

## Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΡΟΦΟΔΟΤΗΣΗΣ ΤΟΥ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΟΣ DioFarm ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΜΕΛΙΣΣΙΟΥ (ΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ) ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΕΛΙΟΥ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΝΟΣΕΜΙΑΣΗΣ

### Έκθεση προόδου πειράματος

#### Η Ασθένεια

Η νοσεμίαση είναι γνωστή παρασιτική ασθένεια των μελισσών. Τα παθογόνα αίτια είναι δύο πρωτόζωα το *Nosema apis* και το *Nosema cerenae*. Το *N. cerenae* εμφανίστηκε στην Ελλάδα το 2006 και έχει αποδειχθεί ότι είναι περισσότερο θανατηφόρο.

Το παράσιτο εισέρχεται στη μέλισσα κατά την κατάποση με την μορφή σπορίων. Τα σπόρια βλαστάνουν γρήγορα όταν φτάσουν στο μέσο έντερο, στη συνέχεια οι βλαστικές μορφές εισέρχονται στα επιθηλιακά κύτταρα του στομάχου με τη βοήθεια του πολικού νηματίου και πολλαπλασιάζονται ταχύτατα. Μόλις ο κύκλος συμπληρωθεί, τα σπόρια του πρωτόζωου ελευθερώνονται και προσβάλλουν ή τα υγιή κύτταρα της ίδιας μέλισσας ή αποβάλλονται μέσω των κοπράνων και μεταδίδονται σε άλλες υγιείς μέλισσες.

#### Συμπτώματα

Τα συμπτώματα που μπορεί να παρατηρήσουμε από την ασθένεια είναι:

- Χαλάρωση της σύνδεσης των φτερών και αδυναμία πτήσης.
- Διόγκωση της κοιλιάς και αδυναμία χρήσης κεντριού.
- Οι μέλισσες σέρνονται πάνω στο χώμα με τα φτερά ανοιγμένα.
- Πολλές μέλισσες εμφανίζουν διάρροια και λερώνουν όλη την κυψέλη.
- Γρήγορη μείωση του πληθυσμού που οδηγεί σε διαταραχή της αναλογίας μεταξύ ενηλίκων μελισσών και γόνου.
- Σε πολύ βαριές μορφές ο πληθυσμός χάνεται γρήγορα.

Όσον αφορά τα συμπτώματα του *N. cerenae*, οι μέλισσες πεθαίνουν γρηγορότερα και η ασθένεια επιμένει και τους ζεστούς μήνες με τελικό αποτέλεσμα η κατάρρευση του μελισσιού να είναι γρηγορότερη.

#### Διάγνωση

Η διάγνωση της Νοσεμίασης γίνεται με μικροσκοπική εξέταση για την ανεύρεση των χαρακτηριστικών σπορίων. Τα υπό εξέταση δείγματα μπορεί να είναι κοιλίες συλλεκτριών μελισσών, περιττώματα μελισσών, δείγματα από κελλιά της κηρήθρας, δείγματα αποθηκευμένης γύρης σε κελλιά, και γύρη από γυρεοπαγίδα.

**Πίνακας 1.** Πίνακας αντιστοιχίας των спорίων που είναι ορατά στο οπτικό πεδίο του μικροσκοπίου με απλή αντικειμενοφόρο με τα εκ. спорίων *Nosema sp.* ανά μέλισσα.

Conversion Table	
Spores in one field of view	Approximate million spores per bee
1	1/4
2	1/2
3	3/4
4-7	1
8-10	2
10-20	3
15-30	4
20-40	5
30-50	10
80	20
120	30
150	40
200	50

### Αντιμετώπιση

Για την αντιμετώπιση της ασθένειας σημαντικό ρόλο παίζουν οι σωστοί μελισσοκομικοί χειρισμοί αλλά και η σωστή χωροθέτηση του μελισσοκομείου που πρέπει να είναι σε κατάλληλο μέρος.

Όσον αφορά τη χημική αντιμετώπιση της ασθένειας δεν υπάρχει εγκεκριμένο σκεύασμα και η χρήση των αντιβιοτικών έχει απαγορευτεί σε όλη την Ευρώπη από το 2005 και μετά γιατί δεν καθορίστηκαν αρκετές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων στα προϊόντα της μέλισσας. Στην προσπάθεια αντιμετώπισης της ασθένειας και δεδομένου ότι η χρήση αντιβιοτικών στη μελισσοκομία έχει απαγορευτεί έχουν αναπτυχθεί διάφορα μέσα αποτελούμενα κυρίως από εκχυλίσματα φυτών, βιταμίνες, υδατάνθρακες και άλλες ουσίες που διεγείρουν το ένστικτο καθαρισμού των μελισσών και της εκτροφής γόνου προς ανανέωση του πληθυσμού. Ένα τέτοιο σκεύασμα είναι και το υπό μελέτη DioFarm.

### Σχεδιασμός πειράματος

Για τις ανάγκες της μελέτης του σκευάσματος DioFarm για την καταπολέμηση της νοσεμίας και για την παραγωγή μελιού στήθηκε πειραματικό μελισσοκομείο, το οποίο βρίσκεται στον βοτανικό κήπο Διομήδους στο Χαϊδάρι.

Το μελισσοκομείο αποτελείται από 18 μέλισσα με προσβολή από νοσεμία και από 8 μέλισσα τα οποία δεν έχουν προσβολή. Τα μέλισσα αυτά εξισορροπήθηκαν και τοποθετήθηκαν σε όλα αδελφές βασιλίσσες. Γίνεται δειγματοληψία και μέτρηση της προσβολής μία φορά την εβδομάδα.

Για τις ανάγκες του πειράματος τα μέλισσα χωρίστηκαν σε ομάδες έτσι ώστε να μπορεί να μελετηθεί η επίδραση του σκευάσματος συγκριτικά με τα μέλισσα μάρτυρες που δεν γίνεται εφαρμογή. Πιο συγκεκριμένα τα 18 προσβεβλημένα από νοσεμία μέλισσα χωρίστηκαν σε 2 ομάδες των 9. Στην μία ομάδα γίνεται εφαρμογή με το σκεύασμα μία φορά την εβδομάδα σε σιρόπι 1:1 (στο κάθε μέλισσι 0,5 κιλά ζάχαρη και 0,5 λίτρα νερό) με 2ml του σκευάσματος ενώ στην άλλη ομάδα μόνο με σιρόπι 1:1. Τα μέλισσα χωρίς προσβολή χωρίστηκαν σε 2 ομάδες των 4 και γίνεται η αντίστοιχη εφαρμογή όπως παραπάνω.

## Εφαρμογές με DioFarm

Η πρώτη εφαρμογή έγινε την Τετάρτη 18 Μαΐου 2016, η δεύτερη την Τετάρτη 25 Μαΐου 2016, η τρίτη την Τετάρτη 1 Ιουνίου 2016, η τέταρτη την Τετάρτη 8 Ιουνίου και η πέμπτη την Τετάρτη 15 Ιουνίου (πίνακας 2). Έγιναν συνολικά πέντε εφαρμογές για να ολοκληρωθεί η πρώτη φάση του πειράματος και να έχουμε τα πρώτα συγκεντρωτικά αποτελέσματα.

**Πίνακας 2.** Εφαρμογές με DioFarm.

	Τετάρτη 18 μαΐου 2016		Τετάρτη 25 μαΐου 2016		Τετάρτη 1 Ιουνίου 2016			Τετάρτη 8 Ιουνίου 2016		Τετάρτη 15 Ιουνίου 2016	
α/α Μελισσιώ ν με νοσημιασ η	Εφαρμογή με 2 ml DioFarm σε ένα λίτρο σιρόπι 1:1	Σιρόπι 1:1	Εφαρμογή με 2 ml DioFarm σε ένα λίτρο σιρόπι 1:1	Σιρόπι 1:1	Εφαρμογή με 2 ml DioFarm σε ένα λίτρο σιρόπι 1:1	Σιρόπι 1:1		Εφαρμογή με 2 ml DioFarm σε ένα λίτρο σιρόπι 1:1	Σιρόπι 1:1	Εφαρμογή με 2 ml DioFarm σε ένα λίτρο σιρόπι 1:1	Σιρόπι 1:1
N1	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	N1	όχι	ναι	όχι	ναι
N2	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	N2	όχι	ναι	όχι	ναι
N3	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	N3	όχι	ναι	όχι	ναι
N4	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	N4	όχι	ναι	όχι	ναι
N5	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	N5	όχι	ναι	όχι	ναι
N6	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	N6	όχι	ναι	όχι	ναι
N7	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	N7	όχι	ναι	όχι	ναι
N8	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	N8	όχι	ναι	όχι	ναι
N9	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	N9	όχι	ναι	όχι	ναι
N10	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	N10	ναι	όχι	ναι	όχι
N11	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	N11	ναι	όχι	ναι	όχι
N12	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	N12	ναι	όχι	ναι	όχι
N13	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	N13	ναι	όχι	ναι	όχι
N14	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	N14	ναι	όχι	ναι	όχι
N15	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	N15	ναι	όχι	ναι	όχι
N16	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	N16	ναι	όχι	ναι	όχι
N17	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	N17	ναι	όχι	ναι	όχι
N18	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	N18	ναι	όχι	ναι	όχι
α/α Μελισσιώ ν χωρίς νοσημιασ η	Εφαρμογή με 2 ml DioFarm σε ένα λίτρο σιρόπι 1:1	Σιρόπι 1:1	Εφαρμογ ή με 2 ml DioFarm σε ένα λίτρο σιρόπι 1:1	Σιρόπι 1:1	Εφαρμογή με 2 ml DioFarm σε ένα λίτρο σιρόπι 1:1	Σιρόπι 1:1		Εφαρμογή με 2 ml DioFarm σε ένα λίτρο σιρόπι 1:1	Σιρόπι 1:1	Εφαρμογή με 2 ml DioFarm σε ένα λίτρο σιρόπι 1:1	Σιρόπι 1:1
1	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	1	όχι	ναι	όχι	ναι
2	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	2	όχι	ναι	όχι	ναι
3	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	3	όχι	ναι	όχι	ναι
4	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	4	όχι	ναι	όχι	ναι
5	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	5	ναι	όχι	ναι	όχι
6	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	6	ναι	όχι	ναι	όχι
7	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	7	ναι	όχι	ναι	όχι
8	ναι	όχι	ναι	όχι	ναι	όχι	8	ναι	όχι	ναι	όχι

## Συμπεράσματα

Από την πρώτη δειγματοληψία η οποία έγινε μετά τις 2 πρώτες εφαρμογές με DioFarm φαίνεται ότι στα μελίσσια μάρτυρες, στα οποία δεν γίνεται εφαρμογή, η προσβολή είχε αυξηθεί και είχαμε περισσότερα σπόρια νοσεμίας ενώ στα μελίσσια που έγινε εφαρμογή με το σκεύασμα η προσβολή είχε μειωθεί αρκετά, σε άλλα λιγότερο και σε άλλα περισσότερο. Η συνολική πορεία της προσβολής φαίνεται αναλυτικά στο γράφημα 1.

φαίνεται ότι τα μελίσσια που δέχτηκαν εφαρμογή με Diofarm ενώ στην αρχή είχαν μεγαλύτερη προσβολή από νοσεμία παρουσίασαν συνεχόμενη μείωση της προσβολής ενώ αυτά που δεν δέχτηκαν η προσβολή παρέμεινε υψηλή για μεγαλύτερο διάστημα με αποτέλεσμα λιγότερο πληθυσμό, γόνου και μέλι.

Όσον αφορά τον πληθυσμό των μελισσιών φαίνεται από το γράφημα 2 ότι τα μελίσσια που δέχτηκαν εφαρμογή με Diofarm (και αυτά με νοσεμία και ο μάρτυρας) είχαν στην μέτρηση μετά την τελευταία εφαρμογή του DioFarm για νοσεμία περισσότερο πληθυσμό. Στις ομάδες με την νοσεμία, η ομάδα που δέχτηκε εφαρμογή στην αρχή είχε μικρότερους πληθυσμούς από την ομάδα που δεν δέχτηκε εφαρμογή και τελικά την ξεπέρασε αισθητά.

Το σκεύασμα Diofarm φαίνεται να έχει θετική επίδραση για την ανάπτυξη των μελισσιών την άνοιξη.

Η συλλογή μελιού φαίνεται να είναι το μεγαλύτερο πλεονέκτημα του σκευάσματος. Στα γραφήματα 3 και 4 φαίνεται ότι τα μελίσσια που δέχτηκαν εφαρμογή συνέλλεξαν περισσότερο μέλι σε ίδιες συνθήκες με τα υπόλοιπα. Πιο συγκεκριμένα από τα μελίσσια που είχαν προσβολή από νοσεμία, αυτά που δέχτηκαν εφαρμογή είχαν συλλέξει περίπου 1 κιλό παραπάνω ανά κυψέλη ενώ οι μάρτυρες που δεν είχαν προσβολή και δέχτηκαν εφαρμογή είχαν συλλέξει παραπάνω από τους μάρτυρες που δεν δέχτηκαν εφαρμογή περίπου 2,25 κιλά ανά κυψέλη. Τέλος αξίζει να αναφερθεί ότι τα μελίσσια με νοσεμία που δέχτηκαν εφαρμογή με Diofarm είχαν συλλέξει περισσότερο μέλι από τα μελίσσια μάρτυρες που δεν έχουν δεχτεί εφαρμογή.

Σαν πρώτο συμπέρασμα θα μπορούσαμε να πούμε ότι το σκεύασμα Diofarm φαίνεται να έχει θετική επίδραση στην προσβολή από νοσεμία με δεδομένο ότι δεν επιτρέπεται σε ολόκληρη την Ευρωπαϊκή Ένωση κανένα χημικό σκεύασμα. Επίσης έχει θετική επίδραση στην ανάπτυξη του μελισσιού (πληθυσμός και γόνου) αλλά και στην συλλογή μελιού.

Το πειραματικό μελισσοκομείο βρισκόταν στον Βοτανικό κήπο Διομήδους στο Χαϊδάρι, στο σημείο αυτό δεν υπήρχε ούτε νεκταροέκριση ούτε μελιτοέκριση μετά τα μέσα του Ιουλίου 2016 με αποτέλεσμα η νοσεμία να έχει παρουσιάσει μία μικρή αύξηση, μεγαλύτερη στα μελίσσια που δεν έχουν δεχτεί εφαρμογή με Diofarm (Γράφημα 1). Η τελευταία εφαρμογή έγινε στις 15/06/2016 και η τελευταία μέτρηση στις 13/07/2016.

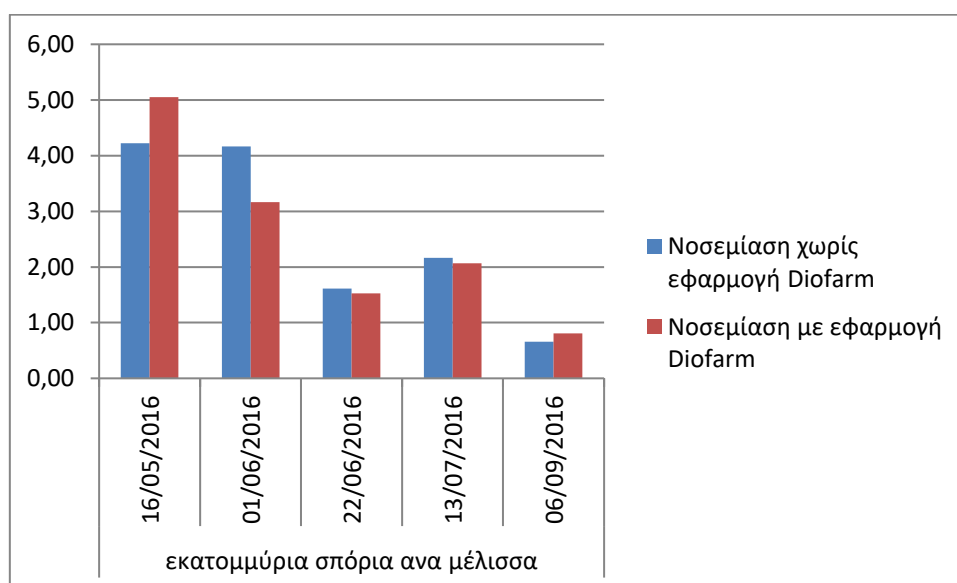
Τα μελίσσια του πειράματος μεταφέρθηκαν στον χώρο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στο τέλος του Ιουλίου επειδή στον χώρο του βοτανικού κήπου Διομήδους δεν υπήρχε μελιτοέκριση και νεκταροέκριση καθώς επίσης υπήρχε και φόβος για τις σφήκες, οι οποίες στο ΓΠΑ αντιμετωπίζονται.

Οι μετρήσεις ανάπτυξης των μελισσιών φαίνονται στα γραφήματα 2,3,4 στα οποία παρουσιάζεται η ανάπτυξη συγκριτικά. Οι ομάδες μελισσιών που έχουν δεχτεί εφαρμογή με Diofarm είχαν μεγαλύτερους πληθυσμούς και περισσότερους γόνους και μέλια την παραγωγική περίοδο των μελισσιών.

Τα μελίσσια του πειράματος αγοράστηκαν ως παραφυάδες με αποτέλεσμα να μην θεωρούνται παραγωγικά μελίσσια για αυτή την χρονιά. Για τις ανάγκες του πειράματος τρυγήθηκαν όσα πλαίσια είχαν μόνο μέλι και θεωρήθηκε ότι μπορούν να αφαιρεθούν για σύγκριση μεταξύ των ομάδων. Τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά για το σκεύασμα Diofarm και φαίνεται να έχει τρυγηθεί περίπου 20% παραπάνω μέλι από τα μελίσσια που έχουν δεχτεί εφαρμογή. Ο τρύγος που έγινε είναι κάτι ενδεικτικό γιατί δεν περιλαμβάνει όλα τα μέλια που έχουν οι κυψέλες όπως τα στεφάνια του γόνου και όπως αναφέρθηκε παραπάνω τα μελίσσια δεν έχουν τον απαραίτητο πληθυσμό για να χαρακτηριστούν παραγωγικά.

### Εξέταση Νοσεμίας

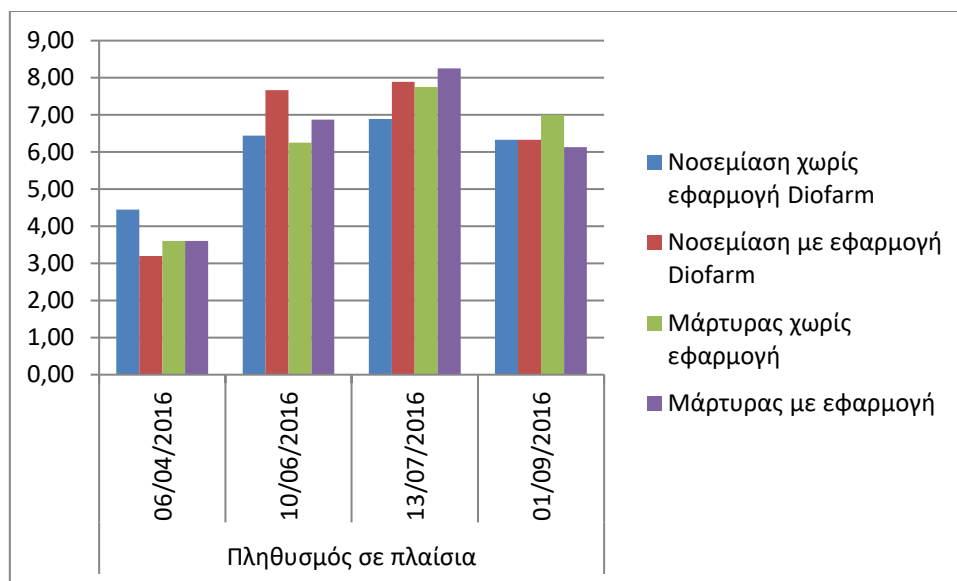
Σε αυτή την φάση του πειράματος (Σεπτέμβριος 2016) η προσβολή της νοσεμίας είναι σε χαμηλό επίπεδο τόσο για τα μελίσσια μάρτυρες όσο και για τα μελίσσια που έχουν γίνει εφαρμογές με το σκεύασμα DioFarm. Υπάρχει μόνο ένα μελίσσι από την ομάδα που γίνεται εφαρμογή και έχει μεγάλη προσβολή από νοσεμία, το οποίο θα μελετηθεί παραπάνω. Στο συγκεκριμένο μελίσσι εκτός από δείγματα μελισσών θα μελετηθούν και δείγματα αποθηκευμένης γύρης, μελιού και κεριού. Στο γράφημα 1 αποτυπώνεται η προσβολή στη διάρκεια του χρόνου.



**Γράφημα 1.** Η προσβολή της νοσεμίας στον χρόνο.

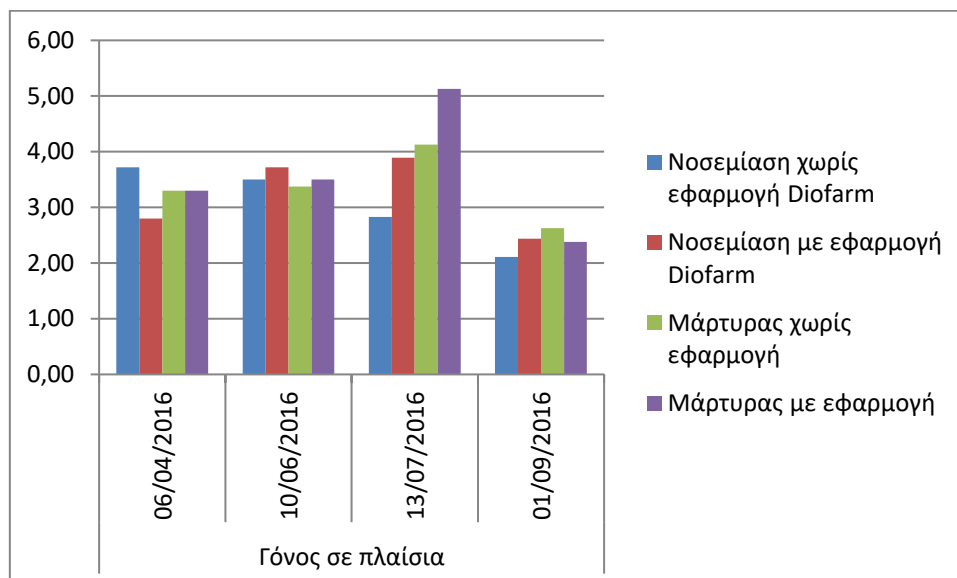
### Μέτρηση μελισσιών.

Στο γράφημα 2 φαίνεται ο πληθυσμός των μελισσιών ο οποίος πλέον είναι περίπου ίδιος σε όλες τις ομάδες.



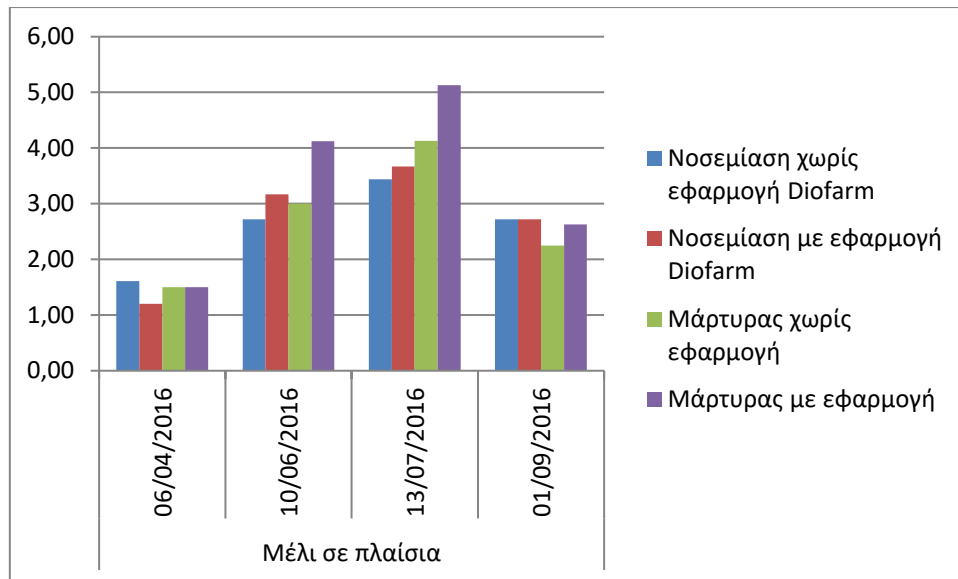
**Γράφημα 2.** Ο πληθυσμός των μελισσιών.

Στο γράφημα 3 φαίνεται ο γόνος των μελισσιών σε πλαίσια. Όσον αφορά τον γόνο λόγω της ξηρής περιόδου του Αυγούστου έχουμε μείωση της ποσότητας του γόνου σε όλες τις ομάδες.



**Γράφημα 3.** Ο γόνος των μελισσιών.

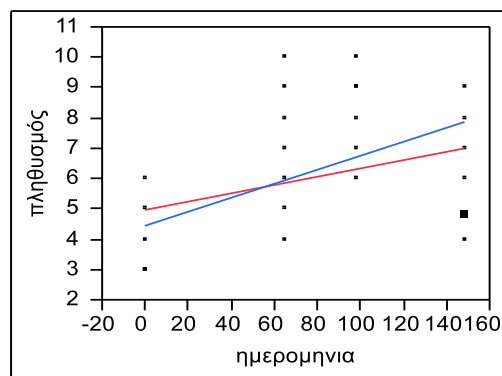
Στο γράφημα 4 φαίνεται το μέλι των διαφόρων ομάδων σε πλαίσια. Λόγω της ξηρής περιόδου του Αυγούστου τα μελίσσια έχουν καταναλώσει μέλι σε σχέση με την προηγούμενη μέτρηση και αυτή την στιγμή είναι όλα περίπου στο ίδιο επίπεδο.



Γράφημα 4. Το μέλι των μελισσιών σε πλαίσια.

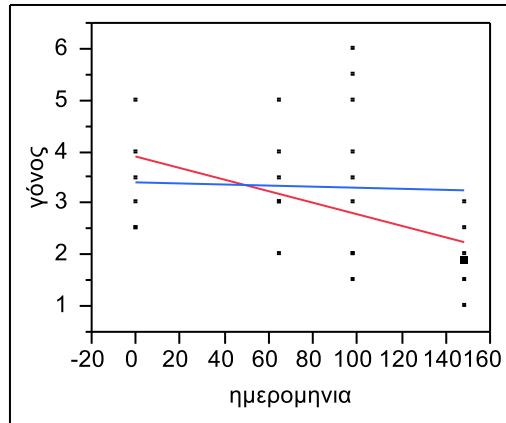
### Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων στην διάρκεια του χρόνου προκύπτουν τα παρακάτω γραφήματα σε γραμμική απεικόνιση για τα μελίσσια που είχαν προσβολή από νοσεμίαση. Η γραμμή με το κόκκινο χρώμα αφορά την ομάδα χωρίς εφαρμογή με DioFarm ενώ η μπλέ την ομάδα με εφαρμογή.



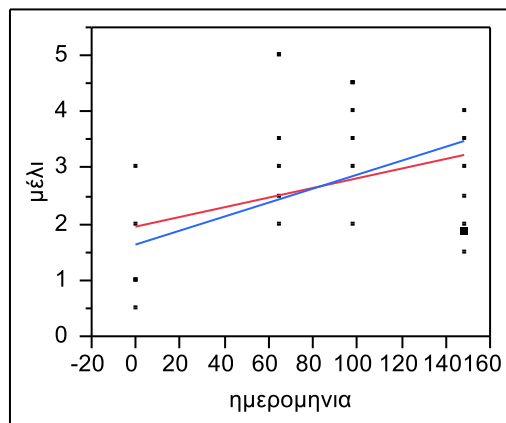
Γράφημα 5. Ο πληθυσμός των μελισσιών στον χρόνο.

Στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5% βρέθηκαν στον γόνο των μελισσιών σε σχέση με την πορεία τους στον χρόνο (γράφημα 6). Παρατηρούμε ότι στην ομάδα που έγινε εφαρμογή με το σκεύασμα ο γόνος παραμένει σταθερός σε σχέση με τον χρόνο ενώ στην άλλη ομάδα μειώνεται. Αυτό είναι μία ένδειξη ότι το σκεύασμα βοηθάει τα προσβεβλημένα από νοσεμίαση μελίσσια να εκθρέψουν καλύτερα τον γόνο. Ο γόνος έχει άμεση σχέση με τον πληθυσμό (γράφημα 5) παρατηρούμε ότι τα μελίσσια με την εφαρμογή έχουν περισσότερο πληθυσμό.



**Γράφημα 6.** Ο γόνος των μελισσιών στον χρόνο.

Όσον αφορά το μέλι (γράφημα 7) τα μελίσσια με την εφαρμογή έχουν συλλέξει περισσότερο χωρίς να έχουμε στατιστικά σημαντική διαφορά. Βέβαια εδώ παίζει σημαντικό ρόλο ότι τα μελίσσια ξεκίνησαν από παραφυάδες και δεν θεωρούνται παραγωγικά για αυτή την χρονιά. Από τον τρύγο του μελιού που έγινε παρατηρήθηκε ότι από τις ομάδες με νοσεμίαση ήταν δυνατό να αφαιρεθούν κάποια πλαίσια με μέλι μόνο από την ομάδα που έγινε εφαρμογή.

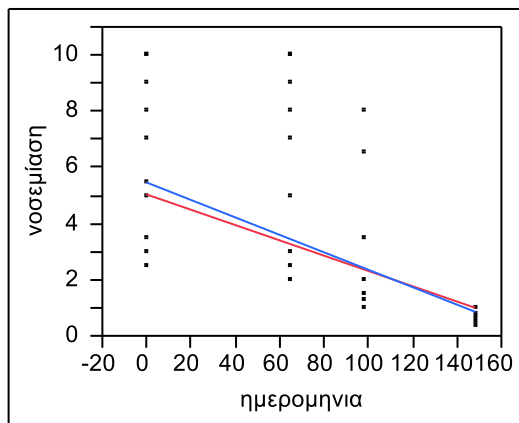


**Γράφημα 7.** Το μέλι των μελισσιών στον χρόνο.

Τέλος η προσβολή από νοσεμίαση (γράφημα 8) μειώθηκε και για τις δύο ομάδες σχεδόν παράλληλα στην γραμμική απεικόνιση με την ομάδα που έχει γίνει εφαρμογή να έχει καλύτερα αποτελέσματα.

Στην επόμενη έκθεση θα αναλυθούν περισσότερα στατιστικά αποτελέσματα.

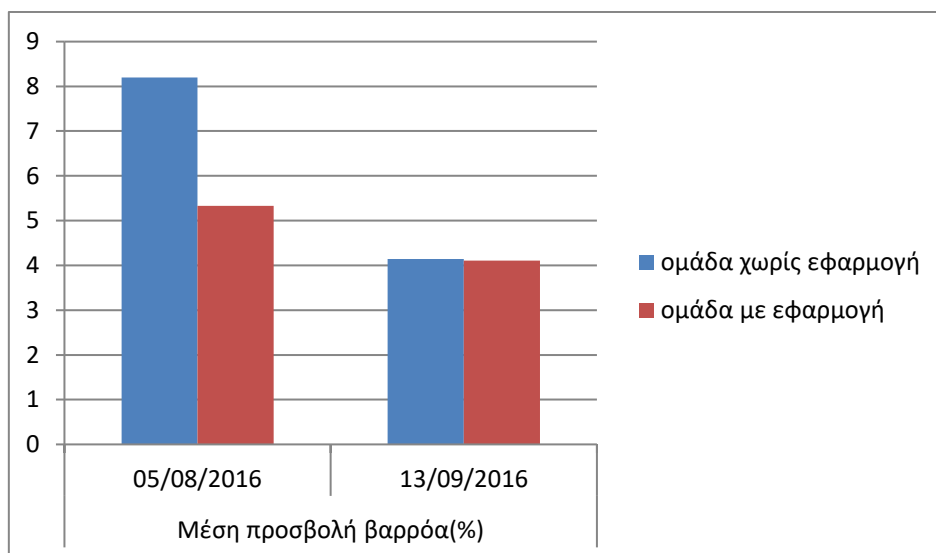




**Γράφημα 8.** Η προσβολή από νοσημιάση στον χρόνο.

### Βαρρόα

Όσον αφορά την εφαρμογή και την μέτρηση του βαρρόα έγινε μία μέτρηση στις 5/8/2016, πριν τις εφαρμογές με DioFarm για βαρρόα σύμφωνα με τις οδηγίες, και μία μέτρηση στις 13/9/2016 μετά τις εφαρμογές. Ενδιάμεσα γίνανε τέσσερις εφαρμογές. Όπως φαίνεται από το γράφημα 5 αρχικά είχαμε στην ομάδα που δεν έγινε εφαρμογή προσβολή 8,2% και στην ομάδα που έγινε εφαρμογή προσβολή 5,3%. Μετά τις εφαρμογές η προσβολή του βαρρόα είναι 4,1% περίπου και στις δύο ομάδες. Από την εφαρμογή αυτή φαίνεται ότι το σκεύασμα δεν είχε κάποια σημαντική επίδραση στην καταπολέμηση του βαρρόα και πρέπει να μελετηθεί παραπάνω.



**Γράφημα 5.** Η προσβολή από βαρρόα (%) πριν και μετά την εφαρμογή.

### Συνέχεια πειράματος

Αυτή την στιγμή τα μελίσσια είναι χωρίς τροφοδοσία και παρατηρείται η εξέλιξη της ασθένειας έτσι ώστε στον κατάλληλο χρόνο να γίνει ακόμα μία φθινοπωρινή εφαρμογή.