικων μελισσών, όπως δείχθηκε σε ορισμένες μελέτες όταν μέλισσες εκτεθειμένες σε θειομεθοζάμη μολύνθηκαν με το παράσιτο *Nosema ceranae* και η θνησιμότητά τους αυξήθηκε συγκριτικά με όσες δεν είχαν εκτεθεί προηγουμένως στο χημικό [73].

Πίνακας 13: Παραδείγματα παρασιτοκτόνων και οι παρενέργειές τους στην *Apis mellifera*.

Παρασιτοκτόνο	Εφαρμογή	Παρενέργεια στις μέλισσες
Abamectin	Έλεγχος παρασιτικών εντόμων και ακάρεων στις σοδειές.	Τοξική δράση στο πεπτικό σύστημα.
Acephate	Έλεγχος παρασιτικών εντόμων στις σοδειές.	Ελάττωση σωματικού βάρους, εξασθένηση.
Amitraz	Έλεγχος ψύλλων, ακάρεων και ψείρας σε εξημερωμένα ζώα.	Αλλαγές στη συμπεριφορά, αυξημένη θνησιμότητα.
Bifenazate	Έλεγχος ακάρεων.	Αλλαγές στη συμπεριφορά, διατάραξη μεταβολισμού.
Chlorfenapyr	Έλεγχος παρασιτικών εντόμων σε σοδειές και ζώα.	Τοξικό σύνδρομο στο νευρικό σύστημα, παράλυση.
Coumaphos	Έλεγχος παρασιτικών εντόμων σε σοδειές και ζώα.	Ελαττωμένη επικοινωνία, αυξημένο οξειδωτικό στρες, υπολειτουργία υποφαρυγγικών αδένων.
Cypermethrin	Έλεγχος παρασιτικών εντόμων σε σοδειές.	Μεταβάλλει την έκφραση γονιδίων.
Deltamethrin	Έλεγχος φορέων παθογόνων (λχ ακάρεων).	Δυσλειτουργία του νευρικού συστήματος, αποδυνάμωση της μνήμης.

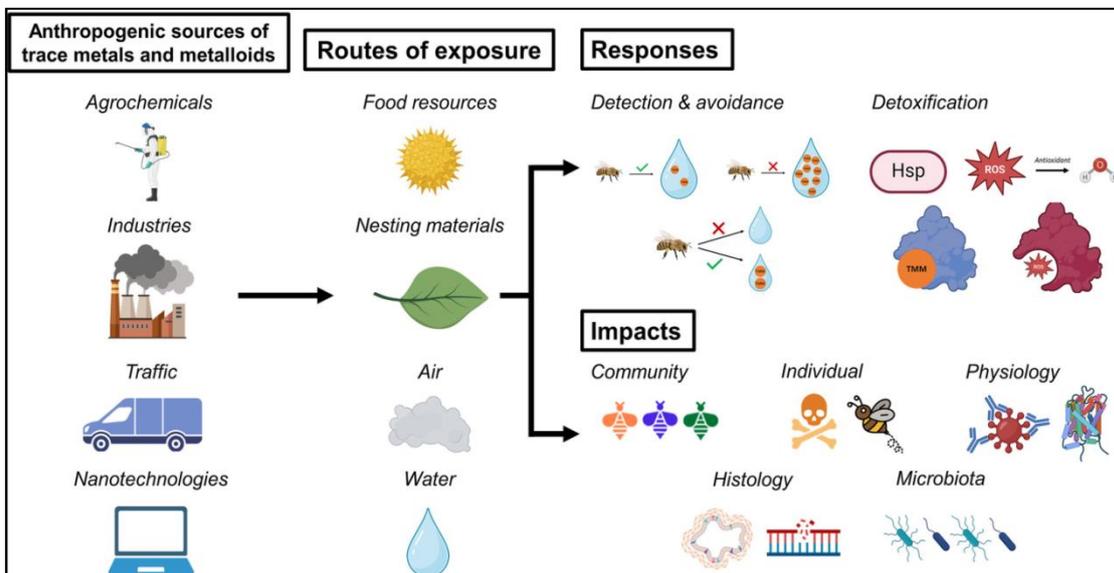
Diazinon	Έλεγχος εντόμων σε σπίτια και αγρούς.	Δυσλειτουργία του νευρικού συστήματος, δυσκολία αναγνώρισης οσμών.
Dimethoate	Έλεγχος παρασιτικών εντόμων σε σοδειές.	Αναστολή του ενζύμου ακετυλοχοληνεστεράση.
Νεονικοτινοειδή	Έλεγχος παρασιτικών εντόμων σε σοδειές και ζώα.	Αυξημένη θνησιμότητα, τοξική δράση στο κεντρικό νευρικό σύστημα, ενισχύει τη δράση του ιού DWV.

Πηγή: [76]

3.6.3.2 Βαρέα μέταλλα

Ως βαρέα μέταλλα χαρακτηρίζονται τα μεταλλικά στοιχεία με πυκνότητα μεγαλύτερη από 5.0 g/cm³ όπως ο μόλυβδος (Pb), ο χαλκός (Cu), ο ψευδάργυρος (Zn), το κάδμιο (Cd), ο κασσίτερος (Sn) και το κοβάλτιο (Co) [79-81]. Στην ίδια κατηγορία ανήκουν και ευγενή μέταλλα όπως ο χρυσός (Au), το παλλάδιο (Pd) και ο άργυρος (Ag), αλλά για την τοξικότητά τους σε ζωντανούς οργανισμούς εξετάζονται περισσότερο τα προηγούμενα. Τα βαρέα μέταλλα απελευθερώνονται στο περιβάλλον είτε ως συστατικό αιωρούμενων σωματιδίων είτε, συχνότερα, ως ανόργανα ή οργανικά άλατα σε υδατικά απόβλητα βιομηχανιών και μονάδων μεταλλουργικών διεργασιών [72,73,79-81]. Μέσω των ροών αποβλήτων εισχωρούν στον υδροφόρο ορίζοντα και μολύνουν το έδαφος, απ' όπου αντλούνται μαζί με νερό από τα φυτά και συσσωρεύονται στους ιστούς τους. Επίσης, όντας απορροφημένα σε αιωρούμενα σωματίδια μπορούν να διανύουν μεγάλες αποστάσεις και να καταλήγουν απευθείας στην επιφάνεια φύλλων και γύρης [72,73,79-81]. Κατά συνέπεια, οι μέλισσες εκτίθενται μέσω της επικονίασης και τα μεταφέρουν πίσω στην αποικία. Αυτή η πορεία μόλυνσης της αποικίας επαληθεύτηκε σε αρκετές μελέτες, όπου διαπιστώθηκε θετική αναλογία μεταξύ των συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων σε αποθηκευμένες ποσότητες γύρης (και προϊόντων όπως μέλι / κερί) και των αντίστοιχων συγκεντρώσεων σε δείγματα ιστών από μέλισσες που εκτελούσαν επικονίαση [72,73,79-81].

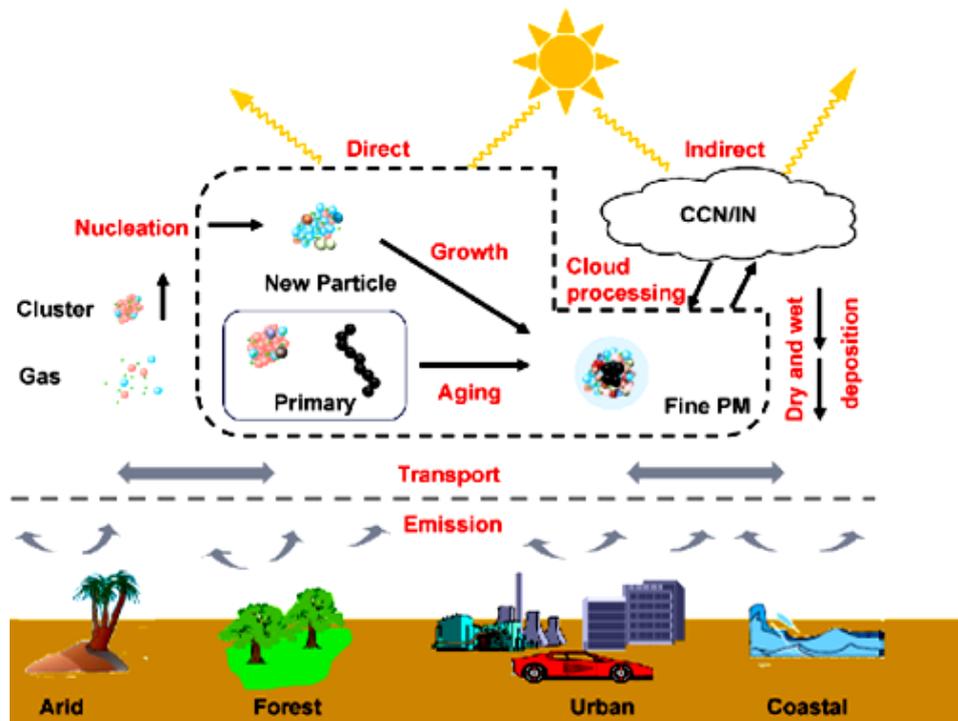
Μελέτες έδειξαν ότι οι αυξημένες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων σε δείγματα ιστών από *Apis mellifera* σχετίζονται με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας τόσο σε μέλη αποικίας όσο και σε απομονωμένες μέλισσες, ενώ ενδιαφέρον έχει πως εντός της μολυσμένης αποικίας παρατηρείται και μείωση του μέσου μεγέθους για τις εργάτριες, τουλάχιστον από τη δεύτερη γενιά κατόπιν έκθεσης στους ρύπους [72,73,79-81]. Έχει διαπιστωθεί πως τα βαρέα μέταλλα τείνουν να συσσωρεύονται σε διάφορους ιστούς υπό τη μορφή ιζημάτων – σφαιριδίων, γεγονός που αποδόθηκε σε μηχανισμούς αποτοξίνωσης του οργανισμού κάθε εντόμου. Έκθεση μελιτοφόρων μελισσών σε συγκεντρώσεις CdO και PbO χαμηλότερες της θανάσιμης δόσης σχετίστηκε με αλλοιώσεις στον πεπτικό σωλήνα, φθορά του επιθηλιακού ιστού, οξειδωτικό στρες λόγω δυσλειτουργίας των μιτοχονδρίων (ιδιαίτερα αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου) και αυξημένη πυκνότητα στην ετεροχρωματίνη εντός των κυτταρικών πυρήνων [73]. Επίσης, το εντερικό μικροβίωμα διαταράσσεται σημαντικά και προκαλεί πεπτικά προβλήματα, απορρυθμίζεται η ανοσολογική απόκριση και διευκολύνεται η μόλυνση από επικίνδυνα παθογόνα όπως τα *Nosema spp.* και διάφορα βακτηριακά είδη [72,73,79-81]. Μάλιστα, το δυνητικά παθογόνο *E. coli* δεν προκαλεί υπό φυσιολογικές συνθήκες λοίμωξη, εντούτοις αποδεικνύεται θανατηφόρο για μέλισσες εκτεθειμένες σε κάδμιο [73].



Σχήμα 12: Συνοπτική παρουσίαση των ανθρωπογενών πηγών βαρέων μετάλλων με τις οδούς μόλυνσης και τις βιολογικές αποκρίσεις των μελισσών σε αυτά. Πηγή: [80]

3.6.3.3 Αιωρούμενα σωματίδια - PMs

Τ' ανθρακούχα σωματίδια των εκπομπών PMs διακρίνονται σε υποκατηγορίες βάσει της μέσης διαμέτρου τους και περισσότερο τοξικά για τους οργανισμούς είναι τα PM_{2.5} (μέση διάμετρος σωματιδίων 2.5 μm) και PM₁₀ (μέση διάμετρος σωματιδίων 10 μm) [73,82,83]. Μπορούν να περιλαμβάνουν στη σύστασή τους στάχτη, κατάλοιπα υδρογονανθράκων από μερική καύση, πίσσες, σωματίδια μαύρου άνθρακα (black carbon), σιλκόνες, θειούχα, νιτρικά, αρωματικές ενώσεις, βαρέα μέταλλα και, ακόμα, εντομοκτόνα ή άλλα τοξικά χημικά που προσροφώνται στην πορώδη τους δομή [73,82,83]. Βασικός τρόπος δράσης αυτών των ρύπων είναι η μεταφορά σε μεγάλες αποστάσεις με τη βοήθεια των καιρικών φαινομένων, μόλις αποδεσμευτούν ως εκπομπές απαερίων, και η εναπόθεσή τους σε κάθε επιφάνεια και σώμα νερού, ακόμα και πάνω στη γύρη ανθέων όπου κι μολύνουν τα έντομα επικοινωνίας.



Σχήμα 13: Βασικοί μηχανισμοί σχηματισμού αιωρούμενων σωματιδίων (PMs). Πηγή: [82]

Η σύσταση των αιωρούμενων σωματιδίων εξαρτάται άμεσα από την πηγή εκπομπής τους · το κονίαμα από ορυχεία κάρβουνου συνήθως αποτελείται από ανόργανα συσσωματώματα άκαυστου άνθρακα, ενώ τ' αντίστοιχα από κινητήρες εσωτερικής καύσης περιέχουν

μικρότερης διαμέτρου σωματίδια άνθρακα που λειτουργούν ως αρχικοί πυρήνες για την σταδιακή προσκόλληση / προσρόφηση άλλων ρύπων, από άκαυστους υδρογονάνθρακες και αρωματικές ενώσεις μέχρι βαρέα μέταλλα [82,83]. Στην περίπτωση των οχημάτων, μια ακόμα πηγή σωματιδίων και οργανικών ρύπων που ενσωματώνονται σε αυτά είναι το σύστημα πέδησης, όπου οι ισχυρές τριβές φθείρουν σταδιακά τα εξαρτήματα και απελευθερώνουν βαρέα μέταλλα, φαινολικές ενώσεις και μικροσωματίδια άνθρακα. Η σύσταση των αιωρούμενων σωματιδίων μπορεί να περιλαμβάνει και χημικά είδη που σχηματίζονται στην ατμόσφαιρα μέσω αντιδράσεων όπως η οξείδωση διοξειδίου του θείου (SO₂) και οξειδίων του αζώτου (NO_x) [82,83].

Η τοξική δράση κάθε τύπου PMs εξαρτάται από το μέγεθος (μέση διάμετρο) και τη χημική σύσταση [73,82,83]. Ενδεικτικό στοιχείο της δράσης και της εμβέλειας των αιωρούμενων σωματιδίων είναι η ανίχνευση συγκεντρώσεων παρασιτοκτόνων, ανθρακούχας σωματιδιακής ύλης, βαρέων μετάλλων και αρωματικών ενώσεων σε ιστούς μελισσών εντός αποικιών πολύ κοντά σε μεγάλα αστικά κέντρα, μακριά από βιομηχανικές και αγροτικές περιοχές. Αξιοσημείωτο είναι πως αυτές οι συγκεντρώσεις ήταν υψηλότερες από τις αντίστοιχες σε δείγματα μελισσών από τις πλησιέστερες αγροτικές και βιομηχανικές περιοχές, άρα φάνηκε ότι η αλληλεπίδραση της σωματιδιακής ύλης με άλλους ρύπους δεν είναι απλά ένας συνδυασμός τοξικών ξενοβιοτικών αλλά προσφέρει μια εναλλακτική οδό μόλυνσης των μελισσών, δυνητικά εξίσου επικίνδυνη με την απευθείας έκθεση σε τοπικές πηγές ρύπων [73,82,83].

4. Μέθοδοι Αντιμετώπισης ασθενειών

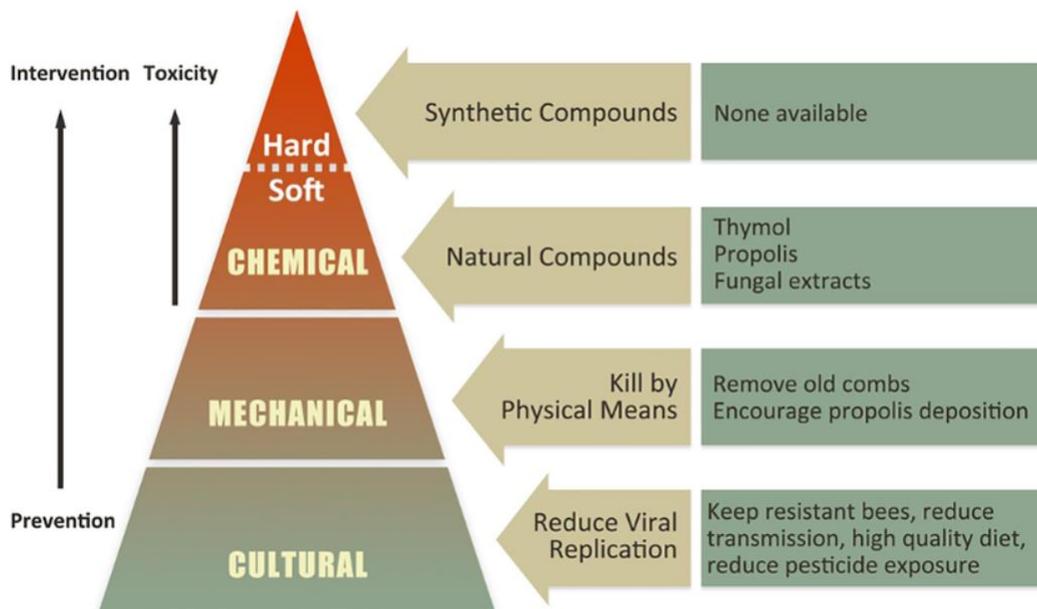
Το παρόν κεφάλαιο επικεντρώνεται στις μεθόδους και στις πρακτικές αντιμετώπισης όλων των ασθενειών που αναλύθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο. Ο όρος ‘αντιμετώπιση’ αναφέρεται τόσο στην πρόληψη όσο και στην αντιμετώπιση μιας μόλυνσης και περιλαμβάνει βιολογικές μεθόδους, χημικές – βιοχημικές μεθόδους και ορθές πρακτικές υγιεινής κατά τις εργασίες μελισσοουργίας. Η διάκριση των μεθόδων σε βιολογικές και χημικές – βιοχημικές γίνεται με κριτήριο το αν η αντιμετώπιση της ασθένειας βασίζεται στην αξιοποίηση κάποιου χαρακτηριστικού της μέλισσας και άλλων ζωντανών οργανισμών ή στη χρήση χημικών σκευασμάτων, συνθετικών ή φυσικής προέλευσης. Χαρακτηριστικά παραδείγματα βιολογικών μεθόδων είναι η επιλεκτική αναπαραγωγή ποικιλιών μέλισσας ανθεκτικών σε συγκεκριμένο παθογόνο και η χορήγηση μέσω τροφής προβιοτικών βακτηρίων.

Αντίστοιχα, τυπικά παραδείγματα χημικών – βιοχημικών μεθόδων είναι η χορήγηση μέσω τροφής διαφόρων αντιβιοτικών και μικρών ποσοτήτων αιθέριων ελαίων. Τα όρια μεταξύ βιολογικών και χημικών – βιοχημικών μεθόδων γίνονται δυσδιάκριτα σε ορισμένες περιπτώσεις, ενώ οι ορθές πρακτικές περιπλέκουν ακόμα περισσότερο τη διάκριση αφού αξιοποιούν χαρακτηριστικά και των δύο κατηγοριών. Καθώς οι περισσότερες τέτοιες πρακτικές βασίζονται στη συμπεριφορά της μέλισσας, στην τροποποίηση του χώρου της αποικίας και στην απολύμανση του εξοπλισμού, κρίνεται δόκιμο ν’ αναλυθούν ως μέρος των βιολογικών μεθόδων και όχι των χημικών – βιοχημικών.

Η χρήση βιο-παρασιτοκτόνων (bio-pesticides) ουσιαστικά συγκαταλέγεται στις χημικές – βιοχημικές μεθόδους αντιμετώπισης των δυσμενών επιπτώσεων από συνθετικά σκευάσματα, ωστόσο εξετάζεται ξεχωριστά. Αυτή η διάκριση κρίνεται δόκιμη, καθώς πρόκειται για πεδίο εξέχουσας σημασίας στην αξιοποίηση εναλλακτικών προσεγγίσεων, πολύ χαμηλότερης τοξικότητας τόσο για τις μέλισσες όσο και για το οικοσύστημα ευρύτερα.

4.1 Αντιμετώπιση των ιών

Γενικώς, οι προσεγγίσεις για την αντιμετώπιση ιογενών ασθενειών στις μέλισσες είναι αρκετά περιορισμένες, καθώς δεν έχουν αναπτυχθεί ακόμα θεραπευτικά σχήματα και αντικά [30,32]. Κατά συνέπεια, δίνεται έμφαση στην τήρηση ορισμένων πρακτικών υγιεινής κατά τις εργασίες μελισσοουργίας, όπως επίσης στην εφαρμογή βιολογικών και χημικών – βιοχημικών μεθόδων αντιμετώπισης φορέων των ιών, με κυριότερο το ακάρι *Varroa destructor* [30,32]. Επίσης, η χορήγηση μέσω τροφής ορισμένων σκευασμάτων βιολογικής προέλευσης, όπως αιθέρια έλαια και δευτερογενείς μεταβολίτες βακτηρίων ή μυκήτων, προσφέρουν μια ήπια αντική δράση, καθώς διαπιστώθηκε ότι ελαττώνουν το φορτίο ιικών σωματιδίων σε περιπτώσεις μόλυνσης χαμηλού επιπέδου [30,32].



Σχήμα 14: Κατηγοριοποίηση των μεθόδων αντιμετώπισης ιογενών ασθενειών στις μέλισσες. Πηγή: [32]

4.1.1 Βιολογικές μέθοδοι

Στις βιολογικές μεθόδους θα συμπεριληφθούν και ορισμένες βασικές πρακτικές που ακολουθούν οι μελισσοουργοί.

- **Επιλεκτική αναπαραγωγή μελισσών ανθεκτικών στον ιό [30,32].** Οι *Apis mellifera* προσβάλλονται από μεγάλο αριθμό διαφορετικών ιών, οπότε είναι πρακτικώς αδύνατο να βρεθεί ή, έστω, να προκύψει μέσω επιλεκτικής διασταύρωσης μια ποικιλία με γενική ανθεκτικότητα. Συνεπώς, η διαδικασία μπορεί να γίνει για πολύ μικρό αριθμό ιών, συνήθως μόνο για έναν ή δύο.
 - Ποικιλίες μελισσών όπως ορισμένες ρωσικές και οι ευαίσθητες προς *Varroa* (*Varroa sensitive hygiene*, VSH) εμφανίζουν ισχυρή ανοσολογική απόκριση προς κοινούς ιούς όπως ο DWV (ιός παραμορφωμένων φτερών).
- **Επιλεκτική αναπαραγωγή μελισσών ανθεκτικών προς το *Varroa destructor* [30,32].** Δεδομένου πως το συγκεκριμένο ακάρι αποτελεί φορέα πολλών ιών, είναι εύλογο ότι ποικιλίες μελισσών ικανές να το αντιμετωπίζουν έχουν μικρότερη θνησιμότητα από ιογενείς ασθένειες.

- **Βιολογικές μέθοδοι αντιμετώπισης του *Varroa destructor* [30,32].** Συνεχίζοντας και εμπλουτίζοντας την προηγούμενη προσέγγιση, η αντιμετώπιση του παθογόνου ακάρεου επιτυγχάνεται μέσω βιολογικών και χημικών – βιοχημικών μεθόδων που αναλύονται στις αντίστοιχες παραγράφους.
- **Περιορισμός των επαφών μεταξύ διαφορετικών αποικιών [30,32].** Τα κρούσματα ιών είναι σημαντικά υψηλότερα σε περιοχές με μεγάλη συγκέντρωση αποικιών μέλισσας, όπως επίσης και άλλων συγγενικών ειδών (λχ βομβίνοι και σφήκες). Οι μελισσοουργοί μπορούν να το επιτύχουν ως εξής:
 - Οι επιτηρούμενες αποικίες διευθετούνται στον χώρο έτσι ώστε να έχουν διαφορετικό προσανατολισμό, να υπάρχουν μεγάλες αποστάσεις μεταξύ τους και, εφόσον είναι δυνατό, να εξολοθρεύονται γειτονικές αποικίες σφηκών.
- **Ορθές πρακτικές μελισσοουργών.** Αυτές περιλαμβάνουν [30,32]:
 - Προσεκτική εξέταση των κελιών γόνου και των πλαισίων ανάπτυξης κηρήθρας, έτσι ώστε να μη χρησιμοποιηθεί σε άλλη αποικία το εξάρτημα μιας ήδη μολυσμένης.
 - Σχολαστικός καθαρισμός και απολύμανση του εξοπλισμού, με έμφαση στη χρήση αλκοόλης.
 - Περιοδικοί προληπτικοί έλεγχοι σε δείγματα ενήλικων μελισσών και γόνου για την ανίχνευση ιών (με PCR).
 - Προσεκτική παρατήρηση της συμπεριφοράς των μελισσών, καθώς σημαντικές αλλαγές στα μοτίβα πετάγματος, στην πρόσληψη τροφής, στη φροντίδα του γόνου, στην αποβολή κοπράνων και στην επικοινωνία ίσως αποτελούν σημαντικές ενδείξεις κάποιας μόλυνσης.
 - Αντικατάσταση παλαιάς κηρήθρας. Συγκεκριμένα, προτείνεται η αντικατάσταση του 30% κάθε χρόνο και το παλαιό τμήμα καταστρέφεται με φωτιά. Έτσι μπορούν να καταστραφούν τυχόν αποικίες παθογόνων μικροοργανισμών και παγιδευμένων ικών σωματιδίων.
- **Χορήγηση κατάλληλων συμπληρωμάτων διατροφής [30,32].** Το ανοσοποιητικό και εν γένει η υγεία των μελισσών προάγεται μέσω πρόσληψης συμπληρωμάτων πλούσιων σε

βιταμίνες και ιχνοστοιχεία. Πρόκειται για μια προσέγγιση κοινή στην αντιμετώπιση όλων των παθογόνων.

- **Περιορισμός της επαφής με παρασιτοκτόνα [30,32].** Η συχνή χρήση παρασιτοκτόνων μπορεί να προκαλέσει τοξικά σύνδρομα στις μέλισσες, ακόμα και αν έχουν σχεδιαστεί ειδικά για την προστασία του μελισσιού από παθογόνους μικροοργανισμούς, ακάρεα και άλλα έντομα. Συνίσταται μόνο η αναγκαία χρήση.
- **Ενίσχυση της παραγωγής πρόπολης [30,32].** Οι διατάξεις πάνω στις οποίες αναπτύσσεται η αποικία (λχ τα πλαίσια) μπορούν να κατασκευάζονται με τραχιά εσωτερική επιφάνεια, προκειμένου να ωθούνται οι μέλισσες να την καλύψουν με μεγαλύτερη ποσότητα πρόπολης. Προς επίτευξη αυτού χρησιμοποιούνται ξύλινες επιφάνειες, οι οποίες χαράσσονται για καλύτερο αποτέλεσμα στην εσωτερική πλευρά. Η σημασία της πρόπολης έγκειται στην ικανότητά της να επάγει αυξημένη έκφραση σε ορισμένα γονίδια σχετικά με την ανοσολογική απόκριση, ενώ έχει και αντιμικροβιακή δράση ευρέως φάσματος.

4.1.2 Χημικές μέθοδοι

Το συγκεκριμένο πεδίο είναι εξαιρετικά περιορισμένο, καθώς δεν υπάρχουν φαρμακευτικά σκευάσματα για την αντιμετώπιση ιών. Ωστόσο, έχουν γίνει μελέτες για τη χρήση προϊόντων βιολογικής προέλευσης ως ήπια αντικά σχήματα, καθώς φαίνεται να ενισχύουν την ανοσολογική απόκριση των μελισσών.

- **Θυμόλη [30,32].** Η χορήγηση θυμόλης μέσω τροφής / νερού και σε συγκεντρώσεις 0.16 ppm μείωσε το ιικό φορτίο μελισσών μολυσμένων με DWV, εντούτοις τα δοσοεξαρτώματα πειράματα δεν έχουν συγκρίνει ακόμα σε κάποιο συγκεκριμένο εύρος δραστηκών συγκεντρώσεων.
- **Πρόπολη [30,32].** Όπως προαναφέρθηκε, η πρόπολη επάγει αυξημένη ανοσολογική απόκριση, οπότε χορηγείται μέσω τροφής ή χρησιμοποιείται ως επίχρισμα στις εσωτερικές επιφάνειες της κυψέλης.
- **Εκχυλίσματα μυκήτων [30,32].** Τα εκχυλίσματα ορισμένων ειδών μυκήτων, όπως τα *Ganoderma resinaceum* και *Fomes fomentarius*, μπορούν να χορηγούνται μέσω τροφής σε μικρές συγκεντρώσεις καθώς μειώνουν το ιικό φορτίο DWV και ιού λίμνης Σινάι (Lake Sinai virus). Ο βιοχημικός μηχανισμός δράσης παραμένει αδιευκρίνιστος.

- **Χημικές μέθοδοι αντιμετώπισης του *Varroa destructor* [30,32].** Όπως στις βιολογικές μεθόδους, έτσι κι εδώ μπορούν να συμπεριληφθούν οι χημικές μέθοδοι αντιμετώπισης του ακάρεου – φορέα.

4.2 Αντιμετώπιση της Αμερικανικής και της Ευρωπαϊκής σηψιγονίας

Τα παθογόνα που προκαλούν AFB και EFB ανήκουν μεν σε διαφορετικά είδη, αλλά η αντιμετώπιση των δύο ασθενειών βασίζεται στην εφαρμογή πολλών κοινών βιολογικών και χημικών – βιοχημικών μεθόδων, όπως επίσης στην τήρηση ορθών πρακτικών υγιεινής στη μελισσοουργία [33-35,44]. Ως εκ τούτου, οι μέθοδοι και πρακτικές αντιμετώπισης αναφέρονται σε ενιαία λίστα, όπου στις βιολογικές μεθόδους συμπεριλαμβάνονται και οι πρακτικές μελισσοουργών, ενώ στις χημικές αναφέρονται και μερικά αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται σε χώρες εκτός ΕΕ [33-35,44].

4.2.1 Βιολογικές μέθοδοι

- **Επιλεκτική αναπαραγωγή ποικιλιών μέλισσας ανθεκτικών στο βακτήριο [33-35,44].** Είναι αρκετά δύσκολο να εντοπιστούν ποικιλίες μελισσών με γενετικά χαρακτηριστικά ανθεκτικότητας προς το *Paenibacillus larvae larvae*, εντούτοις υπάρχουν διάφορες ποικιλίες που εκδηλώνουν αποτελεσματικότερες πρακτικές υγιεινής όπως οι ευαίσθητες σε *Varroa* (*Varroa sensitive hygiene*, VSH). Τέτοιες μέλισσες επιτηρούν συχνά τον γόνο και απομακρύνουν γρήγορα το μολυσμένο περιεχόμενο κελιών, καθώς μπορούν ν' ανιχνεύουν ευκολότερα από άλλες μέλισσες τα πρώιμα σημάδια μόλυνσης.
- **Απομάκρυνση όλου του γόνου [33-35,44].** Είναι μια σχετικά επικίνδυνη μέθοδος, όπου μόλις ανιχνευτεί έστω κι ένα μολυσμένο κελί απομακρύνεται προληπτικά όλος ο γόνος και,

ακολουθώς, παρέχεται στις ενήλικες μέλισσες καινούριο υλικό για να φτιάξουν εκ νέου το μεγαλύτερο μέρος της αποικίας τους. Είναι εύλογο πως υπάρχει άμεσος κίνδυνος για την αποικία, καθώς ο λανθασμένος χειρισμός μπορεί να οδηγήσει σε κατάρρευση.

- **Χορήγηση προβιοτικών βακτηρίων μέσω τροφής [33-35,44].** Πολλά είδη και στελέχη προβιοτικών βακτηρίων μπορούν ν' αναπαράγονται στο πεπτικό σύστημα της μέλισσας όντας μη – παθογόνα, ενώ δρουν ανταγωνιστικά προς τ' αναπτυσσόμενα *Paenibacillus larvae larvae*. Συγκεκριμένα, βιοσυνθέτουν και εκκρίνουν προϊόντα όπως λιπαρά οξέα, χαμηλές συγκεντρώσεις υπεροξειδίου του υδρογόνου αποθηκευμένου σε κυστίδια υπεροξυσωμάτων και βακτηριοκτόνες πρωτεΐνες χάρις στα οποία σκοτώνουν τόσο τις βλαστικές μορφές του παθογόνου, όσο και μέρος των ενδοσπορίων του.
- **Απομόνωση και χορήγηση βακτηρίων από το πεπτικό σύστημα μελισσών [33-35,44].** Η συγκεκριμένη προσέγγιση είναι προέκταση, ουσιαστικά, της προηγούμενης, καθώς ο πεπτικός σωλήνας των μελισσών περιέχει πληθώρα μικροβιακών ειδών αναγκαίων για την υγεία, τον καταβολισμό τροφής και την ανοσολογική απόκριση, με κυριότερα παραδείγματα τα βακτήρια γαλακτικού οξέος (lactic acid bacteria, LAB). Τα γένη στα οποία ανήκουν τα περισσότερα τέτοια ωφέλιμα βακτήρια είναι *Brevibacillus*, *Stenotrophomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Lactobacillus* και *Bifidobacterium*.
- **Ορθές πρακτικές μελισσοουργών.** Αυτές περιλαμβάνουν [33-35,44]:
 - Πολλά στάδια αποστείρωσης των εργαλείων. Τα ενδοσπόρια είναι εξαιρετικά ανθεκτικά, οπότε εκτός της απολύμανσης με αλκοολούχα αντισηπτικά ή/και αραιά διαλύματα υποχλωριώδους νατρίου συνίσταται και η χρήση UV όπου είναι εφικτό.
 - Τακτική αντικατάσταση παλαιάς κηρήθρας, ιδίως αν εμφανιστούν σκουρόχρωμα στίγματα. Μία φορά εντός τριετίας, πλήρης αντικατάσταση όλης της κηρήθρας.
 - Αποφυγή χρήσης παλαιών πλαισίων, ιδίως αν προέρχονται από αποικίες που κατέρρευσαν.
 - Τακτικοί εργαστηριακοί έλεγχοι, κυρίως προς το μέσον και το τέλος της χρονιάς.
 - Λεπτομερής επιθεώρηση των πλαισίων με κελιά γόνου. Αυτή η ενέργεια είναι ιδιαίτερα σημαντική κατά την άνοιξη, όπου σε αρκετά μελίσσια γίνονται παρεμβάσεις μελισσοουργών όπως λχ προσθήκη πατωμάτων, ανταλλαγή γόνου και κηρήθρας.

- Απομόνωση νέων μελισσιών σε καραντίνα για όλη τη μελισσοκομική περίοδο. Αυτό γίνεται κυρίως για μελίτσια που δεν έχουν ξεκάθαρο ιστορικό προέλευσης και τυχόν ασθενειών.
- Έλεγχος των κελιών κατά τη διάρκεια του τρυγητού.
- **Αντιμετώπιση αποικίας με υψηλό επίπεδο μόλυνσης.** Τα ενδοσπόρια του *Paenibacillus larvae larvae* είναι ιδιαίτερα ανθεκτικά τόσο σε υψηλές θερμοκρασίες όσο και προς αρκετά απολυμαντικά. Συνεπώς, γι' αποικίες με υψηλό επίπεδο μόλυνσης και μεγάλο μέρος του γόνου νεκρό εφαρμόζονται πρακτικές όπως [33-35,44]:
 - Αποτέφρωση του μελισσιού. Οι μέλισσες θανατώνονται την προηγούμενη νύχτα, το δε μελίτσια μεταφέρεται σε βαθύ λάκκο όπου καίγεται. Ακολούθως, η στάχτη και τα υπολείμματα θάβονται έτσι ώστε να μην είναι εύκολη η εκταφή τους από ζώα.
 - Προσεκτική απομάκρυνση και αποτέφρωση κηρήθρων με νεκρό γόνο.
- **Απολύμανση κυψελών και ξύλινων τμημάτων.** Τέτοιες μέθοδοι περιλαμβάνουν [33-35,44]:
 - Χρήση φλόγιστρου στην επιφάνεια της κυψέλης και των ξύλινων τμημάτων, συχνά μέχρι να παρατηρηθεί καστανό χρώμα. Είναι μια αποτελεσματική πλην χρονοβόρα μέθοδος.
 - Ξηρή θέρμανση. Τα ξύλινα και μεταλλικά μέρη της κυψέλης εισάγονται σε ειδικούς φούρνους, όπου αναπτύσσονται θερμοκρασίες τέτοιες που να μην προκαλούν φθορές στα υλικά αλλά είναι εκτός του εύρους αντοχής των ενδοσπορίων (>70°C).
 - Υγρή θέρμανση. Οι κυψέλες βυθίζονται σε καζάνι με βραστό νερό, συχνά μαζί με χημικά που ενισχύουν την απολυμαντική δράση, για 15 – 20 min.
 - Απολύμανση σε λουτρό Javel. Η μολυσμένη κηρήθρα βυθίζεται σε υδατικό διάλυμα Javel 2 χλωρομετρικών μονάδων (Javel water neutral Fl 2).
 - Απολύμανση σε λουτρό παραφίνης θερμοκρασίας 1600 °C για 10 min.
 - Απολύμανση σε λουτρό καυστικής σόδας. Συγκεκριμένα, η κυψέλη βυθίζεται για 15 min σε διάλυμα καυστικής σόδας 0.5- 1% w/w και θερμοκρασίας 600 °C. Απαιτείται ειδικός εξοπλισμός, καθώς το διάλυμα είναι ισχυρά διαβρωτικό.
 - Αποστείρωση με ακτινοβολία UV και γ. Ιδίως στην περίπτωση των ακτινών γ απαιτούνται ειδικές εγκαταστάσεις και η μέθοδος είναι ακριβή.

4.2.2 Χημικές – βιοχημικές μέθοδοι

- **Χορήγηση συνθετικών φαρμάκων [33-35,44].** Οι Κανονισμοί (ΕΚ) 470/2009 και (ΕΕ) 37/2010 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου δεν αναφέρονται σε ανώτατα επιτρεπτά επίπεδα καταλοίπων συνθετικών φαρμάκων στα προϊόντα μελιού, συνεπώς απαγορεύεται η χρήση τέτοιων σκευασμάτων στις εργασίες μελισσοουργίας.
 - Ωστόσο, ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο αντιβιοτικό εκτός ΕΕ είναι το oxytetracycline που διατίθεται με τις εμπορικές ονομασίες Oxytet, Oxysol και Terramycin, με συνηθέστερη συγκέντρωση 55 mg δραστικής ουσίας / g τελικού φαρμάκου.
- **Αιθέρια έλαια φυτών [33-35,44].** Τα αιθέρια έλαια ορισμένων φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών περιέχουν ενώσεις με αντιμικροβιακή δράση ευρέως φάσματος και μπορούν να χορηγούνται στις μέλισσες μέσω τροφής, σε μικρές συγκεντρώσεις.
 - Παραδείγματα τέτοιων φυτών είναι τα *Cinnamomum zeylanicum*, *Cuminum cyminum*, *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus cinerea*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha piperita*, *Minthostachys verticillata*, *Origanum majorana*, *Origanum vulgare*, *Polygonum bistorta*, *Salvia officinalis*, *Salvia sclarea*, *Syzygium aromaticum*, *Tagetes minuta*, *Thymus vulgaris*, *Mentha arvensis L.*, *Mentha spicata L.*, *Illicium* και *Pelargonium graveolens L.*
- **Φυτικά εκχυλίσματα [33-35,44].** Τα προαναφερθέντα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, που χρησιμοποιούνται για παραγωγή αιθέριων ελαίων (μέσω υδραπόσταξης), μπορούν ν' αξιοποιηθούν και για την παρασκευή εκχυλισμάτων με ανάλογη ή ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση. Τα εκχυλίσματα μπορούν να είναι υδατικά ή αλκοολούχα και ν' αξιοποιούν τη συνολική μάζα του φυτού ή, συχνότερα, μέρος του όπως το ρίζωμα, τα φύλλα ή ο καρπός. Χορηγούνται μέσω της τροφής.
- **Πρόπολη [33-35,44].** Οι μέλισσες παράγουν πρόπολη αξιοποιώντας φυτικές ρητίνες ως πρώτες ύλες και τη χρησιμοποιούν τόσο για να σφραγίζουν τμήματα της αποικίας, όσο και σαν άμυνα έναντι πληθώρας παθογόνων. Η σύσταση της φαινόλης επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, αλλά τυπικά περιέχει πολυφαινόλες (φλαβονοειδή και φαινολικά), τερπενοειδή και στεροειδή, ενώ χαρακτηρίζεται από αντιμικροβιακή δράση ευρέως φάσματος και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Η χορήγηση επιπλέον πρόπολης μέσω τροφής ενισχύει τις μέλισσες, ιδίως όταν η παραγωγή της είναι περιορισμένη.

- **Βασιλικός πολτός [33-35,44].** Πρόκειται για την κύρια πηγή τροφής του γόνου βασίλισσας και παράγεται στους υποφαρυγγικούς αδένες των μελισσών – εργατριών. Τα κύρια συστατικά του είναι υδατάνθρακες, πεπτίδια, πρωτεΐνες, λιποσωμάτια και ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους. Οι βιολογικές δράσεις οφείλονται κυρίως στα πεπτίδια (όπως ένζυμα) και στις ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, με χαρακτηριστικό παράδειγμα το φυσικό αντιβιοτικό ευρέως φάσματος 10-υδροξυ-Δ2-δεκενοϊκό οξύ (10-hydroxi-Δ2-decenoic acid). Η χορήγηση βασιλικού πολτού μέσω τροφής ενισχύει την ανοσολογική απόκριση των μελισσών και προσφέρει στον γόνο πολύτιμες θρεπτικές ύλες μαζί με αντιμικροβιακούς παράγοντες.
- **Χημικά χαμηλής τοξικότητας [33-35,44].** Υπάρχουν διάφορες συνθετικές και φυσικές ενώσεις που μπορούν να χορηγηθούν μέσω τροφής στις μέλισσες, όπως η μονολαυρική γλυκερίνη (glycerol monolaurate) και τα εκχυλίσματα λιπαρών οξέων από μύκητες γένους *Ascospaera apis*, οι οποίες εκδηλώνουν αντιβακτηριδιακή δράση. Ωστόσο, τέτοιες μη-συμβατικές προσεγγίσεις αντιμετωπίζονται ενίοτε με επιφυλάξεις καθώς δεν είναι σαφής η επίπτωση τυχόν υπολειμμάτων στα προϊόντα μελιού, ενώ στις περιπτώσεις προϊόντων από ήδη γνωστούς παθογόνους μικροοργανισμούς χρειάζονται προσεκτικές μελέτες πριν την εφαρμογή.

4.3 Αντιμετώπιση του *Ascospaera apis*

Στις βιολογικές μεθόδους θα συμπεριληφθούν και πρακτικές μελισσοουργίας, ενώ οι χημικές – βιοχημικές μέθοδοι αφορούν τη χρήση φαρμακευτικών σκευασμάτων και προϊόντων βιολογικής προέλευσης.

4.3.1 Βιολογικές μέθοδοι

- **Επιλεκτική αναπαραγωγή ποικιλιών μέλισσας ανθεκτικών ως προς τον μύκητα [18,45,46,52].** Πρόκειται για μια προσέγγιση κοινή στην αντιμετώπιση σχεδόν κάθε παθογόνου, η οποία στοχεύει στη διαβίβαση από γενιά σε γενιά και στην ενίσχυση επιθυμητών ιδιοτήτων. Τέτοια παραδείγματα είναι ορισμένα γονίδια που σχετίζονται με την ανοσολογική απόκριση ή την αυξημένη παραγωγή αντιμικροβιακών παραγόντων στο μέλι και στην τροφή γόνου, όπως επίσης οι πρακτικές υγιεινής που εφαρμόζουν οι ενήλικες μέλισσες.
 - Οι γόννοι της *Ascospaera mellifera ligustica* είναι πιο ανθεκτικοί από τους αντίστοιχους άλλων ποικιλιών μελισσών.
- **Ορθές πρακτικές μελισσοουργών [18,45,46].** Σε αυτές περιλαμβάνονται:
 - Επιτήρηση της αποικίας για νεκρό γόνο κοντά στις εισόδους, στο κυτίο της κυψέλης και στον περιβάλλοντα χώρο.

- Παρακολούθηση των κελιών για νεκρό γόνο.
 - Τακτική λήψη δειγμάτων για εργαστηριακό έλεγχο κάθε άνοιξη.
 - Χορήγηση κατάλληλων διατροφικών συμπληρωμάτων (πχ βιταμίνες, ιχνοστοιχεία) κατά τους χειμερινούς και εαρινούς μήνες.
 - Σχολαστικός καθαρισμός και απολύμανση του εξοπλισμού.
 - Θερμική κατεργασία του αποθηκευμένου μελιού σε υδρόλουτρα θερμοκρασίας 65 – 70 °C για 8 h, καθώς έτσι εξολοθρεύονται τα υψηλής και μακροχρόνιας ανθεκτικότητας σπόρια.
 - Αποφυγή έκθεσης της αποικίας σε υψηλές θερμοκρασίες.
 - Τακτική αλλαγή πλαισίου και μερικών κηρήθρων ανά έτος.
 - Απολύμανση του κυτίου κυψέλης πριν την εγκατάσταση νέας αποικίας.
- **Τήρηση προληπτικών μέτρων και βιολογικών μεθόδων για την αντιμετώπιση άλλων παθογόνων [18,45,46].** Το *Ascosphaera apis* από μόνο του δεν οδηγεί στην κατάρρευση αποικίας, ωστόσο η συν-νοσηρότητα με άλλο παθογόνο ικανό να μολύνει ενήλικες μέλισσες συνιστά εξαιρετικά επικίνδυνο σενάριο.

4.3.2 Χημικές – βιοχημικές μέθοδοι

- **Φυτικά παράγωγα [18,45,46].** Εκχυλίσματα ανθέων, φύλλων, ριζώματος ή ολόκληρου του φυτού είναι μερικές πολλά υποσχόμενες εναλλακτικές ως προς τα συνθετικά σκευάσματα.
 - Αιθέρια έλαια που περιέχουν κιτράλη (citral), γερανιόλη (geraniol) και κιτρονελλάλη (citronellal) μπορούν να χορηγούνται μέσω τροφής ως προληπτικό μέτρο προστασίας.
- **Δευτερογενείς μεταβολίτες μικροοργανισμών [18,45,46].** Μερικά είδη μυκήτων όπως εκείνα του γένους *Penicillium* παράγουν πεπτίδια με αντιβιοτική δράση, ενώ άλλα συνθέτουν λυσοζύμη, ένα ένζυμο που καταλύει την υδρόλυση κυτταρικού τοιχώματος και ανθεκτικών μεμβρανών περιβλήματος πολλών μικροβίων.
- **Συνθετικά μυκητοκτόνα [18,45,46].** Αποτελούν τη συνηθέστερη προσέγγιση για την αντιμετώπιση προχωρημένης μόλυνσης, ωστόσο η εκτεταμένη τους χρήση μπορεί να

προκαλέσει τοξικά σύνδρομα και στις μέλισσες. Ακολουθούν παραδείγματα μυκητοκτόνων με τις περισσότερες και συχνότερες εφαρμογές στη μελισσοουργία.

- Propiconazole. Η μυκητοκτόνος δράση οφείλεται κυρίως στην ομάδα τριαζόλης που περιέχει το μόριο.
- Boscalid. Η μυκητοκτόνος δράση οφείλεται κυρίως στην ομάδα καρβοξιμιδίου.
- Chlorothalonil. Η μυκητοκτόνος δράση οφείλεται κυρίως στην ομάδα χλωρονιτριλίου.
- Pyraclostrobin. Η μυκητοκτόνος δράση οφείλεται κυρίως στην ομάδα στροβιλουρίνης (strobilutin).
- Iprodione. Η μυκητοκτόνος δράση οφείλεται κυρίως στην ομάδα δικαρβοξιμιδίου.
- Prochloraz. Η μυκητοκτόνος δράση οφείλεται κυρίως στην ομάδα ιμιδαζόλης.
- Myclobutanil. Η μυκητοκτόνος δράση οφείλεται κυρίως στην ομάδα τριαζόλης.
- Organocide® BEE SAFE. Ένα συνθετικό μυκητοκτόνο σχετικά χαμηλής τοξικότητας, σχεδιασμένο για εφαρμογές μικρής και μεσαίας, κυρίως, κλίμακας.

4.4 Αντιμετώπιση των ειδών *Nosema*

Στις βιολογικές μεθόδους αντιμετώπισης των *Nosema apis* και *Nosema ceranae* θα συμπεριληφθούν και οι συχνότερα εφαρμοζόμενες πρακτικές μελισσοουργίας, ενώ στις χημικές – βιοχημικές μεθόδους αναφέρονται όσες βασίζονται στη χρήση συνθετικών

σκευασμάτων, φαρμάκων, χημικών χαμηλής τοξικότητας και προϊόντων βιολογικής προέλευσης.

4.4.1 Βιολογικές μέθοδοι

- **Εισαγωγή τμημάτων RNA στην τροφή μελισσών [57].** Η μέθοδος προσφέρει τη δυνατότητα ενεργοποίησης διεργασιών παρεμβολής RNA (RNA interference, RNAi) στις μέλισσες, ενός μηχανισμού μετα-μεταγραφικής απενεργοποίησης γονιδίων σε παθογόνους μικροοργανισμούς από το ανοσοποιητικό σύστημα της μέλισσας. Συγκεκριμένα, οι μέλισσες λαμβάνουν καθημερινά μικρές δόσεις συνθετικού RNA αραιωμένου σε σιρόπι σακχάρων, το οποίο είναι πανομοιότυπο με το αντίστοιχο που φυσιολογικά κωδικοποιεί τη σύνθεση πρωτεϊνών των *Nosema*, όπως οι μεταφορείς ATP/ADP. Το ανοσοποιητικό της μέλισσας έχει έρθει ήδη σε επαφή με το συγκεκριμένο τμήμα RNA, οπότε μπορεί να το αναγνωρίζει όταν μολυνθεί ο οργανισμός και να το στοχεύει επιλεκτικά πριν προλάβει το πρωτόζωο να συνθέσει τις αναγκαίες του πρωτεΐνες. Εν ολίγοις, η μέθοδος αποτελεί μια μορφή εμβολιασμού. Βασικό μειονέκτημα είναι ότι τα πεπτικά ένζυμα της μέλισσας και οι συνθήκες pH στον πεπτικό σωλήνα διασπών σημαντικό μέρος του συνθετικού RNA.
- **Επιλεκτική αναπαραγωγή μελισσών ανθεκτικών ως προς τα *Nosema* [50,56,58,59].** Είναι μια μέθοδος κοινή για την αντιμετώπιση σχεδόν οποιουδήποτε παθογόνου, καθώς υπάρχουν ποικιλίες μελισσών που είτε ανέπτυξαν ορισμένες διαδικασίες υγιεινής είτε διαθέτουν (λόγω φυσικής επιλογής) αποτελεσματικότερη ανοσολογική απόκριση για συγκεκριμένα μικρόβια.
- **Ορθές πρακτικές μελισσοουργών.** Σε αυτές περιλαμβάνονται [50,56,58,59]:
 - Διαρκή επιτήρηση των χρησιμοποιούμενων πηγών νερού και πρόληψη της μόλυνσης από ύλη κοπράνων και νεκρές μέλισσες.
 - Καταστροφή κηρήθρας με συσσωρευμένα κόπρανα.
 - Τακτικοί εργαστηριακοί έλεγχοι στην αρχή κάθε φθινοπώρου σε δείγματα συλλεγμένης γύρης, τεμαχιδίων κηρήθρας και εκκρίσεων από μέλισσες (λχ οπτική μικροσκοπία και PCR).
 - Ενίσχυση της αποικίας με χορήγηση κατάλληλων διατροφικών συμπληρωμάτων (πχ βιταμίνες) κατά τους φθινοπωρινούς και εαρινούς μήνες.

- Αποφυγή χρήσης τεμαχίων κηρήθρας από εγκαταλελειμμένες αποικίες.
 - Τακτική απολύμανση εξοπλισμού με θέρμανση (άνω των 60 °C αδρανοποιούνται τα σπόρια *Nosema*), απολύμανση δια καπνού της κηρήθρας χρησιμοποιώντας παγόμορφου (glacial) οξικό οξύ, διάλυμα 5% w/w καυστικής σόδας ή 1.65% w/w διάλυμα αμμωνίας.
 - Αντικατάσταση της βασίλισσας κάθε 2 χρόνια, με εξαίρεση εκείνες που κρίνονται υψηλής γενετικής αξίας.
 - Διατήρηση καινούριας αποικίας ξεχωριστά από τις υπόλοιπες για τουλάχιστον έναν μήνα, ώστε να διευκολυνθεί ο έλεγχός της για τυχόν ασθένειες και ν' αποφευχθεί η μετάδοσή τους.
 - Απολύμανση του κυτίου κυψέλης πριν την εγκατάσταση νέας αποικίας.
 - Ανανέωση κατά 30% της συνολικής κηρήθρας κάθε χρόνο.
 - Περιορισμός του στρες για τις μέλισσες, πχ με λιγότερες επιθεωρήσεις κατά τους χειμερινούς μήνες και με αραιότερη χρήση καπνού.
- **Βιολογικές μέθοδοι αντιμετώπισης του *Varroa destructor* [50,56,58].** Δεδομένου πως το επικίνδυνο ακάρι είναι φορέας των *Nosema*, είναι εύλογο πως οι βιολογικοί τρόποι αντιμετώπισής του προσφέρουν και στον περιορισμό μολύνσεων από τους δύο μύκητες.

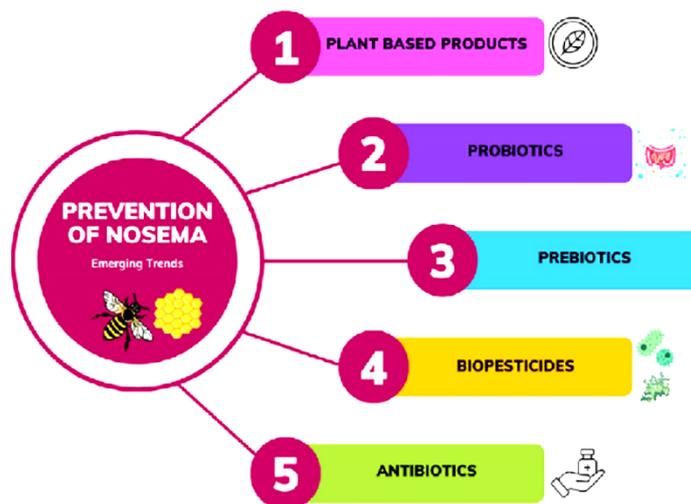
4.4.2 Χημικές – Βιοχημικές μέθοδοι

- **Απολύμανση [53,56,58,59].** Ο εξοπλισμός και τμήματα του κυτίου κυψέλης (χωρίς ζωντανή αποικία εντός) πρέπει ν' απολυμαίνονται σχολαστικά με χρήση απολυμαντικών, μέσω θερμικής κατεργασίας και έκθεσης σε ακτινοβολία UV.
 - Τ' απολυμαντικά συχνά περιέχουν 70% v/v αιθανόλη, φορμαλδεΰδη, φαινολικές ενώσεις, υπεροξείδιο του υδρογόνου και επαμφοτερίζουσες επιφανειοδραστικές ουσίες.
 - Ειδικά για τα σπορίδια *Nosema ceranae* χρησιμοποιούνται διαλύματα αμμωνίας, υποχλωριώδους νατρίου ή εμπορικά αλκοολούχα σκευάσματα όπως το Mycoplasma OFFTM.
 - Τα σπορίδια του *Nosema ceranae* επιζούν στους 60 °C για 6 h, ενώ του *Nosema apis* μόλις για 5 min στις ίδιες συνθήκες.

- Η UV είναι αποτελεσματική, αλλά απαιτείται παρατεταμένη έκθεση του εξοπλισμού.
- **Χορήγηση αντιβιοτικών [53,56,58,59].** Δεδομένου πως οι μέλισσες παράγουν βρώσιμα προϊόντα, η χρήση αντιβιοτικών πρέπει να γίνεται με κριτήρια αφενός την αντιμετώπιση των μυκήτων και αφετέρου τον αντίκτυπο στη σύσταση του μελιού, του βασιλικού πολτού και του μίγματος πρόπολης. Παλαιότερα χρησιμοποιούνταν εκτενώς το fumagillin, που χορηγούνταν μία φορά το φθινόπωρο μέσω της τροφής ή δύο φορές τον χρόνο, κατά το φθινόπωρο και την άνοιξη προς αντιμετώπιση μολύνσεων υψηλού επιπέδου.
 - Το fumagillin διατίθεται εμπορικά σε σιρόπι και σε μικροκρυσταλλικό κονίαμα (ως άλας της δικυκλοεξилаμίνης, DCH). Ως επί το πλείστον, χορηγούνταν 120 mg fumagillin / αποικία στη μορφή 62.5 mL σιροπιού ανά εφαρμογή, ενώ αργότερα επικράτησε ο συνδυασμός του με σιρόπι σουκρόζης για ευκολότερη κατανάλωση από τις μέλισσες. Βασικά μειονεκτήματα είναι η συσσώρευση καταλοίπων στο μέλι γι' αρκετούς μήνες και ο κίνδυνος ανάπτυξης ανθεκτικότητας από τα πρωτόζωα, ενώ το αντίστοιχο άλας με DCH αποδείχθηκε ισχυρά τοξικό και καρκινογόνο οπότε απαγορεύτηκε. Η χρήση του σιροπιού επιτρέπεται στη ΕΕ υπό συνθήκες, ενώ σε χώρες όπως ο Καναδάς και οι ΗΠΑ υφίσταται πιο χαλαρό νομικό πλαίσιο. Επίσης, διαπιστώθηκε ότι σε υψηλές θερμοκρασίες (λχ καύσωνα) σημαντικό μέρος του αντιβιοτικού διασπάται εντός λίγων ωρών.
 - Άλλες δοσολογίες: Το fumagillin κυκλοφορεί σε νέα φαρμακευτικά σκευάσματα με την ονομασία Fumidil B, συχνά με συγκέντρωση 3 mg δραστικής ουσίας ανά 100 mL σιροπιού. Σε χαμηλά επίπεδα μόλυνσης χορηγούνται σταδιακά κατά τους φθινοπωρινούς μήνες περί τα 6 L σιροπιού, αραιωμένου στο μισό που περιέχουν 150 mg αντιβιοτικού, σε κάθε μελίσι. Σε υψηλά επίπεδα μόλυνσης συνηθίζεται να χορηγούνται σε κάθε μελίσι 200 – 1000 mL σιροπιού που περιέχουν 6 – 30 mg αντιβιοτικού. Η χορήγηση της υψηλής δοσολογίας επαναλαμβάνεται 4 φορές / εβδομάδα.
- **Φυτικά παράγωγα [53,56,58,59].** Σημαντικές πηγές βιοδραστικών ουσιών είναι τ' αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, τα οποία παρέχουν βιώσιμες εναλλακτικές στα συνθετικά σκευάσματα κι αφήνουν ελάχιστα, μη-τοξικά υπολείμματα στα προϊόντα μελιού. Αιθέρια έλαια, υδρολύματα υδραπόσταξης φυτών και σκευάσματα συγκεκριμένων φυτικών μεταβολιτών χορηγούνται σε χαμηλές συγκεντρώσεις με την τροφή.

- Η θυμόλη και η ρεσβερατρόλη συγκαταλέγονται στους σημαντικότερους φυτικούς μεταβολίτες για την αντιμετώπιση των *Nosema*, καθώς φαίνεται να παρουσιάζουν αντιβιοτική δράση.
 - Συμπληρώματα διατροφής με ομογενοποιημένα ύλης βοτάνων όπως *Brassica nigra* και *Eruca sativa* εμφάνισαν δράση αναστολής του πολλαπλασιασμού επιλεκτικά για το *Nosema ceranae*.
 - Ενθαρρυντικά αποτελέσματα λήφθηκαν και κατά τη χρήση εκχυλισμάτων *Agaricus blazei*, *Andrographis paniculate*, ειδών της οικογένειας Asteraceae (*Artemisia dubia*, *Aster scaber*, *Helianthus annuus*) και *Eleuthereococcus senticosus*. Εντούτοις, για τα συγκεκριμένα απαιτούνται περισσότερες εργαστηριακές δοκιμές προς ακριβή προσδιορισμό της βιολογικής τους δράσης.
 - Η πιπερίνη (piperine), ένα αλκαλοειδές που απομονώνεται από το ρίζωμα φυτών της οικογένειας *Piperaceae*, και η κουρκουμίνη (μια φαινολική ένωση που βιοσυντίθεται από το είδος *Curcuma longa*) συγκέντρωσαν αρκετό ερευνητικό ενδιαφέρον λόγω της ισχυρής αντιοξειδωτικής δράσης και των αντιβιοτικών τους ιδιοτήτων.
 - Αλκοολικά εκχυλίσματα των *Laurus nobilis*, *Origanum vulgare* και *Rosmarinus officinalis* (0.7% g/g) μείωσαν τον αριθμό σπορίων και των δύο μυκήτων χωρίς να εκδηλώσουν τοξικότητα στις μέλισσες, γεγονός ενδεικτικό της επιλεκτικής κυτταροτοξικής τους δράσης προς τα *Nosema*.
- **Nozevit [53,56,58,59]**. Πρόκειται για φαρμακευτικό παρασκεύασμα που συνδυάζει φυτικές πολυφαινόλες, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία και αμινοξέα. Ιστολογικές μελέτες σε μέλισσες έδειξαν πως το Nozevit επάγει την αυξημένη παραγωγή βλέννας από τον πεπτικό επιθηλιακό ιστό, δημιουργώντας έτσι έναν πρόσθετο φραγμό προστασίας της εξωκυττάριας μήτρας από τα σπόρια *Nosema*. Ως μέτρο σύγκρισης (δείγματα control) χρησιμοποιήθηκαν μέλισσες που λάμβαναν fumagillin και, πράγματι, δείχθηκε πως η χορήγηση του Nozevit περιόρισε σημαντικά την εξάπλωση *Nosema ceranae* εντός της αποικίας.
 - **Nosestat [53,56,58,59]**. Πρόκειται για διάλυμα 4 g στοιχειακού ιωδίου και 5 g φορμικού οξέος σε 80-100 mL μίγματος βοηθητικών ουσιών. Διατίθεται σε πακέτο με ξεχωριστά αποθηκευμένα τα συστατικά, τα οποία ανακατεύει ο μελισσοουργός προς δημιουργία stock διαλύματος. Από αυτό μπορεί να χρησιμοποιήσει όσο απαιτείται (ανάλογα με το επίπεδο μόλυνσης) αφού πρώτα το αραιώσει σε μεγάλο όγκο (λίτρα) ζαχαρούχου νερού.

- **Μεταβολίτες βακτηρίων [56,58].** Οι πρωτεΐνες που βιοσυνθέτουν και απελευθερώνουν ορισμένα βακτήρια, όπως τα κατά Gram αρνητικά είδη της οικογένειας *Acetobacteraceae*, μπορούν να εμφανίσουν επιλεκτική κυτταροτοξική δράση για τα *Nosema*.
 - Σημαντικά παραδείγματα είναι οι βακτηριακές σουρφακτίνες (surfactin), οι οποίες αναστέλλουν την εισχώρηση των μυκήτων στην επιθηλιακή μήτρα και παράλληλα επιταχύνουν την αποδόμηση του εξωτερικού περιβλήματος των σποριδίων.
 - Οργανικά οξέα από το βακτήριο *Lactobacillus johnsonii* CRL1647 (μίγμα γαλακτικού, φαινυλο-γαλακτικού και οξικού οξέος) φάνηκε να ενισχύουν τη δράση του αντιβιοτικού fumagillin.
 - Πολυσακχαρίτες όπως οι β-γλυκάνες (ομο-πολυμερή της γλυκόζης) δρουν ρυθμιστικά στην ανοσολογική απόκριση των μελισσών, ενισχύοντας την αντιμετώπιση των παθογόνων. Ενδεικτικό παράδειγμα είναι η βακτηριακή πολυ-σακχαριδική κυτοζάνη που διεγείρει την ανοσολογική απόκριση έναντι του *Nosema apis*.
- **Οργανικά οξέα [53,56,58,59].** Χαμηλές συγκεντρώσεις οργανικών οξέων όπως το οξαλικό χορηγήθηκαν μέσω τροφής σε μολυσμένες μέλισσες και παρατηρήθηκε αυξημένη βιωσιμότητα, συγκριτικά με όσες δεν έλαβαν κάποιο σκεύασμα. Σημειωτέον πως οι μέλισσες είχαν μολυνθεί με το ισχυρότερα παθογόνο *Nosema ceranae*. Μειονέκτημα της συγκεκριμένης προσέγγισης είναι η πιθανή τοξική δράση του οργανικού οξέος, είτε χορηγείται μακροπρόθεσμα σε μικρές συγκεντρώσεις είτε χορηγηθεί σε λίγες δόσεις υψηλής συγκέντρωσης.
- **Χημικές μέθοδοι αντιμετώπισης *Varroa destructor* [53,56,58].** Εφόσον το ακάρι είναι φορέας των *Nosema*, οι αντίστοιχες χημικές μέθοδοι αντιμετώπισης συνδράμουν και στον έλεγχο των μολύνσεων από τους μύκητες.



Σχήμα 15: Βασικές προσεγγίσεις στην αντιμετώπιση μόλυνσης από *Nosema* με χημικές μεθόδους. Πηγή: [56]

4.5 Αντιμετώπιση του *Varroa destructor*

Στην καταπολέμηση του εξαιρετικά επικίνδυνου αυτού εξω-παρασίτου έχουν επιστρατευτεί βιολογικές και χημικές - βιοχημικές μέθοδοι, όπως επίσης και μελισσοτεχνικές πρακτικές.

4.5.1 Βιολογικές μέθοδοι

Οι βιολογικές μέθοδοι ελέγχου και αντιμετώπισης του εξω-παρασίτου βασίζονται κυρίως στην ενίσχυση επιθυμητών βιολογικών ιδιοτήτων και μοτίβων συμπεριφοράς της μέλισσας όπως ισχυρή ανοσολογική απόκριση, αποτελεσματικότερες συμπεριφορές υγιεινής, μικρότερες χρονικοί περίοδοι ανάπτυξης προνυμφών αφού σφραγιστεί το κελί και διαμόρφωση της κυψελίδας έτσι ώστε να είναι αφιλόξενη για το ακάρι [50,60,65]. Όλες οι παραπάνω ιδιότητες μπορούν να εξασφαλιστούν μέσω επιλεκτικής αναπαραγωγής, ενώ πολλά υποσχόμενες δυνατότητες παρέχονται και από τις τεχνολογίες ανασυνδυασμού DNA. Άλλες βιολογικές μέθοδοι βασίζονται στη φυσιολογία των ακάρεων και εστιάζουν είτε στην παρεμπόδιση του κύκλου ζωής τους, είτε στη χρήση μικροοργανισμών για την παραγωγή τοξινών ικανών να σκοτώνουν επιλεκτικά τα *Varroa*. Πιο αναλυτικά:

- **Επιλεκτική αναπαραγωγή μελισσών ανθεκτικών ως προς το εξω-παρασίτο [50,60,65].**
Η ανθεκτικότητα μερικών ποικιλιών μελιτοφόρου μέλισσας ως προς το *Varroa* μπορεί να οφείλεται σε ισχυρότερη ανοσολογική απόκριση, διαφορετικές πρακτικές υγιεινής ή ακόμα και μοτίβα συμπεριφοράς εντός της αποικίας ή κατά την επικοινωνία. Σημαντικά σχετικά παραδείγματα είναι: **(1)** Ορισμένες ρωσικές ποικιλίες μελισσας, των οποίων ο μηχανισμός ανοσολογικής απόκρισης περιορίζει την ανάπτυξη ακάρεων, **(2)** μέλισσες ευαίσθητες σε *Varroa* (*Varroa sensitive hygiene, VSH*), που ανιχνεύουν γρήγορα τον μολυσμένο γόνο και τον απομακρύνουν εκτός αποικίας στ' αρχικά στάδια μόλυνσης, **(3)** ποικιλίες μελισσας ικανές ν' αναγνωρίζουν μεγάλα θηλυκά ακάρεα (ιδρύτριες) και να τις σκοτώνουν / τραυματίζουν.

- **Παγίδευση στον γόνο κηφήνων [50,60,65].** Η μέθοδος βασίζεται στην προτίμηση του εξω-παρασίτου στον γόνο κηφήνων. Μία ή δύο κηρήθρες κηφήνων τοποθετούνται σε κεντρικό σημείο της φωλιάς γόνων και, αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία σφραγίσματος, απομακρύνονται. Οι απώλειες σε γόνο κηφήνα είναι αρκετές, ωστόσο εξουδετερώνεται το μεγαλύτερο μέρος του μολυσματικού φορτίου. Σημειωτέον πως η μέθοδος είναι αποτελεσματική για χαμηλά επίπεδα μόλυνσης.
- **Παγίδευση στον γόνο εργατριών [50,60,65].** Η βασίλισσα περιορίζεται με θήκη κηρήθρας και εξαναγκάζεται σε ωοτοκία 18 ημερών με διαθέσιμες μονάχα δύο κηρήθρες. Έτσι, οι ιδρύτριες εισβάλλουν αναγκαστικά στα κελιά αυτών των δύο κηρήθρων για να ξεκινήσουν τη φάση αναπαραγωγής. Μόλις όμως σφραγιστούν τα μολυσμένα κελιά, οι δύο κηρήθρες απομακρύνονται και καταστρέφονται, ενώ η βασίλισσα είναι ελεύθερη να επαναλάβει αργότερα τον αναπαραγωγικό κύκλο υπό φυσιολογικές συνθήκες. Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι αποτελεσματικότερη από την παγίδευση στον γόνο κηφήνων, καθώς έτσι περιορίζεται αποτελεσματικότερα η εξάπλωση των ακάρεων, και έχει ως μοναδικό μειονέκτημα την καθυστερημένη ανάπτυξη του μελισσιού.
- **Ελαχιστοποίηση του εκτρεφόμενου γόνου κηφήνων [50,60,65].** Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με περιορισμό των κελιών γόνου κηφήνα και αντικατάσταση της βασίλισσας κάθε 1-2 χρόνια, καθώς οι αποικίες με νεαρή βασίλισσα έχουν μικρότερη τάση σηπουργίας και συνεπώς εκτρέφουν μικρότερο πληθυσμό κηφήνων.
- **Διαίρεση των μελισσιών πριν τη σηπουργία [50,60,65].** Η συγκεκριμένη πρακτική στοχεύει στον διαμοιρασμό του μολυσματικού φορτίου σε μικρότερα μέρη, δύο ή περισσότερες φορές μικρότερο ανά μέλισσι, προκειμένου να καταστεί δυσχερής η ανάπτυξη του παρασίτου και να εκδηλωθεί ασθενέστερη παθογόνος δράση.
- **Παγίδα γύρης [50,60,65].** Πρόκειται για μια συσκευή με πλαστικά ή μεταλλικά τμήματα, που τοποθετείται πλησίον της εισόδου για την αποικία κατά τρόπο τέτοιο ώστε να δυσκολεύει τη διέλευση μελισσών. Έτσι, οι μέλισσες που εισέρχονται στην αποικία εξαναγκάζονται ν' αφήνουν μέρος του φορτίου γύρης, το οποίο πέφτει σε ειδικό συλλέκτη μαζί με τυχόν ακάρεα. Από μόνη της δεν είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική μέθοδος, ωστόσο η εφαρμογή της μαζί με άλλες έχει θετικό αντίκτυπο στη βιωσιμότητα της αποικίας.
- **Θερμική κατεργασία κηρήθρας [50,60,65].** Πρόκειται για μια επικίνδυνη μέθοδο καθώς μπορεί εύκολα να οδηγήσει σε μεγάλες απώλειες μελισσών, ωστόσο εφαρμόζεται υπό

περιπτώσεις για την αντιμετώπιση μολύνσεων μικρού επιπέδου. Τα *Varroa* είναι λιγότερο ανθεκτικά από ενήλικες μέλισσες και γόνου σε θερμοκρασίες άνω των 34°C, ενώ στους 38°C τ' ακάρεα αρχίζουν να πεθαίνουν χωρίς αναπαραγωγή. Οι τεχνικές προκλήσεις εφαρμογής μιας τέτοιας προσέγγισης περιορίζουν τη βιωσιμότητά της.

- **Χρήση εντομοπαθογόνων μυκήτων [50,60,65].** Είδη μυκήτων όπως τα *Metarhizium anisopliae* και *Hirsutella thompsonii* εκδηλώνουν παθογόνο δράση σε διάφορα έντομα και αραχνοειδή, ακόμα και στα *Varroa*, ενώ δε βλάπτουν τις μέλισσες και δεν απελευθερώνουν τοξίνες στο μέλι.

4.5.2 Χημικές – βιοχημικές μέθοδοι

Οι χημικές και βιοχημικές μέθοδοι αντιμετώπισης του *Varroa* βασίζονται στη χρήση διαφόρων συνθετικών παρασκευασμάτων με παρασιτοκτόνες και δη ακαρεοκτόνες ιδιότητες, όπως επίσης και φαρμακευτικών σκευασμάτων τύπου χημειοθεραπείας εξειδικευμένης για μέλισσες. Πρόκειται για βιοδραστικά σκευάσματα με υψηλά ποσοστά επιτυχίας, εντούτοις βασικά τους μειονεκτήματα είναι η μακροπρόθεσμη τοξική δράση για τις μέλισσες, η εξελικτική προσαρμογή πληθυσμών ακάρεων σε αυτά προς ανάπτυξη ανθεκτικότητας και ο εντοπισμός καταλοίπων στα προϊόντα μελιού, που καταλήγουν τόσο στο οικοσύστημα όσο και στον άνθρωπο [50,60,65,66].

- **Παρασιτοκτόνα – ακαρεοκτόνα [50,60,65,66].** Οργανοφωσφορικά, παράγωγα φορμαμιδίνης (formamidine) και συνθετικά πυρεθροειδή (synthetic pyrethroids) είναι οι σημαντικότερες κατηγορίες χρησιμοποιούμενων παρασιτοκτόνων, ενώ παραδείγματα συγκεκριμένων δραστικών ουσιών είναι τα coumaphos, amitraz, flumethrin και fluvalinate.
 - **Amitraz.** Συγκαταλέγεται στα παράγωγα φορμαμιδίνης με τις περισσότερες εφαρμογές και το μεγαλύτερο εμπορικό ενδιαφέρον. Γενικώς, συντίθεται από ξυλένιο και άλλους υδρογονάνθρακες πετρελαίου και η χρήση του ξεκίνησε από το 1960. Από βιοχημική σκοπιά, δρα ως αγωνιστής του α-2 αδρενεργικού υποδοχέα στους νευρώνες των ακάρεων.
 - **Coumaphos.** Είναι ένας οργανοφωσφορικός αναστολέας του ενζύμου ακετυλοχολινεστεράση (AChE), το οποίο καταλύει την υδρόλυση ακετυλοχολίνης (ACh) προς χολίνη και οξικό οξύ. Φαρμακευτικά προϊόντα με δραστική ουσία το

coumarphos χρησιμοποιούνται παγκοσμίως προς εξουδετέρωση μολύνσεων τόσο με *Varroa destructor* όσο και διάφορα είδη ψείρας στις μέλισσες.

- **Χημειοθεραπευτικές προσεγγίσεις [50,60,65,66].** Ουσιαστικά πρόκειται για συνέχεια της προηγούμενης κατηγορίας, δηλαδή των παρασιτοκτόνων – ακαρεοκτόνων, ωστόσο αναφέρονται ως ξεχωριστή κατηγορία που περιλαμβάνει σκευάσματα ειδικά σχεδιασμένα ώστε να ελαχιστοποιείται η τοξική δράση προς τις μέλισσες. Μερικά σημαντικά παραδείγματα εγκεκριμένα από τον ΕΟΦ είναι:

- **Apistan.** Διατίθεται διεσπαρμένο σε ταινίες από PVC διαστάσεων 25 x 3 cm. Σε κάθε μέλισσι προστίθενται δύο ταινίες, στα κενά μεταξύ των πλαισίων στη φωλιά γόνου, όπου και παραμένουν για τέσσερις έως οκτώ εβδομάδες. Κατά τις τελευταία δεκαετία έχουν αυξηθεί παγκοσμίως κρούσματα *Varroa* ανθεκτικής ως προς το Apistan.
- **Perizin.** Διατίθεται σε φιαλίδια χωρητικότητας 10 ml. Στη χρήση τους, το περιεχόμενο κάθε φιαλιδίου αραιώνεται σε 500 ml νερού και με το διάλυμα ραντίζονται 30-50 ml σε κάθε αποικία.
- **Bayvarol.** Διατίθεται διεσπαρμένο σε ταινίες από PVC διαστάσεων 25 x 2,5 cm. Σε κάθε μέλισσι προστίθενται 3 ταινίες στα κενά μεταξύ των πλαισίων στη φωλιά γόνου, όπου παραμένουν για τέσσερις έως οκτώ εβδομάδες.
- **Apiguard.** Διατίθεται σε μικρούς δίσκους που περιέχουν 12 g θυμόλης διεσπαρμένα σε 50 g μη-τοξικής γέλης. Κάθε δίσκος αφήνεται πάνω στους κηρηθοφορείς της φωλιάς γόνου για 2 εβδομάδες και αντικαθίσταται για άλλες δύο εβδομάδες από νέο δίσκο (η τυπική διάρκεια της θεραπείας είναι 4 εβδομάδες).

- **Χημικά σκευάσματα χαμηλής τοξικότητας [50,60,65,67].** Όλα τα παραπάνω χαρακτηρίζονται συχνά ως ‘σκληρά χημικά’ (hard chemicals) λόγω της τοξικότητας και των καταλοίπων τους στα προϊόντα μελιού. Είναι εύλογο λοιπόν ότι αναζητούνται λιγότερο τοξικές εναλλακτικές, οι οποίες αναφέρονται υπό τον γενικό όρο ‘ήπια χημικά’ (soft chemicals), όπως:

- **Μεθανοϊκό οξύ.** Αναφερόμενο και ως μυρμηγκικό ή φορμικό οξύ, εντοπίζεται –μεταξύ πολλών βιολογικών πηγών- στο όξινο δηλητήριο της μέλισσας και ως συστατικό του μελιού. Ως χημικό χαμηλής τοξικότητας χρησιμοποιείται σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις καθώς μπορεί να διαπερνά τα σφραγίσματα κελιών και να επιδρά

απευθείας στον πληθυσμό Varroa. Εντούτοις, η επίδραση του φορμικού οξέος στον γόνο είναι τοξική όταν χρησιμοποιούνται υψηλές συγκεντρώσεις σε θερμοκρασίες άνω των 30 °C, ενώ έχει σχετιστεί και με αυξημένη θνησιμότητα βασιλισσών.

- **Χρήση φορμικού οξέος.** Για τις εφαρμογές μελισσοουργίας, διατίθεται ως υδατικό διάλυμα περιεκτικότητας 65% w/w σε ειδικές φιάλες ασφαλείας. Ορθογώνια τεμάχια μαλακού χαρτονιού εμβαπτίζονται σε 20 – 22 g διαλύματος και μεταφέρονται στο κατώτερο μέρος της περιοχής με τον γόνο. Ανά 4 μέρες αντικαθίστανται τα χαρτόνια και ο κύκλος ολοκληρώνεται με τέσσερις εφαρμογές (συνολικά 16 ημέρες).
- **Οξαλικό οξύ.** Παράγεται σε διάφορα είδη φυτών όπως το σπανάκι, ορισμένες ποικιλίες λάχανου, το πατζάρι και το ραβέντι. Η χρήση του για τον έλεγχο ακάρεων συνίσταται κατά τις περιόδους που δεν αναπτύσσεται γόνος, δηλαδή κατά τους χειμερινούς μήνες έως τον πρώτο μήνα της άνοιξης, ενώ σημαντικό είναι να εφαρμόζεται συνδυαστικά με άλλες μεθόδους για μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Η συχνή χρήση χαμηλών συγκεντρώσεων ή ενός διαλύματος υψηλής συγκέντρωσης μπορεί να προκαλέσει τοξικό σύνδρομο στις προνύμφες και να μειώσει τη βιωσιμότητα ενήλικων εργατριών.
- **Χρήση οξαλικού οξέος.** Διατίθεται ως μικροκρυσταλλικό κονίαμα, του οποίου 10 g διαλύονται σε 100 g νερού (ουσιαστικά 100 mL νερού). Στο όξινο διάλυμα προστίθενται επιπλέον 100 g κοινής ζάχαρης. Από το τελικό διάλυμα μεταφέρονται με τη βοήθεια σύριγγας 5 mL στάγδην πάνω στις μέλισσες.
- **Αιθέρια έλαια.** Τα αιθέρια έλαια φυτών που αραιώνονται σε νερό αξιοποιούνται συχνά ως χαμηλής τοξικότητας εντομοαπωθητικά και ενίοτε ως εντομοκτόνα. Στην προκειμένη περίπτωση, το περισσότερο χρησιμοποιούμενο αιθέριο έλαιο είναι εκείνο του θυμαριού και δη το συμπύκνωμα θυμόλης, που μπορεί να προστατεύσει ενήλικες μέλισσες αλλά δε διαπερνά τα σφραγίσματα κελιών. Κατά συνέπεια, ο μολυσμένος γόνος δεν προστατεύεται μόλις σφραγιστεί εντός του κελιού. Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι η θυμόλη αυξάνει την επιθετικότητα των μελισσών και προκαλεί συχνότερα φαινόμενα κλοπής θρεπτικών υλών από άλλες αποικίες. Συνίσταται η χρήση της σε χαμηλές συγκεντρώσεις και συνδυαστικά με άλλες μεθόδους.
- **Τρόπος χρήσης θυμόλης.** Διατίθεται ως κρυσταλλικό στερεό, του οποίου 5-15 g αποθηκεύονται σε σακουλάκια γάζας και μεταφέρονται στο εσωτερικό του μελισσιού, συχνά κοντά στη φωλιά γόνου. Έτσι, η αργή διάσπαση των κρυστάλλων αποδίδει ατμούς που διαχέονται σε όλη την αποικία, ενώ δημιουργούν υπεράνω των

σφραγισμένων κελιών μια τοπικά αυξημένη συγκέντρωση που αποτρέπει την εκτενή διασπορά ακάρεων. Επίσης, η θυμόλη διατίθεται και ως μικροκρυσταλλικό κονίαμα, του οποίου 0,25-0,5 g διασπείρονται σε κάθε κηρήθρα. Βασικό μειονέκτημα της δεύτερης εφαρμογής είναι ότι σε υψηλές θερμοκρασίες (λχ καύσωνα) προκαλεί έντονη αναστάτωση στις μέλισσες και μπορεί να εγκαταλείψουν την αποικία.

- **Βήτα οξέα λυκίσκου.** Μετά καλίου άλατα βήτα οξέων λυκίσκου, τα οποία εξάγονται από το φυτό λυκίσκος, μπορούν ν' αξιοποιηθούν με ασφάλεια ανεξαρτήτως εποχής και σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις. Συνίσταται η χρήση τους σε υδατικά διαλύματα κατά τις περιόδους που δεν αναπτύσσεται γόνος, καθώς δε διαπερνούν τα σφραγίσματα κελιών. Η απόδοση της συγκεκριμένης προσέγγισης είναι χαμηλή συγκριτικά με τα υπόλοιπα 'ήπια χημικά', ωστόσο βασικό της πλεονέκτημα είναι η πολύ χαμηλή τοξικότητα.
- **Γαλακτικό οξύ.** Παράγεται από πολλούς οργανισμούς και στο εμπόριο διατίθεται είτε ως άνυδρο μικροκρυσταλλικό κονίαμα είτε ως διάλυμα. Στη μελισσοουργία χρησιμοποιείται ως υδατικό διάλυμα περιεκτικότητας 15% w/w, από το οποίο ψεκάζονται 150 ml στο μελίσι. Καθώς έχουν παρατηρηθεί αρνητικές επιπτώσεις τόσο στον γόνο όσο και στη βασίλισσα, ιδίως όταν επικρατούν υψηλές θερμοκρασίες, συνίσταται αποφυγή της χρήσης του σε θερμά κλίματα.

4.6 Αντιμετώπιση του μικρού σκαθαριού κυψέλης

Η αντιμετώπιση μιας μόλυνσης με *Aethina tumida* βασίζεται στην εφαρμογή βιολογικών και χημικών – μεθόδων, όπως επίσης στην τήρηση ορισμένων πρακτικών υγιεινής από πλευράς των μελισσοουργών. Εδώ, οι ορθές πρακτικές συμπεριλαμβάνονται στις βιολογικές μεθόδους χάριν ευκολίας.

4.6.1 Βιολογικές μέθοδοι

- **Επιλεκτική αναπαραγωγή ποικιλιών μέλισσας ανθεκτικών ως προς τα παρασιτικά έντομα [68,69-71].** Καθώς δε μπορούν να διακριθούν κάποια γενετικά χαρακτηριστικά ανθεκτικότητας προς παρασιτικά έντομα, όπως γίνεται με άλλα παθογόνα, η συγκεκριμένη προσέγγιση αφορά την εκτροφή ποικιλιών με συμπεριφορά επιθετική προς άλλα έντομα όπως:
 - Κατασπάραξη ακάρεων (Mite Mauler bees).
 - Τραυματισμός ακάρεων (Mite Biters bees).
 - Δάγκωμα ποδιών (Leg-chewers / Ankle biters bees).

- **Χρήση μικροοργανισμών παθογόνων για το σκαθάρι [68,69-71].** Έχει διερευνηθεί σε εργαστηριακές συνθήκες η δυνατότητα χρήσης μικροοργανισμών για την καταπολέμηση του SBH, με αποτελέσματα αρκετά ενθαρρυντικά καθώς τα μικρόβια (μύκητες και νηματώδη) εκδήλωσαν παθογόνο δράση επιλεκτικά στα ενήλικα σκαθάρια ή/και στις προνύμφες, χωρίς να μολύνουν και τις εξεταζόμενες *Apis mellifera*.
 - Μύκητες: Σημαντικά παραδείγματα είναι τα *Aspergillus niger* και *Aspergillus flavus* (για ενήλικα σκαθάρια), ορισμένα είδη των γενών *Metarhizium* (κυρίως για προνύμφες), *Beauveria* (ενήλικα σκαθάρια) *Hirsutella* (γενικής δράσης) και *Lecanicillium* (γενικής δράσης).
 - Εντομο-παθογόνα νηματώδη (Entomopathogenic nematodes, EPNs): Πρόκειται για μικροσκοπικές μορφές ζωής σαν τα σκουλήκια που προσβάλλουν κυρίως τις προνύμφες. Σημαντικά παραδείγματα είναι τα *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema riobrave* και *Heterorhabditis megidis*.
- **Χρήση μυκήτων απευθείας στο χώμα [68,69-71].** Ορισμένα από τα προαναφερθέντα είδη μυκήτων εισάγονται στο χώμα, ώστε να εξοντώσουν τις προνύμφες. Συνήθως χρησιμοποιούνται είδη του γένους *Metarhizium*.
- **Ορθές πρακτικές μελισσοουργών.** Αυτές περιλαμβάνουν [68,69-71]:
 - Στένωση των εισόδων στην αποικία. Έτσι, από κάθε είσοδο θα μπορεί να διέρχεται περιορισμένος αριθμός μελισσών και τα σκαθάρια θα δυσκολεύονται να εισέρχονται απαρατήρητα.
 - Χρήση παγίδων. Πρόκειται για μικρές κατασκευές που τοποθετούνται κοντά στις εισόδους ή σε διάφορα σημεία της κυψέλης, συχνά κοντά στη φωλιά γόνου, με σκοπό να προσελκύουν τα ενήλικα σκαθάρια και να τα εγκλωβίζουν, πχ με κάποια κολλητική ουσία ή με τοξίνη επιλεκτικά δραστική σε αυτά. Οι παγίδες εφοδιάζονται συχνά με διάφορες πτητικές ουσίες που προσελκύουν τα σκαθάρια, όπως προϊόντα ζύμωσης του μύκητα *Kodamea ohmeri*.
 - Αποστείρωση των εργαλείων.
 - Τακτικός έλεγχος της κυψέλης.

4.6.2 Χημικές – βιοχημικές μέθοδοι

- **Κατεργασία χώματος με συνθετικά εντομοκτόνα [68,69-71].**
 - Permethrin. Σε μικρές περιοχές χώματος, κυρίως κοντά στην αποικία, μπορούν να χρησιμοποιηθούν αραιά διαλύματα του συνθετικού σκευάσματος προς εξόντωση των αναπτυσσόμενων προνυμφών. Η δραστική ουσία διατίθεται στο εμπόριο ως GardStar® (40% w/w permethrin). Άλλο σχετικό προϊόν είναι το Farnoz Permex EC (500 g/l permethrin).
 - Πυκνά διαλύματα αλάτων.
 - Carbaryl και chlordasol.
- **Χρήση συνθετικών σκευασμάτων [68,69-71].** Οι περισσότερες εφαρμογές συνθετικών ουσιών αφορούν τη χρήση τους σε ειδικές ταινίες και μικρούς περιέκτες που τοποθετούνται εντός της κυψέλης, προκειμένου ν' απωθούν τα σκαθάρια και ν' αποτρέπουν την εγκατάστασή τους.
 - Τα κυριότερα συνθετικά εντομοκτόνα και απωθητικά που χρησιμοποιούνται είναι τα coumaphos (κύριο συστατικό του εμπορικά διατιθέμενου προϊόντος CheckMite+), fluvalinate, fenitrothion, chlorpyrifos και methomyl. Ενδεικτικά, πολλές ταινίες CheckMite+ περιέχουν coumaphos σε συγκέντρωση 10% w/w.
- **Οργανικά οξέα [68,69-71].** Η κατεργασία τμημάτων της κυψέλης και δη των μολυσμένων κυψελίδων με αραιό διάλυμα οξικού οξέος αυξάνει σημαντικά τη θνησιμότητα ενήλικων σκαθαριών, ενώ η ίδια διαδικασία με φορμικό οξύ εξοντώνει μεγάλο αριθμό προνυμφών SBH.
- **Δισουλφίδιο του άνθρακα (CS₂) [68].** Χρησιμοποιείται σε πολύ μικρές ποσότητες κατά την κατεργασία αποθηκευμένων κυψελίδων με καπνό. Συνίσταται ιδιαίτερη προσοχή καθώς μπορεί να εκδηλώσει τοξική δράση σε μεγαλύτερες ποσότητες.
- **Παρα-διχλωροβενζόλιο (paradichlorobenzene) [68].** Αξιοποιείται ως εναλλακτική στο δισουλφίδιο του άνθρακα, ωστόσο τείνει να εγκαταλειφθεί καθώς έχει καρκινογόνες ιδιότητες.
- **Υδροξείδιο του ασβεστίου [68].** Κοινώς αναφερόμενο και ως υδράσβεστος, χρησιμοποιείται για την απολύμανση τμημάτων κηρήθρας και πλαισίων πριν τη χρήση τους, αλλά και ως συστατικό των παγίδων σκαθαριών που τοποθετούνται εντός της κυψέλης.

- **Βιο-εντομοκτόνα [68,69-71].** Αποτελούν ιδιαίτερα σημαντικές εναλλακτικές έναντι των συνθετικών σκευασμάτων καθώς συντίθενται από προϊόντα διαφόρων μικροοργανισμών και φυτών, χαρακτηρίζονται από σημαντικά χαμηλότερη τοξικότητα και, ως εκ τούτου, μπορούν να χρησιμοποιούνται εκτενέστερα.

4.7 Βιο-παρασιτοκτόνα

Ο όρος ‘βιο-παρασιτοκτόνα’ αναφέρεται σε μια μεγάλη ποικιλία οργανικών μορίων και, συχνότερα, μιγμάτων αυτών που βιοσυντίθενται από ζωντανούς οργανισμούς και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βακτηριοκτόνα, μυκητοκτόνα, ακαρεοκτόνα, νηματωδο-κτόνα, εντομο-κτόνα και εν γένει παρασιτοκτόνα [85-91]. Οι δραστικές ενώσεις των βιο-παρασιτοκτόνων αποτελούν συνήθως δευτερογενείς μεταβολίτες φυτών ή μικροοργανισμών, δηλαδή προϊόντα που δεν είναι άμεσα αναγκαία για την επιβίωση του μικροβίου / φυτού αλλά τα παράγει για να αντιμετωπίσει κάποιον εξωτερικό παράγοντα, κατά βάση έναν άλλο οργανισμό ανταγωνιστικό προς αυτόν [92].

Στις επόμενες παραγράφους αναλύονται τα βιο-παρασιτοκτόνα ανάλογα με τις τάξεις χημικών ενώσεων όπου ανήκουν, ενώ γίνεται και διάκριση μεταξύ φυτικών και μικροβιακών βιοδραστικών ενώσεων. Εδώ να σημειωθεί ότι πολλά παραδείγματα μικροβιακών και φυτικών βιο-παρασιτοκτόνων έχουν αναφερθεί και σε προηγούμενες παραγράφους, στις χημικές – βιοχημικές μεθόδους αντιμετώπισης κάθε παθογόνου.

4.7.1 Βοτανικά βιο-παρασιτοκτόνα

Παρασιτοκτόνα με πρώτη ύλη διάφορα βότανα, μετέπειτα αναφερόμενα ως αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, χρησιμοποιούνται στην Ευρώπη και στη βόρεια Αμερική εδώ και τουλάχιστον 150 χρόνια, πολύ πριν την ανάπτυξη συνθετικών σκευασμάτων [85]. Είναι ευνόητο πως η συνθετική χημεία παρέχει πληθώρα λύσεων σε κάθε πεδίο παραγωγής και έρευνας, από τον πρωτογενή τομέα μέχρι τη φαρμακολογία, εντούτοις οι συνέπειες της

εκτεταμένης χρήσης συνθετικών παρασιτοκτόνων και φαρμακευτικών προϊόντων κατά το δεύτερο μισό του 20^{ου} αιώνα οδήγησε σε πληθώρα προβλημάτων όπως τοξικά σύνδρομα σε ωφέλιμα είδη, ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα παράσιτα και μεταλλάξεις σε πολύ-ανθεκτικούς μικροοργανισμούς [85-91]. Συνεπώς, η ανάγκη εύρεσης εναλλακτικών προσεγγίσεων περισσότερο φιλικών προς τα οικοσυστήματα και το περιβάλλον καθίσταται ολοένα επιτακτικότερη.

Τα βοτανικά παρασιτοκτόνα και εν γένει τα βιο-παρασιτοκτόνα χαρακτηρίζονται συχνά από υψηλότερη εκλεκτικότητα, δεν ευνοούν την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα παράσιτα – στόχους και, επιπλέον, βιο-αποικοδομούνται αφήνοντας ελάχιστα κατάλοιπα στο οικοσύστημα και στον υδροφόρο ορίζοντα [85-87,89-91]. Ωστόσο, η παραγωγή και η διάθεσή τους σε μεγάλη κλίμακα είναι ακόμα σε χαμηλότερα επίπεδα συγκριτικά με τα συνθετικά ομόλογά τους, ιδίως στις αναπτυσσόμενες χώρες.

Οι βιοδραστικές ενώσεις των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών μπορούν να διακριθούν σε 7 μεγάλες τάξεις [18]: (1) αλκαλοειδή, (2) αιθέρια έλαια, (3) λιπαρά οξέα, (4) λιμονοειδή, (5) φαινολικά, (6) πολυκετίδια και (7) πυρεθρίνες.

4.7.1.1 Αλκαλοειδή

Τ' αλκαλοειδή είναι μια ετερογενής και μεγάλη τάξη ενώσεων που βιοσυντίθενται σε διάφορα φυτικά είδη, όπως η αναβασίνη (anabasin) από το *Anabasis aphylla* L. (*Amaranthaceae*), η νικοτίνη (nicotine) από τα είδη *Nicotiana* (*Solanaceae*) και η ζυγκασίνη (zygacine) από τα είδη *Melanthiaceae* [85,86,91]. Αυτές οι ενώσεις έχουν ισχυρή παρασιτοκτόνο δράση σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ σε ακόμα μικρότερες δόσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως απωθητικά παρασίτων, λχ χορηγούμενα στην τροφή και στα προϊόντα μέλισσας. Η νικοτίνη επιδρά σε μεγάλο αριθμό παρασίτων, ενώ εκδηλώνει νευροτοξική δράση σε είδη εντόμων ως συστατικό του μίγματος καπνίσματος (διεργασία *fuming* στη μελισσοκομία) [85,86,90,91]. Βέβαια, σε υψηλότερες συγκεντρώσεις καθίσταται τοξική για μέλισσες, πτηνά, ψάρια, θηλαστικά κι τελικώς για τον άνθρωπο.

Ένα ισχυρά δραστικό μίγμα αλκαλοειδών περιέχεται σε παραδοσιακά σκευάσματα λαών της κεντρικής και νότιας Αμερικής, όπως το σαμπαντίλα (*sabadilla*) που μάλιστα εμπορευματοποιήθηκε το 1970 [85]. Το κονίαμα *sabadilla* παρασκευάζεται με αποξηραμένο υλικό του φυτού *Schoenocaulon officinale* Gray (*Melanthiaceae*) και περιέχει, μεταξύ

πολλών άλλων, τ' αλκαλοειδή veratridine και cevadine [85]. Ένα άλλο σχετικό προϊόν που χρησιμοποιείται στην αγροτική παραγωγή των ΗΠΑ είναι τα εκχυλίσματα του φυτού *Ryania speciosa Vahl* (*Salicaceae*), τα οποία περιέχουν ένα εξαιρετικά ισχυρό αλκαλοειδές αναφερόμενο ως ryanodine [85]. Αυτό αξιοποιείται για τον έλεγχο εντόμων όπως η *Cydia pomonella L.* (*Tortricidae*).

4.7.1.2 Αιθέρια έλαια

Αιθέρια έλαια (essential oils, Eos) περιέχονται σε περίπου 17500 γνωστά είδη αρωματικών - φαρμακευτικών φυτών, παράγονται μέσω υδραπόσταξης και μπορούν ν' αξιοποιηθούν σε πληθώρα εφαρμογών, με κυριότερες την προστασία καλλιεργειών και μελισσιών [85-87,89-91]. Βιοδραστικά αιθέρια έλαια μπορούν να παραχθούν από φυτικά είδη των οικογενειών *Asteraceae* (λχ *Artemisia spp.*), *Lamiaceae* (λχ *Mentha spp.*, *Origanum spp.*, *Rosmarinus officinalis L.*, *Salvia spp.*, *Thymus spp.*), *Lauraceae* (λχ *Laurus nobilis L.*) και *Myrtaceae* (λχ *Eucalyptus spp.*, *Myrtus communis L.*) [85-87,89-91].

Τα αιθέρια έλαια βιοσυντίθενται ως δευτερογενείς μεταβολίτες και αποσκοπούν στην προστασία του φυτού από παθογόνους μικροοργανισμούς, έντομα και φυτοφάγα ζώα [85-87,89-91]. Τα κυριότερα συστατικά τους είναι τερπενοειδή χαμηλού μοριακού βάρους (μονοτερπένια και σεσκιτερπένια) και φαινολικά. Παρά τις επιτυχίες τους δοκιμές σε παράσιτα των αγρών αλλά και στη μελισσοκομία, η χρήση τους σε εφαρμογές μεγάλης κλίμακας παραμένει μη-βιώσιμη εξαιτίας παραγόντων όπως η υψηλή πτητικότητα, η πολύ χαμηλή διαλυτότητα στο νερό και η ταχεία αλλοίωση των συστατικών τους στον ατμοσφαιρικό αέρα (οξειδωση) [85,91]. Προς υπέρβαση των παραπάνω αναπτύχθηκαν τεχνικές όπως η ενθυλάκωση σε νανοσωματίδια (nanoparticles, NPs, πχ σε πολυαιθυλενούχα γλυκόλη), ο εγκλωβισμός σε SiO₂ και η χρήση κονιάματος από φυτικό ομογενοποίημα, όπου τα αιθέρια έλαια βρίσκονται εκ του φυσικού αποθηκευμένα στους φυτικούς ιστούς [85,91].

4.7.1.3 Λιπαρά οξέα

Τα λιπαρά οξέα (fatty acids) αξιοποιούνται ως συστατικά πολλών βιο-παρασιτοκτόνων ως σταθεροποιητές, καθώς διευκολύνουν την ανάμιξη άλλων βιοδραστικών συστατικών και τους παρέχουν αντιοξειδωτική προστασία, καθώς αντιδρούν τα ίδια με το ατμοσφαιρικό

οξυγόνο και τους οξειδοαναγωγικούς παράγοντες νερού / εδάφους / προϊόντων μελισσών [85-87,89-91]. Επίσης, ορισμένα λιπαρά οξέα εκδηλώνουν έμμεσα τοξική δράση σε ορισμένα είδη μικροοργανισμών και παρασιτικών εντόμων, όπως λχ το πελαργονικό οξύ (pelargonic acid) [85].

4.7.1.4 Λιμονοειδή

Τα λιμονοειδή είναι φυσικοί μεταβολίτες σε φυτικά είδη των οικογενειών *Rutaceae* (λχ *Citrus spp.*) και *Meliaceae* (λχ *Azadirachta indica A. Juss.*) [85,91]. Ενδεικτικά, το λιμονοειδές *azadirachtin* που περιέχεται στους καρπούς του *Azadirachta indica* χρησιμοποιείται εκτενώς σε βιο-παρασιτοκτόνα των αγρών καθώς χαρακτηρίζεται από υψηλή εκλεκτικότητα για πολλά είδη παρασιτικών σκώρων, ενώ οι εφαρμογές του επεκτείνονται και στη χρήση του ως μυκητοκτόνο [85,91]. Εντούτοις, μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι, υπό ορισμένες συνθήκες, εκδηλώνει τοξική δράση ακόμα και σε ωφέλιμα έντομα όπως η *Apis mellifera*, ιδίως αν συμπέσει η χρήση του με μόλυνση από παθογόνο βακτήριο ή ιό.

4.7.1.5 Φαινολικά

Τα φαινολικά είναι η μεγαλύτερη σε εύρος τάξη των δευτερογενών μεταβολιτών φυτών και περιλαμβάνει ενώσεις που εκδηλώνουν αντιοξειδωτική ή/και παρασιτοκτόνο δράση [85-87,89-91]. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η θυμόλη, ένα από τα περισσότερο μελετημένα φαινολικά που εντοπίστηκε για πρώτη φορά σε υποείδη *Thymus spp.* (*Lamiaceae*). Η χρήση σκευασμάτων θυμόλης στη μελισσοουργία είναι εκτενής καθώς εκδηλώνει κυτταροτοξική δράση για πολλά είδη μυκήτων (*Nosema apis*, *Nosema ceranae*, *Ascospaera apis*), βακτηρίων (*Paenibacillus larvae*, *Melissococcus plutonius*) και ακάρεων (*Varroa destructor*), ενώ απωθεί και παρασιτικά έντομα όπως το μικρό σκαθάρι κυψέλης (*Aethina tumida*) [85-87,89-91]. Η ισοφλαβόνη *rotenone*, η οποία εκχυλίζεται από το ρίζωμα φυτικών ειδών της οικογένειας *Fabaceae*, εκδηλώνει νευροτοξική δράση σε πολλά έντομα αλλά και ψάρια. Δεδομένης της υψηλής της τοξικότητας, η χρήση της εγκαταλείπεται σταδιακά [85].

4.7.1.6 Πολυκετίδια

Οι δευτερογενείς μεταβολίτες της τάξης των κετιδίων βιοσυντίθενται απευθείας από ακετυλο-συνένζυμο Α, ένα ενζυμικό σύστημα ζωτικής σημασίας για τη συντριπτική πλειοψηφία των γνωστών μορφών ζωής [85-87,89-91]. Σημαντική υποκατηγορία πολυκετιδίων είναι οι αννονίνες (annonins) οι οποίες εκδηλώνουν ισχυρή αντιμικροβιακή και, παράλληλα, σχετικά ήπια εντομοκτόνο δράση εκλεκτική ως προς παράσιτα κοινωνικών εντόμων. Λόγω της δεύτερης αυτής ιδιότητας, διαλύματα αννονινών χαμηλής συγκέντρωσης χρησιμοποιούνται και στη μελισσοουργία. Οι αννονίνες εκχυλίζονται από τους καρπούς δέντρων ειδών της οικογένειας *Annonaceae* [85,91].

4.7.1.7 Πυρεθρίνες

Στην τάξη των πυρεθρινών ανήκουν ενώσεις που αξιοποιούνται ως κύρια συστατικά σε πολλά βιο-παρασιτοκτόνα, εκτενώς χρησιμοποιούμενα στην αγροτική παραγωγή και στη μελισσοουργία δυτικών χωρών [85-87,89-91]. Οι πυρεθρίνες διακρίνονται σε δύο υποκατηγορίες, τις πυρεθρίνες Ι (Pyrethrins Ι) και πυρεθρίνες ΙΙ (Pyrethrins ΙΙ), και εξάγονται από φυτά της οικογένειας *Asteraceae*, συχνά από το *Tanacetum cinerariifolium* [85,91]. Οι βιολογικές τους δράσεις είναι κυρίως νευροτοξικές και περιλαμβάνουν τη διατάραξη της λειτουργίας κυτταρικών αντλιών ιόντων Na^+/K^+ , ως αποτέλεσμα της οποίας προκαλείται παράλυση και οξύ τοξικό σύνδρομο στα παρασιτικά έντομα [85,91]. Η ευαισθησία των φυτικών πυρεθρινών στην ακτινοβολία UV του ηλιακού φωτός οδήγησε στην εργαστηριακή σύνθεση δομικά και φωτοχημικά ανθεκτικότερων παραγώγων, των πυρεθροειδών.

4.7.2 Αξιολόγηση του κινδύνου βιο-παρασιτοκτόνων για την *Apis mellifera*

Οι πιθανές τοξικές δράσεις των βιο-παρασιτοκτόνων σε ωφέλιμα είδη υμενόπτερων και δη επικονιαστών διερευνώνται με βασικό μοντέλο τις δυτικές ποικιλίες *Apis mellifera* [85-91]. Κατά την τελευταία δεκαετία έχει διαπιστωθεί πως η συγκεκριμένη προσέγγιση δεν επαρκεί για την προστασία των μελισσών και πολλώ δε μάλλον των συνολικών ειδών επικονιαστών, καθώς καταγράφονται μεγάλες αποκλίσεις στα όρια ανοχής για κάθε τάξη βιοδραστικού μεταβολίτη. Αυτές οι αποκλίσεις αφορούν [85-91]:

- Το μέσο βάρος και μέγεθος σώματος για κάθε υποείδος αλλά και ποικιλία μέλισσας.
- Το επίπεδο κοινωνικών αλληλεπιδράσεων (σε αποικία ή μονήρεις).

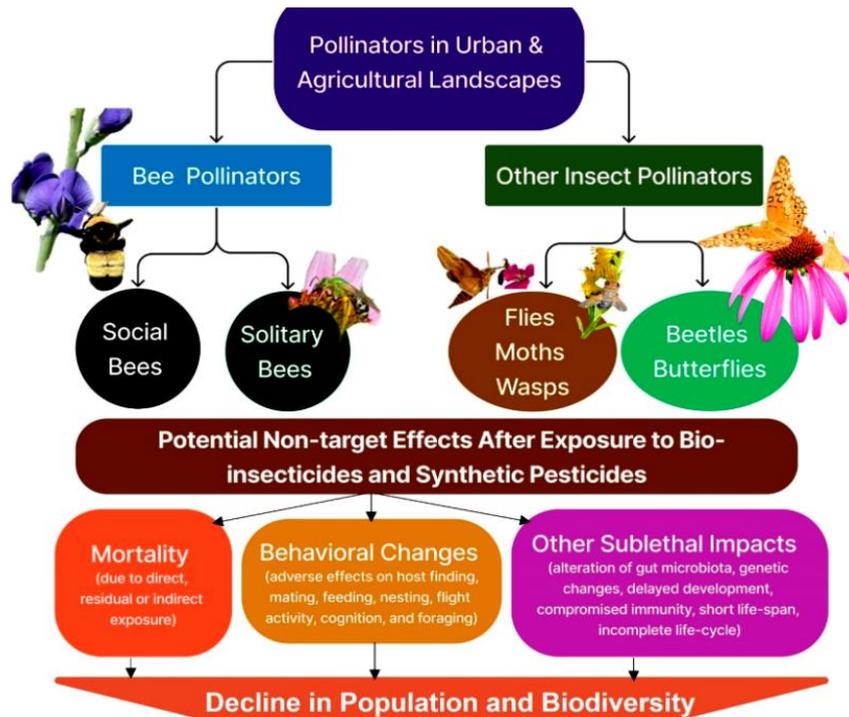
- Τα στάδια βιολογικού κύκλου ανά εποχή.
- Τις προτιμήσεις / τη διαθεσιμότητα σε ανθοφόρα φυτικά είδη για επικονίαση.
- Το κλίμα.
- Τα μοτίβα κοινωνικής συμπεριφοράς στην κυψέλη.
- Τον ρυθμό κατανάλωσης θρεπτικών υλών και τα χαρακτηριστικά του μεταβολισμού τους.
- Τις στρατηγικές επιβίωσης κατά τους χειμερινούς μήνες.
- Το φύλο.
- Την κάστα (βασίλισσα, εργάτριες, κηφήνες κλπ).

Κατά συνέπεια, μια ολοκληρωμένη εφαρμογή πρωτοκόλλων διερεύνησης για τη χρήση ήδη διαθέσιμων ή νέων σκευασμάτων (τόσο συνθετικών όσο και βιο-παρασιτοκτόνων) πρέπει να συμπεριλαμβάνει και άλλα είδη υμενόπτερον συγγενικά προς τη μελιτογόνο μέλισσα όπως οι βομβίνοι (*Bombus spp.*) και οι μοναχικές μέλισσες (*Osmia spp.* και *Megachile rotundata*) [85,91]. Αξιοσημείωτο είναι ότι στα εφαρμοζόμενα πρωτόκολλα δε λαμβάνονται υπόψη οι ποικιλίες μελισσών που φτιάχνουν φωλιές στο έδαφος, ενώ αντιπροσωπεύουν περί το 70% όλων των ειδών μέλισσας [85]. Οι περισσότερες σχετικές παραλείψεις οφείλονται κυρίως στη δυσκολία αναπαραγωγής, διαχείρισης και ρεαλιστικής εξέτασης υπό εργαστηριακές συνθήκες.

Επί του παρόντος, τα ήδη ελλιπή πρωτόκολλα ελέγχου βιολογικής δράσης παρασιτοκτόνων σχεδιάστηκαν για γενικό έλεγχο κατά τη χρήση τους σε καλλιέργειες, με πρωτοβουλία του διεθνούς Οργανισμού για την Οικονομική Συνεργασία και Ανάπτυξη (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD) [85-91]. Η εφαρμογή τους στις κοινές δυτικές ποικιλίες μέλισσας ξεκίνησε αργότερα και με ελάχιστες τροποποιήσεις, οπότε ενδέχεται να είναι ελλιπή ακόμα και για τις εξεταζόμενες ποικιλίες.

Τα βασικά πρωτόκολλα ελέγχου βιολογικής δράσης παρασιτοκτόνων στην *Apis mellifera* περιλαμβάνουν εργαστηριακή εξέταση της οξείας και της χρόνιας τοξικότητας βάσει επαφής ή πρόσληψης του σκευάσματος από το στόμα, με βασικά κριτήρια τις προσδιοριζόμενες τιμές LC50, LD50 και τα όρια για εκδήλωση συγκεκριμένης παθολογικής κατάστασης όπως νευροτοξικό σύνδρομο, παράλυση, πεπτικές διαταραχές, μεταβολές στα μοτίβα συμπεριφοράς, εξασθένιση και αλλαγές στον μεταβολισμό [85-91]. Στην περίπτωση της χρόνιας τοξικότητας οφειλόμενη σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις συνθετικού / βιο-παρασιτοκτόνου το τοπίο παραμένει θολό, ιδίως στις περιπτώσεις άλλων υμενόπτερον λιγότερο μελετημένων. Εδώ ας σημειωθεί ότι LC50 και LD50 είναι δύο διαφορετικές

εκφράσεις για τη μέση δόση / συγκέντρωση εξεταζόμενης ουσίας που προκαλεί θάνατο στο 50% των δειγμάτων. Σε γενικές γραμμές, η συντριπτική πλειοψηφία των εξεταζόμενων βιο-παρασιτοκτόνων αποδεικνύεται χαμηλής τοξικότητας, εν αντιθέσει με πολλά συνθετικά αλλά και μερικά βιολογικά που έχουν ως κύρια βιοδραστική ουσία τα νεονικοτινοειδή (neonicotinoids) [85-91].



Σχήμα 16: Επιπτώσεις συνθετικών και βιο-παρασιτοκτόνων σε είδη υμενόπτερων.

Πηγή: [87]

4.7.3 Επιπτώσεις βιο-παρασιτοκτόνων στις κοινωνικές *Apis mellifera*

Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται οι παρατηρούμενες επιδράσεις κοινών συστατικών βιο-παρασιτοκτόνων στην *Apis mellifera*.

Πίνακας 14: Επιδράσεις βιο-παρασιτοκτόνων στην *Apis mellifera*.

Βιοδραστική ένωση	Συνθήκες εξέτασης	Τρόπος έκθεσης	Δείγμα	Επίδραση	Χώρα και έτος
Azadirachtin	L	Επαφή, τροφή	Γόνος, ενήλικες μέλισσες	Αύξηση θνησιμότητας, ο γόνος περισσότερο ευάλωτος από ενήλικες	Βραζιλία, 2016
Μίγμα <i>sabadilla</i>	L	Επαφή	Ενήλικες μέλισσες	Αύξηση θνησιμότητας,	ΗΠΑ, 1958
Aramite (μίγμα αιθέριων ελαίων)	L	Επαφή	Ενήλικες μέλισσες	Μικρή αύξηση θνησιμότητας	ΗΠΑ, 1952
Μίγματα πυρεθρινών, rotenone και εκχυλίσματα πεύκου	L	Ψεκάσμος (εκνέφωμα)	Ενήλικες μέλισσες	Αύξηση θνησιμότητας,	ΗΠΑ, 1990
Pyrethrum	F	Ψεκάσμος αποικίας	Αποικία ολόκληρη	Μικρή αύξηση θνησιμότητας	ΗΠΑ, 1979
Αιθέρια έλαια <i>Mentha piperita</i> ,	L	Επαφή, τροφή	Ενήλικες μέλισσες	Αύξηση θνησιμότητας με <i>O.</i>	Βραζιλία, 2020

<i>Origanum vulgare</i> και <i>Thymus vulgaris</i>				<i>vulgare</i> και <i>T. vulgaris</i>	
Μίγμα rotenone και εκχυλίσματος pyrethrum	L	Ψεκασμός	Ενήλικες μέλισσες	Αύξηση θνησιμότητας	ΗΠΑ, 2004
Εκχυλίσματα κитρονέλλας, σκόρδου, καπνού και μαϊντανού	L, F	Τροφή	Ενήλικες μέλισσες	Αναστάτωση, μεταβολές στη συμπεριφορά	Βραζιλία, 2004
Εκχυλίσματα pyrethrum ενθυλακωμένα σε νανοσωματίδια	L	Τροφή	Ενήλικες μέλισσες	Αυξημένη θνησιμότητα, μορφολογικές μεταβολές στο επιθήλιο του πεπτικού σωλήνα	Βραζιλία, 2019

Πηγή: [85]

Σημειωτέον ότι L = Laboratory (εργαστήριο) και F = Field (φυσικό περιβάλλον).

4.7.4 Βιο-παρασιτοκτόνα από μικροοργανισμούς

Πηγές βιοδραστικών ενώσεων μπορούν ν' αναζητηθούν και σε πολλά είδη μικροοργανισμών, από βακτήρια και μύκητες μέχρι ορισμένα εντομο-παθογόνα νηματώδη [86,87,89-91]. Κατά την τελευταία δεκαετία έχουν εκπονηθεί αρκετές μελέτες αναφορικά με την ανάπτυξη, τη βελτιστοποίηση και τη χρήση βιο-παρασιτοκτόνων με βάση τους

μεταβολίτες μικροβίων, καθώς χαρακτηρίζονται από επιλεκτική δράση για συγκεκριμένα είδη παρασιτικών εντόμων και, παράλληλα, έχουν αντιμικροβιακές / αντιβιοτικές ιδιότητες ευρέως φάσματος [86,87,89-91].

Στα κυριότερα εντομο-παθογόνα μικρόβια συγκαταλέγονται είδη βακτηρίων των γενών *Pseudomonas*, *Yersinia* και *Chromobacterium*, είδη μυκήτων των γενών *Metarhizium*, *Verticillium*, *Lecanicillium*, *Hirsutella* και *Paecilomyces*, είδη νηματωδών των γενών *Heterorhabditis*, *Steinernema*, *Photorhabdus* και *Xenorhabdus* [86,87,89-91], ενώ παράλληλα με όλα αυτά συγκεντρώνει αυξανόμενο ενδιαφέρον οι ιοί τύπου *baculoviruses* [86]. Αυτό διότι μπορούν να κατεργαστούν με τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA και ν' αποκτήσουν γονίδια βακτηριακών τοξινών, όπως η Cry1Ac των βακτηρίων *Bacillus thuringiensis*, οπότε μόλις μολύνουν τα κύτταρα κάποιου παρασιτικού εντόμου – στόχου επάγουν τη βιοσύνθεση της ισχυρής αυτής τοξίνης απευθείας μέσα στα κύτταρα [86].

4.7.4.1 Γενική βιοχημική δράση μυκητοκτόνων και βακτηριοκτόνων από μικρόβια

Σε γενικές γραμμές, οι βιολογικές δράσεις των μυκητοκτόνων και των βακτηριοκτόνων που παράγονται από άλλα είδη μικροβίων βασίζονται στην αναστολή ενζυμικών συστημάτων του κυττάρου – στόχου, όπως επίσης στην αναστολή των διεργασιών μεταγραφής RNA σε DNA (λχ πρόσδεση σε τμήματα 50S των ριβοσωμάτων) ή της μετάφρασης RNA σε πρωτεϊνικά μόρια [86]. Τυπικό παράδειγμα βακτηριοκτόνου, το οποίο παράγουν μύκητες, είναι το φυσικό αντιβιοτικό στρεπτομυκίνη [86,87,89-91].

Στ' αντίστοιχα εντομοκτόνα, οι βιοδραστικές ουσίες συχνά επάγουν νευροτοξικά σύνδρομα στοχεύοντας κυτταρικές αντλίες ιόντων Na^+ / K^+ ή, ακόμα, προκαλούν υπερ-αυξημένη απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών (λχ γαμμα-αμινοβουτυρικού οξέος, GABA) διαταράσσοντας τη νευρική λειτουργία [86].

4.7.4.2 Κοινά βιο-παρασιτοκτόνα από μικροοργανισμούς

Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται μερικά κοινά βιο-παρασιτοκτόνα μικροβιακής προέλευσης.

Πίνακας 15: Παραδείγματα κοινών βιο-παρασιτοκτόνων από βακτήρια και μύκητες.

Πηγή	Τύπος	Οργανισμοί που το βιοσυνθέτουν
Βακτήρια	Εντομοκτόνα	<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>var kurstaki</i>
		<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>var tenebrionis</i>
	Μυκητοκτόνα	<i>Bacillus subtilis</i>
	Εντομοκτόνα	<i>Beauveria bassiana</i>
Μύκητες	Μυκητοκτόνα	<i>Coniothyrium minitans</i> <i>Trichoderma harzianum</i>
	Ζιζανιοκτόνα	<i>Chondrostereum</i> <i>purpureum</i>
	Νηματωδο-κτόνα	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
	Πηγή: [86]	

5. Συμπεράσματα, συζήτηση και μελλοντικές προοπτικές

Οι μέλισσες του είδους *A. mellifera* συγκαταλέγονται στους σημαντικότερους επικονιαστές και η επιβίωση των πληθυσμών τους είναι ζωτικής σημασίας για τα οικοσυστήματα παγκοσμίως. Ωστόσο, η υγεία τους προσβάλλεται τόσο από ανθρωπογενείς ρύπους και τη συνεπαγόμενη αυτών περιβαλλοντική κρίση, όσο και από διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς. Στη μεγάλη λίστα παθογόνων συγκαταλέγονται ιοί (λ.χ. DWV, BQCV, ABPV, CBPV), βακτήρια (με κυριότερα τα *Paenibacillus larvae* και *Melissococcus plutonius*), μύκητες (πρωτίστως οι *Ascospaera apis*, *Nosema apis* και *Nosema ceranae*), ακάρεα (με μακράν επικινδυνότερο το *V. destructor*) και παρασιτικά έντομα (*Aethina tumida*).

Τα παθογόνα μπορούν να επιδρούν στο γόνο, σε ενήλικες μέλισσες ή σε ολόκληρη την αποικία, με την τελευταία περίπτωση να είναι η λιγότερο συχνή και ταυτόχρονα η επικινδυνότερη. Η κατάρρευση μίας αποικίας οφείλεται συχνά σε φαινόμενα συννοσηρότητας μεταξύ δύο ή περισσοτέρων παθογόνων διαφορετικού τύπου, όπως επίσης και σε μολύνσεις από ένα παθογόνο, παράλληλα με έκθεση σε δυσμενείς καιρικές συνθήκες ή σε ανθρωπογενείς ρύπους και παρασιτοκτόνα, ενώ οι περιπτώσεις εκτεταμένης μόλυνσης και μαζικών θανάτων μελισσών από ένα και μόνο παθογόνο είναι λιγότερο συχνές. Τη μεγαλύτερη απειλή για τις *A. mellifera* αντιπροσωπεύουν τα ακάρεα *V. destructor*, αφού, εκτός της παθογόνου δράσεώς τους, αποτελούν και φορείς πολλών μικροβίων και ιών, όπως είναι ο DWV και οι μύκητες της νοξέμωσης. Η έκθεση σε ανθρωπογενείς ρύπους και δη τοξικά απόβλητα βιομηχανιών, αέριοι ρύποι και παρασιτοκτόνα συνεπάγεται διάφορες δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία των μελισσών, από τοξικά σύνδρομα του νευρικού και πεπτικού συστήματος, μέχρι απώλεια σωματικού βάρους και εξασθένιση του ανοσοποιητικού συστήματος, όλες τους ιδανικά συμπληρώματα για την παθογόνο δράση των μικροβίων.

Η αντιμετώπιση των παθογόνων μικροοργανισμών βασίζεται στην εφαρμογή βιολογικών και χημικών μεθόδων, όπως επίσης και ορθών πρακτικών διαχείρισης στα μελισσοκομεία. Οι βιολογικές μέθοδοι και οι πρακτικές μελισσοκομίας αφορούν σε προσεγγίσεις κατά πολύ φιλικότερες προς το περιβάλλον, είναι λιγότερο τοξικές για τις μέλισσες και αποφεύγουν τα σημαντικά προβλήματα προσαρμογής παθογόνων και παρασίτων σε συνθετικά σκευάσματα. Ωστόσο, από πλευράς βιοχημικής δράσης και φαρμακευτικής αποτελεσματικότητας, υπερτερούν σημαντικά οι χημικές μέθοδοι, ιδίως όταν το επίπεδο μόλυνσης στην αποικία είναι υψηλό. Προς βελτιστοποίηση των χημικών-

βιοχημικών μεθόδων, επιδιώκεται η ανάπτυξη και χρήση σκευασμάτων βιολογικής προέλευσης, με σημαντικότερα παραδείγματα τα βιοπαρασιτοκτόνα. Βακτήρια, μύκητες, νηματώδη και φυτά βιοσυνθέτουν οργανικά μόρια που μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνα τους ή, συνήθως, ως συστατικά παρασκευασμάτων για την αντιμετώπιση πολλών παρασίτων. Πλεονεκτήματα των βιοπαρασιτοκτόνων είναι η εκλεκτική δράση έναντι παθογόνων, η χαμηλή τοξικότητα για τις μέλισσες και τον άνθρωπο, η εύκολη και σχετικά φθηνή παραγωγή και η δυνατότητα βιοαποικοδόμησης. Ωστόσο, τόσο αυτά, όσο και οποιοδήποτε άλλο σκεύασμα πρέπει να ελέγχεται επισταμένως βάσει πρωτοκόλλων, προς το παρόν ελλειπών, καθώς είναι πιθανό υπό συνθήκες να εκδηλωθεί τοξική δράση και σε ωφέλιμα είδη εντόμων, ακόμα και ζώων.

Εν κατακλείδι, στις μελλοντικές προοπτικές περιλαμβάνονται διάφορες κατευθύνσεις έρευνας και πρακτικών εφαρμογών, όπως είναι η:

- Εμβάθυνση της γνώσης αναφορικά με τις οδούς μετάδοσης των διαφόρων παθογόνων.
- Ανάπτυξη πρωτοκόλλων συστηματικής παρακολούθησης των γνωστών παθογόνων, ανίχνευσης νέων και έγκαιρου εντοπισμού δυνητικά επικίνδυνων μεταλλάξεων (disease monitoring).
- Βελτιστοποίηση των πρωτοκόλλων μελέτης βιολογικών δράσεων τόσο για τα υφιστάμενα, όσο και για τα πειραματικά σκεύασμα, από φάρμακα μέχρι παρασιτοκτόνα, και επέκταση των σχετικών μελετών σε άλλα είδη υμενόπτερων, ιδίως σε συγγενικά της *A. mellifera*.
- Εμπέδωση της εφαρμογής συνδυαστικών πρακτικών διαχείρισης παρασίτων και παθογόνων (Integrated Pest Management, IPM), προκειμένου να ελαχιστοποιείται η χρήση χημικών παραγόντων και να δίνεται έμφαση στην πρόληψη έναντι της θεραπείας.
- Αναζήτηση νέων πηγών βιοδραστικών ουσιών και ανάπτυξη αντιβιοτικών σχημάτων νέας γενιάς, καθώς υπερανθεκτικά στελέχη μικροβίων εξαπλώνονται στα μελίσσια παγκοσμίως, καθιστώντας αναποτελεσματικούς ακόμα και τους συνδυασμούς συμβατικών φαρμάκων.

Όλα τα παραπάνω, συνιστούν ένα πολυπαραγοντικό και δαπανηρό εγχείρημα, από το οποίο εξαρτώνται, ωστόσο, οι εύθραυστες ισορροπίες των οικοσυστημάτων, κι εν τέλει, το μέλλον του ανθρώπου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) Warner S, Pokhrel LR, Akula SM, Ubah CS, Richards SL, Jensen H, Kearney GD. A scoping review of the effects of Varroa mite (*Varroa destructor*) on global honey bee decline. *Sci Total Environ.* 2024; 906: 167492.
- (2) Abou-Shaara HF. The response of heat shock proteins in honey bees to abiotic and biotic stressors. *J Therm Biol.* 2024; 119: 103784.
- (3) Marcelino J, Braese C, Christmon K, Evans JD, Gilligan T, Giray T, Nearman A, Niño EL, Rose R, Sheppard WS, van Engelsdorp D, Ellis JD. The Movement of Western Honey Bees (*Apis mellifera* L.) Among U.S. States and Territories: History, Benefits, Risks, and Mitigation Strategies. *Front Ecol Evol.* 2022; 10.
- (4) Han F et al. From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate? *Ecol Evol.* 2012; 2: 1949-57.
- (5) Råberg, L., Graham, A.L., Read, A.F., 2009. Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. *Phil. Trans. R. Soc. B* 364, 37–49.
- (6) Best, A., White, A., Boots, M., 2014. The coevolutionary implications of host tolerance. *Evolution* 68, 1426-1435.
- (7) Kurze C, Routtu J, Moritz RFA. Parasite resistance and tolerance in honeybees at the individual and social level. *Zoology.* 2016; 119: 290-7.
- (8) Fries, I., Hansen, H., Imdorf, A., Rosenkranz, P., 2003. Swarming in honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa destructor* population development in Sweden. *Apidologie* 34, 389–397.
- (9) Cremer, S., Armitage, S.A., Schmid-Hempel, P., 2007. Social immunity. *Curr. Biol.* 17, R693–R702.
- (10) Oxley, P.R., Spivak, M., Oldroyd, B.P., 2010. Six quantitative trait loci influence task thresholds for hygienic behaviour in honeybees (*Apis mellifera*). *Mol. Ecol.* 19, 1452–1461.
- (11) Tsuruda, J.M., Harris, J.W., Bourgeois, L., Danka, R.G., Hunt, G.J., 2012. High-resolution linkage analyses to identify genes that influence *Varroa* sensitive hygiene behavior in honey bees. *PLoS One* 7, e48276.

- (12) Kather, R., Drijfhout, F.P., Martin, S.J., 2015. Evidence for colony-specific differences in chemical mimicry in the parasitic mite *Varroa destructor*. *Chemoecology* 25, 215–222.
- (13) Le Conte, Y., Huang, Z.Y., Roux, M., Zeng, Z.J., Christides, J.P., Bagnères, A.G., 2015. *Varroa destructor* changes its cuticular hydrocarbons to mimic new hosts. *Biol. Lett.* 11, 20150233.
- (14) Le Conte, Y., De Vaublanc, G., Crauser, D., Jeanne, F., Rousselle, J.-C., Becard, J.-M., 2007. Honey bee colonies that have survived *Varroa destructor*. *Apidologie* 38, 566–572.
- (15) Locke, B., Fries, I., 2011. Characteristics of honey bee colonies (*Apis mellifera*) in Sweden surviving *Varroa destructor* infestation. *Apidologie* 42, 533–542
- (16) Locke, B., Le Conte, Y., Crauser, D., Fries, I., 2012. Host adaptations reduce the reproductive success of *Varroa destructor* in two distinct European honey bee populations. *Ecol. Evol.* 2, 1144–1150.
- (17) Locke, B., Forsgren, E., de Miranda, J.R., 2014. Increased tolerance and resistance to virus infections: a possible factor in the survival of *Varroa destructor*-resistant honeybees (*Apis mellifera*). *PLoS One* 9, e99998.
- (18) Asif Aziz, M., & Alam, S. (2024). *Diseases of Honeybee (Apis mellifera)*. IntechOpen.
- (19) Nekoei S, Rezvan M, Khamesipour F, Mayack C, Molento MB, Revainera PD. A systematic review of honey bee (*Apis mellifera*, Linnaeus, 1758) infections and available treatment options. *Vet Med Sci.* 2023 Jul;9(4):1848-1860.
- (20) Wikimedia Foundation. (2024a, May 20). List of diseases of the honey bee. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_diseases_of_the_honey_bee
- (21) Louten J. Virus Replication. *Essential Human Virology.* 2016:49–70.
- (22) Yañez O, Piot N, Dalmon A, de Miranda JR, Chantawannakul P, Panziera D, Amiri E, Smagghe G, Schroeder D, Chejanovsky N. Bee Viruses: Routes of Infection in Hymenoptera. *Front Microbiol.* 2020 May 28;11:943.
- (23) Tantillo G, Bottaro M, Di Pinto A, Martella V, Di Pinto P, Terio V. Virus Infections of Honeybees *Apis Mellifera*. *Ital J Food Saf.* 2015 Sep 25;4(3):5364.

- (24) Minhyeok, Kwon & Jung, Chuleui & Kil, Eui-Joon. (2023). Honey Bee Viruses: An Ongoing History of Discovery. *Journal of Apiculture*. 38. 121-137.
- (25) Hristov P, Shumkova R, Palova N, Neov B. Factors Associated with Honey Bee Colony Losses: A Mini-Review. *Vet Sci*. 2020 Oct 30;7(4):166.
- (26) Ullah A, Tlak Gajger I, Majoros A, Dar SA, Khan S, Kalimullah, Haleem Shah A, Nasir Khabir M, Hussain R, Khan HU, Hameed M, Anjum SI. Viral impacts on honey bee populations: A review. *Saudi J Biol Sci*. 2021 Jan;28(1):523-530.
- (27) Laomettachit T, Liangruksa M, Termsaithong T, Tangthanawatsakul A, Duangphakdee O. A model of infection in honeybee colonies with social immunity. *PLoS One*. 2021 Feb 22;16(2):e0247294.
- (28) Shen, Miaoqing & Cui, Liwang & Ostiguy, Nancy & Cox-Foster, Diana. (2005). Intricate transmission routes and interactions between picorna-like viruses (Kashmir bee virus and sacbrood virus) with the honeybee host and the parasitic varroa mite. *The Journal of general virology*. 86. 2281-9.
- (29) Reams T, Rangel J. Understanding the Enemy: A Review of the Genetics, Behavior and Chemical Ecology of *Varroa destructor*, the Parasitic Mite of *Apis mellifera*. *J Insect Sci*. 2022 Jan 1;22(1):18
- (30) Bubnič, J., Prešern, J., Pietropaoli, M., Cersini, A., Moškrič, A., Formato, G., Manara, V., & Smodiš Škerl, M. I. (2024). Integrated pest management strategies to control Varroa mites and their effect on viral loads in honey bee colonies. *Insects*, 15(2), 115.
- (31) LeBoeuf, A.C. (2021). Trophallaxis. In: Starr, C.K. (eds) *Encyclopedia of Social Insects*. Springer, Cham.
- (32) Viruses in honey bees. Penn State Extension. (n.d.). <https://extension.psu.edu/viruses-in-honey-bees>
- (33) Forsgren, E., Locke, B., Sircoulomb, F., & Schäfer, M. O. (2018). Bacterial diseases in honeybees. *Current Clinical Microbiology Reports*, 5(1), 18–25.
- (34) Matović K, Žarković A, Debeljak Z, Vidanović D, Vasković N, Tešović B, Ćirić J. American Foulbrood-Old and Always New Challenge. *Vet Sci*. 2023 Feb 23;10(3):180.

- (35) Rosa Maria Alonso-Salces, Noelia Melina Cugnata, Elisa Guaspari, Maria Celeste Pellegrini, Inés Aubone, et al.. Natural strategies for the control of *Paenibacillus* larvae, the causative agent of American foulbrood in honey bees: a review. *Apidologie*, 2017, 48 (3), pp.387-400.
- (36) Poppinga L., Genersch E. Molecular pathogenesis of American Foulbrood: How *Paenibacillus* larvae kills honey bee larvae. *Curr. Opin. Insect Sci.* 2015;10:29–36.
- (37) Ebeling J., Knispel H., Hertlein G., Fünfhaus A., Genersch E. Biology of *Paenibacillus* larvae, a deadly pathogen of honey bee larvae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016;100:7387–7395.
- (38) Wikimedia Foundation. (2024, June 13). *Paenibacillus larvae*. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Paenibacillus_larvae
- (39) Honeybee larvae with American foulbrood disease. Okinawa Institute of Science and Technology OIST. (n.d.). <https://www.oist.jp/image/honeybee-larvae-american-foulbrood-disease>
- (40) Forsgren, Eva. (2010). European foulbrood in honey bees. *Journal of invertebrate pathology*. 103 Suppl 1. S5-9.
- (41) Floyd AS, Mott BM, Maes P, Copeland DC, McFrederick QS, Anderson KE. Microbial Ecology of European Foul Brood Disease in the Honey Bee (*Apis mellifera*): Towards a Microbiome Understanding of Disease Susceptibility. *Insects*. 2020 Aug 20;11(9):555.
- (42) Wikimedia Foundation. (2024a, April 17). *Melissococcus*. Wikipedia. <https://en.wikipedia.org/wiki/Melissococcus>
- (43) Milbrath MO, Fowler PD, Abban SK, Lopez D, Evans JD. Validation of Diagnostic Methods for European Foulbrood on Commercial Honey Bee Colonies in the United States. *J Insect Sci.* 2021 Nov 1;21(6):6.
- (44) Tarpy, D., & Keller, J. (n.d.). Disease management and guidelines for the honey bee. NC State Extension Publications. <https://content.ces.ncsu.edu/disease-management-and-guidelines-for-the-honey-bee>

- (45) Deneke, Yared & Daro, Bekiyad & Mekonnen, Abinet. (2023). Review on Chalkbrood Disease of Honeybee. *Veterinary Medicine - Open Journal*. 8. 47-55.
- (46) Castagnino, G. L., Mateos, A., Meana, A., Montejo, L., Zamorano Iturralde, L. V., & Cutuli De Simón, M. T. (2020). Etiology, symptoms and prevention of chalkbrood disease: A literature review. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 21. (SOS)
- (47) Mráz, P., Hýbl, M., Kopecký, M., Bohatá, A., Konopická, J., Hoštičková, I., Konvalina, P., Šipos, J., Rost, M., & Čurn, V. (2021). The effect of artificial media and temperature on the growth and development of the honey bee brood pathogen *Ascosphaera Apis*. *Biology*, 10(5), 431.
- (48) Wikimedia Foundation. (2024, April 19). *Ascosphaera Apis*. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Ascosphaera_apis
- (49) Kim DY, Maeng S, Cho SJ, Park HJ, Kim K, Lee JK, Srinivasan S. The *Ascosphaera apis* Infection (Chalkbrood Disease) Alters the Gut Bacteriome Composition of the Honeybee. *Pathogens*. 2023 May 19;12(5):734.
- (50) Shimanuki, H., & Knox, D. A. (n.d.). Diagnosis of honey bee diseases. United States Department of Agriculture. <https://www.ars.usda.gov/is/np/honeybeediseases/honeybeediseases.pdf>
- (51) Erler, S., Moritz, R.F.A. Pharmacophagy and pharmacophory: mechanisms of self-medication and disease prevention in the honeybee colony (*Apis mellifera*). *Apidologie* 47, 389–411 (2016).
- (52) Invernizzi, C., Rivas, F., & Bettucci, L. (2011). Resistance to chalkbrood disease in *apis mellifera* L. (hymenoptera: Apidae) colonies with different hygienic behaviour. *Neotropical Entomology*, 40(1), 28–34.
- (53) Mazur, E. D., & Gajda, A. M. (2022). Nosemosis in Honeybees: A review guide on Biology and Diagnostic Methods. *Applied Sciences*, 12(12), 5890.
- (54) Pasca, Claudia & MĂRGHITAȘ, Liviu & Sonea, Cristinel & Bobis, Otilia & Matei, Ioana & Dezmiorean, Daniel. (2019). A Review of *Nosema cerane* and *Nosema apis*:

Characterization and Impact for Beekeeping. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies. 76. 77.

(55) Mehlhorn, H. (2015). *Nosema apis*. In: Mehlhorn, H. (eds) Encyclopedia of Parasitology. Springer, Berlin, Heidelberg.

(56) Ghramh, Hamed & Khan, Khalid. (2023). Current Insight into *Nosema* Disease of Honeybees and Their Future Prospective. Pakistan Journal of Zoology.

(57) He N, Zhang Y, Duan XL, Li JH, Huang WF, Evans JD, DeGrandi-Hoffman G, Chen YP, Huang SK. RNA Interference-Mediated Knockdown of Genes Encoding Spore Wall Proteins Confers Protection against *Nosema ceranae* Infection in the European Honey Bee, *Apis mellifera*. Microorganisms. 2021 Feb 27;9(3):505.

(58) Kunat-Budzyńska M, Budzyński M, Schulz M, Strachecka A, Gancarz M, Rusinek R, Ptaszyńska AA. Natural Substances, Probiotics, and Synthetic Agents in the Treatment and Prevention of Honeybee Nosemosis. Pathogens. 2022 Oct 31;11(11):1269.

(59) Grupe AC 2nd, Quandt CA. A growing pandemic: A review of *Nosema* parasites in globally distributed domesticated and native bees. PLoS Pathog. 2020 Jun 18;16(6):e1008580.

(60) Morgan A Roth, James M Wilson, Keith R Tignor, Aaron D Gross, Biology and Management of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Colonies, Journal of Integrated Pest Management, Volume 11, Issue 1, 2020, 1

(61) Morfin, N., Goodwin, P. H., & Guzman-Novoa, E. (2023). *Varroa destructor* and its impacts on Honey Bee Biology. Frontiers in Bee Science, 1.

(62) Yañez O, Piot N, Dalmon A, de Miranda JR, Chantawannakul P, Panziera D, Amiri E, Smagghe G, Schroeder D, Chejanovsky N. Bee Viruses: Routes of Infection in Hymenoptera. Front Microbiol. 2020 May 28;11:943.

(63) Traynor, K. S., Mondet, F., de Miranda, J. R., Techer, M., Kowallik, V., Oddie, M. A. Y., Chantawannakul, P., & McAfee, A. (2020). *Varroa destructor*: A complex parasite, crippling honey bees worldwide. Trends in Parasitology, 36(7), 592–606.

- (64) Wikimedia Foundation. (2024b, May 16). Varroa destructor. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Varroa_destructor
- (65) Jack CJ, Ellis JD. Integrated Pest Management Control of Varroa destructor (Acari: Varroidae), the Most Damaging Pest of (*Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)) Colonies. *J Insect Sci.* 2021 Sep 1;21(5):6.
- (66) Abd El- Wahab, Tarek & Shalaby, Shehata & AL-Kahtani, Saad & Al Naggar, Yahya & Jamal, Zakia & Masry, Saad. (2020). Mode of application of acaricides against the ectoparasitic mite (*Varroa destructor*) infesting honeybee colonies, determines their efficiencies and residues in honey and beeswax.
- (67) Căuia E, Căuia D. Improving the Varroa (*Varroa destructor*) Control Strategy by Brood Treatment with Formic Acid-A Pilot Study on Spring Applications. *Insects.* 2022 Jan 30;13(2):149.
- (68) Cuthbertson, A. G., Wakefield, M. E., Powell, M. E., Marris, G., Anderson, H., Budge, G. E., Mathers, J. J., Blackburn, L. F., & Brown, M. A. (2013). The small hive beetle *Aethina Tumida*: A review of its biology and Control Measures. *Current Zoology*, 59(5), 644–653. (++)
- (69) Neumann, Peter & Evans, Jay & Pettis, Jeff & Pirk, Christian & Schäfer, Marc & Retschnig, Gina & Ellis, James. (2013). Standard methods for small hive beetle research. *Journal of Apicultural Research.* 52.
- (70) Roth, M. A., Wilson, J. M., & Gross, A. D. (2022). Biology and management of small hive beetles (Coleoptera: Nitidulidae): A pest of European honey bee (hymenoptera: Apidae) colonies. *Journal of Integrated Pest Management*, 13(1).
- (71) Sabella G, Mulè R, Robba L, Agrò A, Manachini B. Could Europe Apply a Suitable Control Method for the Small Hive Beetle (Coleoptera: Nitidulidae)? *J Econ Entomol.* 2022 Apr 13;115(2):401-411.
- (72) Hristov P, Shumkova R, Palova N, Neov B. Factors Associated with Honey Bee Colony Losses: A Mini-Review. *Vet Sci.* 2020 Oct 30;7(4):166.

- (73) Feldhaar H, Otti O. Pollutants and Their Interaction with Diseases of Social Hymenoptera. *Insects*. 2020 Mar 1;11(3):153.
- (74) Akashe, Megha & Pawade, Uday & Nikam, Ashwin. (2018). Classification of pesticides: A review. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*. 9. 144-150
- (75) Wikimedia Foundation. (2024, June 7). Pesticide. Wikipedia. <https://en.wikipedia.org/wiki/Pesticide>
- (76) Leska A, Nowak A, Nowak I, Górczyńska A. Effects of Insecticides and Microbiological Contaminants on *Apis mellifera* Health. *Molecules*. 2021; 26(16):5080.
- (77) Alburaki M, Steckel SJ, Williams MT, Skinner JA, Tarpy DR, Meikle WG, Adamczyk J, Stewart SD. Agricultural Landscape and Pesticide Effects on Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Biological Traits. *J Econ Entomol*. 2017 Jun 1;110(3):835-847.
- (78) O'Neal ST, Anderson TD, Wu-Smart JY. Interactions between pesticides and pathogen susceptibility in honey bees. *Curr Opin Insect Sci*. 2018 Apr;26:57-62.
- (79) Burden, C.M., Morgan, M.O., Hladun, K.R. et al. Acute sublethal exposure to toxic heavy metals alters honey bee (*Apis mellifera*) feeding behavior. *Sci Rep* 9, 4253 (2019).
- (80) Antoine Gekière, Maryse Vanderplanck, Denis Michez, Trace metals with heavy consequences on bees: A comprehensive review, *Science of The Total Environment*, Volume 895, 2023, 165084, ISSN 0048-969.
- (81) Dubey, Vinod & Sahoo, Sanjay & Sujatha, B. & Das, Abhibandana. (2022). Impact of Heavy Metals on Honey Bees.
- (82) Zhang, R., Wang, G., Guo, S., Zamora, M.L., Ying, Q., Lin, Y., Wang, W., Hu, M., & Wang, Y. (2015). Formation of urban fine particulate matter. *Chemical reviews*, 115 10, 3803-55 .
- (83) Khan, Azhar & Khan, Aftab & Taha, Hasan & Iqbal, Javed & Muhammad, Arif. (2023). Behavioural impairments, foraging behaviour and brood development of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) driven by air pollutants particulate matter in agro-industrial ecosystem. *Journal of Apicultural Research*. 63. 1-10.

- (84) LeBoeuf, A.C. (2021). Trophallaxis. In: Starr, C.K. (eds) Encyclopedia of Social Insects. Springer, Cham.
- (85) Catania, R., Lima, M. A., Potrich, M., Sgolastra, F., Zappalà, L., & Mazzeo, G. (2023). Are botanical biopesticides safe for Bees (hymenoptera, Apoidea)? *Insects*, 14(3), 247.
- (86) Kumar J, Ramlal A, Mallick D, Mishra V. An Overview of Some Biopesticides and Their Importance in Plant Protection for Commercial Acceptance. *Plants (Basel)*. 2021 Jun 10;10(6):1185.
- (87) Chavana, J., & Joshi, N. K. (2024). Toxicity and risk of biopesticides to insect pollinators in urban and agricultural landscapes. *Agrochemicals*, 3(1), 70–93.
- (88) Leska, A., Nowak, A., Nowak, I., & Górczyńska, A. (2021). Effects of insecticides and microbiological contaminants on *apis mellifera* health. *Molecules*, 26(16), 5080.
- (89) Cappa, F., Baracchi, D., & Cervo, R. (2022). Biopesticides and insect pollinators: Detrimental effects, outdated guidelines, and Future Directions. *Science of The Total Environment*, 837, 155714.
- (90) Islam, R., Ariful Islam, Md., Saha, K. C., Kohinoor, H., & Adnan, S. (2023). Effect of neonocotinoids and biopesticides on the foraging behaviour of honey bee *apis mellifera* L. on rapeseed. *Indian Journal of Entomology*, 1–3.
- (91) Ayilara, Modupe & Adeleke, Bartholomew & Akinola, Saheed & Fayose, Chris Adegoke & Adeyemi, Uswat & Gbadegesin, Lanre & Omole, Richard & Johnson, Remilekun & Uthman, Qudus & Babalola, Olubukola. (2023). Biopesticides as a promising alternative to synthetic pesticides: A case for microbial pesticides, phytopesticides, and nanobiopesticides. *Frontiers in Microbiology*. 14. 1040901.
- (92) Wikimedia Foundation. (2024, May 10). Secondary metabolite. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Secondary_metabolite

