

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ : «ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

«Η αντιμετώπιση του κηρόσκορου *Galleria mellonella* με τη χρήση διοξειδίου του άνθρακα
CO₂»



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΚΩΤΟΥΖΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ.

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΧΑΡΙΖΑΝΗΣ ΠΑΣΧΑΛΗΣ

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2019

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΗΡΟΤΡΟΦΙΑΣ & ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

**Η ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΚΗΡΟΣΚΟΡΟΥ *Galleria mellonella* ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ
ΔΙΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ CO₂.**

**CONTROL OF THE GREATER WAX MOTH, *Galleria mellonella* ,USING
CARBON DIOXIDE CO₂ .**

ΚΩΤΟΥΖΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ : 1. Π. ΧΑΡΙΖΑΝΗΣ :ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΜΕΛΗ: 2. Γ. ΓΚΟΡΑΣ :ΕΠΙΚ.ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

3. Ν. ΚΑΒΑΛΛΙΕΡΑΤΟΣ :ΕΠΙΚ.ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2019

ΠΡΟΛΟΓΟΣ - ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.

Η παρακάτω πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου Σηροτροφίας-Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στα πλαίσια των μεταπτυχιακών μου σπουδών. Σκοπός ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας αντιμετώπισης του μεγάλου κηρόσκορου *Galleria mellonella* με τη χρήση διοξειδίου του άνθρακα.

Το θέμα της μελέτης καθορίστηκε σε συνεργασία με τον Επιβλέποντα Καθηγητή κ.Πασχάλη Χαριζάνη, τον οποίο ευχαριστώ θερμά για την πολύτιμη καθοδήγηση και συμπαράσταση σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρακάτω εργασίας.

Ιδιαίτερα, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη και τις ευχαριστίες μου προς τον Επίκουρο καθηγητή κ.Γεώργιο Γκόρα για τις πολύτιμες διευκρινίσεις και τη βοήθεια κατά την πορεία των πειραμάτων.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Νικόλαο Καβαλλιεράτο επίκουρο Καθηγητή, για τις χρήσιμες υποδείξεις του σε όλη την πορεία της εργασίας μου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης το μέλος Ε.Ε.ΔΙ.Π. κ. Δ, Λαζαράκη για την πολύτιμη βοήθειά του και ηθική υποστήριξη σε όλη την πορεία του πειράματος.

Να ευχαριστήσω επίσης και το υπόλοιπο προσωπικό του εργαστηρίου για την αμέριστη συμπαράσταση του στην διεξαγωγή των πειραμάτων.

Τέλος ευχαριστώ την οικογένειά μου για την αγάπη και την υποστήριξη όλα αυτά τα χρόνια και φυσικά το Θεό που μας κρατά ζωντανούς για να συνεχίζουμε την διαδρομή μας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.

| | |
|---|-----------|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ..... | 1 |
| ABSTRACT..... | 3 |
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ..... | 5 |
| 1.ΓΕΝΙΚΑ..... | 5 |
| 2.ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΜΕΓΑΛΟΥ ΚΗΡΟΣΚΟΡΟΥ ΚΑΙ ΖΗΜΙΕΣ ΣΤΗ ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΑ..... | 8 |
| 2.1. Ωό..... | 8 |
| 2.2. Προνύμφη..... | 9 |
| 2.3. Νύμφη..... | 11 |
| 2.4.Τέλειο..... | 12 |
| 2.5. Παραγωγή-χρησιμότητα μελισσοκομικού κεριού..... | 14 |
| 2.6. Εντοπισμένες ζημιές προσβολής..... | 15 |
| 3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΜΕΓΑΛΟΥ ΚΗΡΟΣΚΟΡΟΥ..... | 18 |
| 3.1. Προληπτική αντιμετώπιση..... | 18 |
| 3.2. Χημική καταπολέμηση..... | 20 |
| 3.2.1. Θείο (S)..... | 20 |
| 3.2.2. Φωσφίνη (PH ₃)..... | 23 |
| 3.2.3. Οξικό οξύ (CH ₃ COOH)..... | 24 |
| 3.2.4. Μυρμηκικό οξύ (HCOOH)..... | 24 |
| 3.3. Βιολογική καταπολέμηση..... | 25 |
| 3.3.1. Μικροβιακός έλεγχος..... | 26 |
| 3.3.2. Φυσικοί εχθροί..... | 27 |
| 3.3.3. Νηματώδεις..... | 28 |
| 3.4. Βιοτεχνικές μέθοδοι καταπολέμησης..... | 29 |
| 3.4.1. Παγίδες φερομόνης..... | 29 |

| | |
|--|----|
| 3.4.2. Τροποποίηση κεντρικής εισόδου..... | 29 |
| 3.4.3. Τεχνική εξαπόλυσης στείρων εντόμων..... | 30 |
| 3.5. Φυσικές μέθοδοι καταπολέμησης..... | 31 |
| 3.5.1. Χρήση ψύχους..... | 31 |
| 3.5.2. Χρήση υψηλών θερμοκρασιών..... | 31 |
| 3.5.3. Φυτικά εκχυλίσματα..... | 32 |
| 3.5.4. Όζον (O ₃)..... | 33 |
| 3.5.5. Διοξείδιο του άνθρακα (CO ₂)..... | 33 |
| 3.5.5.1. Ρόλος του CO ₂ στα έντομα..... | 34 |
| 3.5.5.2. Το CO ₂ ως εντομοκτόνο..... | 36 |

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.

1.ΥΛΙΚΑ

| | |
|--|----|
| 1.1. Επωαστήριο..... | 39 |
| 1.2. Εργαστηριακοί κλωβοί..... | 40 |
| 1.3. Δοχεία και σάκοι πολυαιθυλενίου..... | 41 |
| 1.4. Πηγές προμήθειας CO ₂ | 42 |
| 1.5. Μετρητές επιπέδων CO ₂ | 44 |
| 1.6. Λοιπά | 45 |

2. ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Μέθοδος εκτροφής κηρόσκορου.....45

2.2. Μεθοδολογία εφαρμογής CO₂.....48

2.3. Καταγραφή επιπέδων συγκέντρωσης CO₂.....50

2.4. Μέτρα προφύλαξης κατά την εφαρμογή CO₂.....55

2.5. Τύποι και μεθοδολογία πειραμάτων.....56

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....61

ΣΥΖΗΤΗΣΗ– ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....78

ΠΗΓΕΣ.....87

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ96

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.

Ο μεγάλος κηρόσκορος *Galleria mellonella* έντομο της τάξης Lepidoptera και της οικογένειας Pyralidae, εντοπίζεται σε μελίτσια παγκοσμίως. Η σπουδαιότητά του για τη μελισσοκομία είναι δεδομένη προκαλώντας σημαντικές απώλειες στις κηρήθρες αποθηκευμένες ή μη. Επίσης διερευνάται και ως ένας πρότυπος οργανισμός για μελέτες της φυσιολογίας των εντόμων και άλλων μικροοργανισμών.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί κυρίως η επίδραση του CO_2 ως μέθοδος καταπολέμησης του μεγάλου κηρόσκορου η οποία αποτελεί μια εναλλακτική λύση για τον έλεγχο ,αντικαθιστώντας τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα χημικά.

Ο πληθυσμός του εντόμου που χρησιμοποιήθηκε τελικώς ως πειραματικό υλικό προήλθε από άγριο πληθυσμό των κυψελών του μελισσοκομείου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Αρχικά περιγράφηκε και μελετήθηκε η βιολογία του εντόμου καθώς και οι ζημιές που προκαλεί στη **μελισσοκομία**. Στη συνέχεια έγινε ανάλυση όλων των διαθέσιμων μεθόδων ελέγχου που εφαρμόζονται έως σήμερα, ή άλλων που απαγορεύτηκαν και αυτών που ίσως έχουν πιθανότητες να εφαρμοστούν στο μέλλον σε ευρύτερη κλίμακα.

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με έκθεση όλων των σταδίων ανάπτυξης του εντόμου σε διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων αερίου. Ουσιαστικά χρησιμοποιήσαμε συνθήκες ελεγχόμενης ατμόσφαιρας σε όσο το δυνατόν μικρότερο αεροστεγή χώρο για ευκολότερη διαχείριση του αερίου και αποφυγή διαρροών. Η μέθοδος βασίζεται στην αλλαγή της αναλογίας των φυσιολογικών ατμοσφαιρικών αερίων με αύξηση των επιπέδων CO_2 και μείωση του οξυγόνου, για να πετύχουμε μια σύνθεση ατμόσφαιρας ασφυκτικά θανάσιμη για τα έντομα. Επίσης έγιναν μετρήσεις που αφορούσαν την κατανάλωση τροφής των προνυμφών και την ωοπαραγωγική ικανότητα των ακμαίων ώστε να οδηγηθούμε στη βέλτιστη μέθοδο εκτροφής με σκοπό την παραγωγή ικανού αριθμού ωών και συνεπώς εντόμων για την εκτέλεση των υπόλοιπων μετρήσεων.

Στη συνέχεια δοκιμάστηκαν οι παρακάτω μάρτυρες: Δοχεία πολυαιθυλενίου όπου τα έντομα παρέμειναν κλεισμένα χωρίς ανανέωση αέρα, σακούλες κενού με βαλβίδα αφαίρεσης αέρα, τροποποιημένα δοχεία πολυαιθυλενίου με βαλβίδα αφαίρεσης αέρα και βαλβίδα εισαγωγής αερίου και τροποποιημένα δοχεία πολυαιθυλενίου με βαλβίδα εισαγωγής αερίου χωρίς βαλβίδα εξαγωγής αέρα.

Παράλληλα έγινε χρήση επιτραπέζιων μετρητών ποιότητας αέρα που προορίζονται για την καταγραφή των επιπέδων συγκεντρώσεων CO_2 σε εσωτερικούς χώρους ώστε να μετρηθούν οι συγκεντρώσεις αερίου εντός μάρτυρα και οι ενδεχόμενες διαρροές εκτός αυτού. Έγινε προσπάθεια να προσδιορίσουμε την παραμικρή αλλαγή στη συγκέντρωση αερίου που θα προκαλέσει διαταραχές στη συμπεριφορά του κηρόσκορου. Οι συγκεντρώσεις CO_2 δόθηκε η δυνατότητα να καταγραφούν σε **ppm** και να μετατραπούν σε ποσοστό % για την εξεύρεση των απαραίτητων επιπέδων αερίου για την αναισθησία

των προνυμφών και των ακμαίων, της **LD₅₀** όλων των σταδίων και του πλήρη ελέγχου όλων των σταδίων σε σταθερή θερμοκρασία και σχετική υγρασία. Η παραπάνω μέθοδος δείχνει εύχρηστη, οικονομική και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν οδηγός για εφαρμογή σε άλλα είδη εντόμων ή έμβιων οργανισμών. Επομένως χρήζει προσοχής διότι δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία για την εφαρμογή ειδικά στην εντομολογική έρευνα.

Η επίδραση του CO₂ όπως και όλων των αερίων εξαρτάται από τον ρυθμό αναπνοής του εντόμου, με τα διαφορετικά στάδια ζωής να έχουν διαφορετικούς ρυθμούς αναπνοής και άρα διαφορετική αντοχή όπως διαπιστώθηκε και στα αποτελέσματα.

Τα αποτελέσματα επίσης έδειξαν τις απαραίτητες ελάχιστες συγκεντρώσεις αερίου σε σχέση με το χρόνο παραμονής για όλα τα στάδια για την επίτευξη του επιθυμητού αποτελέσματος. Επίσης το CO₂ σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις, παρουσιάζει εντομοτοξική δράση με εξαιρετική δειξοδυσση και εικάζουμε ότι αυτό συμβαίνει επειδή το αέριο είναι βαρύτερο από τον αέρα και επιπροσθέτως δεν υπάρχει απορρόφηση από το κερί.

Τα αποτελέσματα των δοκιμών με τη χρήση μιγμάτων CO₂ στον αέρα σε αρχικές συγκεντρώσεις που κυμαίνονται **από 63% έως 96%**, για παρατεταμένες περιόδους έκθεσης, παρουσιάζονται και οδηγούν σε πλήρη έλεγχο όλων των σταδίων. Ακόμη χρησιμοποιήθηκε και ξηρός πάγος που αποτελεί τη στερεή μορφή του αερίου με τα αποτελέσματα να δείχνουν πως απαιτείται η ποσότητα των 160 gr / κυψέλη τύπου Langstroth για την επίτευξη της ελάχιστης συγκέντρωσης καθολικής αντιμετώπισης όλων των σταδίων. Τελικά αναφέρουμε πως διαπιστώθηκε ότι **1.85 gr CO₂ χρειάζονται ανά λίτρο χώρου για την επιτυχή καταπολέμηση όλων των σταδίων του κηρόσκορου** στα χρονικά πλαίσια και τις συνθήκες που περιγράφονται.

Τέλος στα πλαίσια των πειραμάτων επιχειρήθηκε να εξακριβωθούν τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα της μεθόδου, συγκρίνοντας την εφαρμογή CO₂ με τις υπόλοιπες διαθέσιμες τεχνικές.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:Κηρόσκορος, διοξείδιο του άνθρακα, μελισσοκομία, μετρητές

CONTROL OF THE GREATER WAX MOTH, *Galleria mellonella* ,USING CARBON DIOXIDE CO₂ .

ABSTRACT.

The greater wax moth *Galleria mellonella* , belongs in the order of Lepidoptera and the family Pyralidae, is found in bee colonies worldwide. Its importance for beekeeping is given by causing significant losses especially in stored honeycombs. It is also being explored as a model organism for insect physiology studies and other microorganisms.

The purpose of this thesis is to study mainly the efficiency of CO₂ as a method of controlling the greater wax moth, which is an alternative method, replacing the most commonly used chemicals.

The insect population used as experimental material ,originated from the laboratory's colonies.The biology of the insect was described in the first chapter, as well the damage it causes to beekeeping industry. An analysis of all available control methods applied to date, or of others that have been banned and those that may be likely to be applied in the future on a larger scale, has then been analyzed.

The experiments were performed by exposing all stages of the insect to different levels of gas concentrations. We used controlled atmosphere in the smallest space as possible and airtight conditions, for easier gas management without leakage.The method is based on changing the proportion of normal atmospheric gases by increasing CO₂ levels and reducing oxygen, in order to achieve an atmospheric composition that is suffocatingly deadly for insects. Measurements were also made regarding the food consumption of the larvae and the laying capacity of moths that lead to the optimum rearing method in order to produce a sufficient number of eggs and therefore insects to carry out the remaining measurements of the experiment.

The control methods used and tested were : Polyethylene containers where the insects remained enclosed without air renewal, vacuum bags with air removal valve, modified polyethylene containers with air removal valve and gas inlet valve and modified polyethylene containers with a gas inlet valve without an exhaust valve.

At the same time, air quality data loggers were used to record indoor CO₂ concentration levels , measure gas concentrations in the chambers and any leaks outside of them. An effort has been made to identify the smallest change in gas concentration that will cause disturbances in the insect behavior.

Concentrations of CO₂ were recorded in ppm and converted to % in order to find the necessary gas levels for larval anesthesia, the LD₅₀ of all stages and the complete control of all stages at constant temperature and relative humidity. The above method is

easy to use, economical and can be used as a guide for application to other species of insects or living organisms. Therefore, caution is needed because no data are available for application specifically to entomological research.

The effect of CO₂ as well as all of gases depend on the respiration rate of the insect, with different life stages having different breathing rates and therefore different tolerance as we found in our results.

The results also showed the necessary minimum gas concentrations in relation to the residence time for all stages, needed to achieve the desired result. Also, CO₂ at very high concentrations shows entomotoxic action with excellent penetration and we suspect that this is because the gas is heavier than air and in addition there is no absorption from the wax.

The test results showed that using CO₂ mixtures in air at initial concentrations ranging from 63% to 96% for prolonged exposure periods, lead to full control of all stages. Dry ice, which is the solid face of gas, was also used, with the results showing that a quantity of 160 gr / Langstroth type hive, was required to achieve the minimum concentration for control of all stages. It was found that 1.85 gr CO₂ is needed per liter of space to successfully control all stages of the insect, in the timeframes and conditions described.

Finally, with these experiments, we attempted to identify the advantages and disadvantages of the method by comparing the application of CO₂ with the other available techniques.

KEY WORDS: *Galleria mellonella*, carbon dioxide, loggers ,control.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΓΕΝΙΚΑ

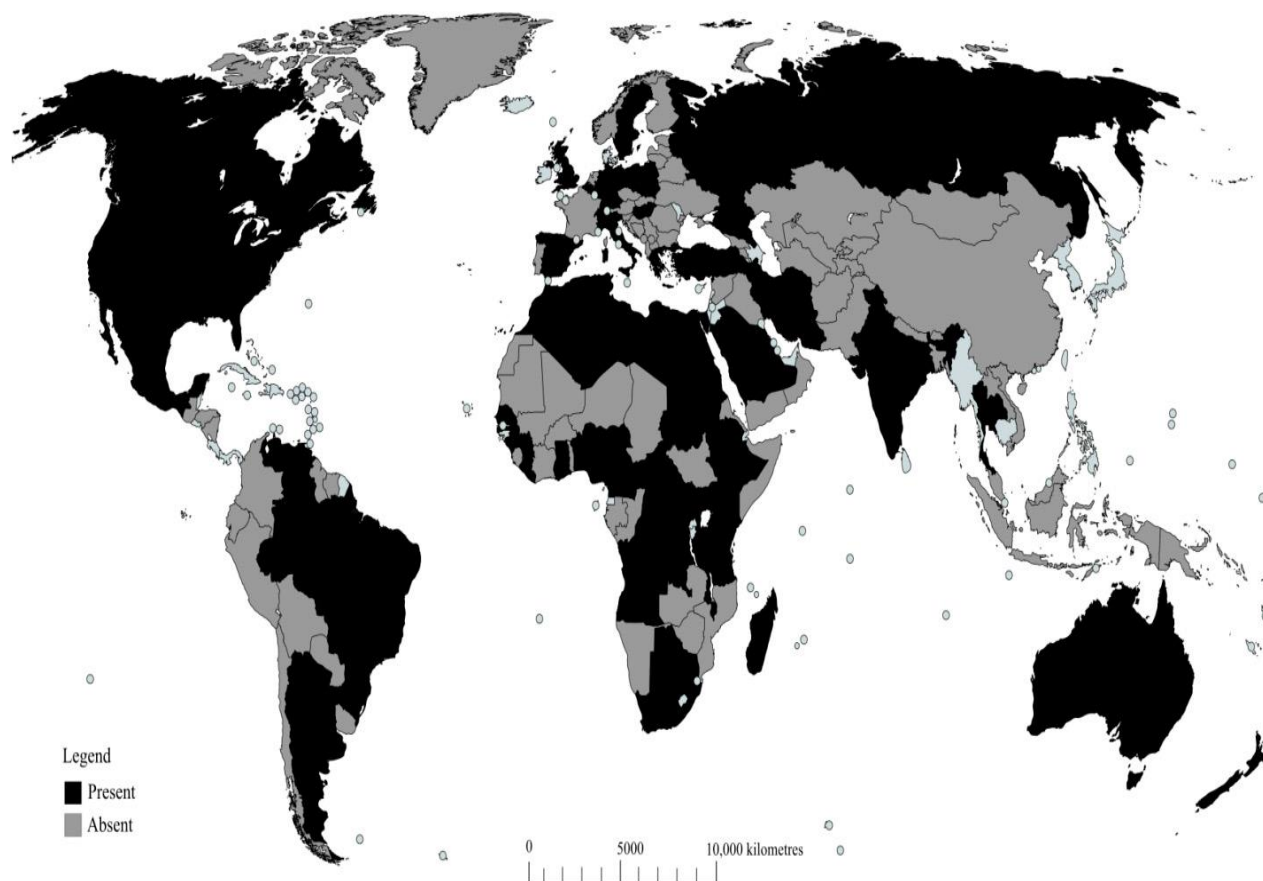
Εδώ και χιλιετίες ο άνθρωπος προσπαθεί να αναπτύξει δεσμούς με τη μελιτοφόρο μέλισσα, με κυριότερη δραστηριότητα την προσπάθεια συλλογής των προϊόντων της. Δοκιμάστηκαν αρκετοί τρόποι συλλογής και αργότερα με την εφεύρεση της κυψέλης εντατικοποιήθηκε η μελισσοκομία που αποτελεί αναπόσπαστο τμήμα της σημερινής γεωπονικής επιστήμης και γεωργίας. Η **Ελλάδα** διαθέτει περίπου **1,6 εκ** μελίσσια, που μεταφράζεται στο **11,8%** του συνόλου της Ε.Ε.. Συναντάμε **21.000** μελισσοκομικές εκμεταλλεύσεις. Άλλες τρεις χώρες συμπληρώνουν μαζί με τη δική μας ,την τετράδα με την υψηλότερη κατοχή κυψελών πανευρωπαϊκά: Η Ισπανία με 17,8% η Γαλλία με 9,7% και η Ιταλία με 8,2%. Στη χώρα μας παρατηρείται μέσος όρος αριθμού κατοχής ενεργών μελισσοσμηνών κοντά στα **70**, που είναι από τους υψηλότερους στην Ευρώπη. Επίσης υπάρχει και η μεγαλύτερη πυκνότητα μελισσιών με αναλογία **10 αποικιών/km²**. Το μεγαλύτερο ποσοστό ασκεί **νομαδική** μελισσοκομία και μόνο ένα πολύ μικρό μέρος κυρίως στη νησιωτική Ελλάδα, **στατική**. Η ετήσια παραγωγή μελιού είναι **15.000** τόνοι με κάλυψη του **90%** των εγχώριων αναγκών κατανάλωσης κυρίως από μέλι κωνοφόρων σε ποσοστό 65-70% και ανθόμελων στο 30-35%. Στη χώρα μας το 1950 ξεκίνησε η χρήση κυψέλης τύπου **Langstroth** που απαντάται έως και σήμερα στη συντριπτική πλειοψηφία εκμεταλλεύσεων, διαστάσεων 51 cm x 42cm x 24cm, με δέκα πλαίσια και χωρητικότητα 448mm x 231mm. Η Langstroth χρησιμοποιείται στην Αμερική ,την Ευρώπη, την Ασία, την Αφρική και την Αυστραλία. Όχι τόσο συχνά χρησιμοποιούνται επίσης οι κυψέλες **Dadant** και φυσικά υπάρχει πληθώρα παραλλαγών διάφορων τύπων και συνεχόμενων δοκιμών για νέους τύπους σε κάθε μελισσοκομικά ενεργή χώρα και ιδιαίτερη περιοχή.(www.minagric.gr, www.euroopa.com).

Οι εχθροί και οι ασθένειες αποδυναμώνουν το μελισσοσμήνος μειώνοντας την παραγωγή προϊόντων και την πολύτιμη επικοινωνία. Υπάρχουν δύο είδη λεπιδοπτέρων της οικογένειας Pyralidae, ο μεγάλος κηρόσκορος ***Galleria mellonella*** και ο μικρός, ***Achroia grisella***, που όμως δημιουργεί μικρότερο πρόβλημα. Ο μεγάλος κηρόσκορος ***G. mellonella***, είναι αναμφίβολα σημαντικός εχθρός της μελισσοκομίας παγκοσμίως και συναντάμε τις πρώτες αναφορές από την εποχή του Αριστοτέλη (284 π.Χ.) στα γραπτά που αφορούν γεωργικά θέματα. Είναι ένα βλαβερό παράσιτο της κυψέλης ειδικά στις θερμότερες περιοχές του κόσμου. Αποτελεί παράσιτο αποικιών πολλών ειδών μελισσών (Hymenoptera: Apidae), συμπεριλαμβανομένων των *Apis mellifera*, *A. Cerana*, *A. dorsata*. και *A. florea*. (Ellis 2013) καθώς και αποικιών ειδών άγριων μελισσών. Πρώτη αναφορά ως παράσιτο έγινε στην Ασία, αλλά στη συνέχεια εξαπλώθηκε στη βόρεια Αφρική, τη Μεγάλη Βρετανία, ορισμένα μέρη της Ευρώπης, τη Βόρεια Αμερική και τη Νέα Ζηλανδία.(Ellis 2013)

Το έντομο είναι πλέον διανεμημένο σε ολόκληρο τον πλανήτη που διαθέτει μελισσοκομικές μονάδες και προβλέπεται ότι θα εξαπλωθεί περαιτέρω, ιδίως λόγω της ευμεταβλητότητας του κλίματος. Η φύση του είναι πολυδιάστατη σήμερα ,καθώς αποτελεί χρήσιμο μοντέλο στην μελέτη της παθολογίας και φυσιολογίας των εντόμων. Οι προνύμφες είναι εξαιρετικά μοντέλα in vivo και έχουν χρησιμοποιηθεί στη μελέτη διαφορετικών ειδών μυκήτων. Προτιμάται στις εντομολογικές μελέτες, λόγω των διατροφικών τους αναγκών που καλύπτονται και με παρασκευή τεχνητής τροφής, της ικανοποιητικής προσαρμογής και της μικρής διάρκειας ανάπτυξης σε συνθήκες εργαστηρίου. Επίσης δεν απαιτεί ηθική έγκριση ,γεγονός που το καθιστά ιδανικό για χρήση ως πειραματόζωο σε ποικιλία μελετών εντομολογικής ή μικροβιακής φύσεως. Χρησιμοποιείται συγκεκριμένα ως ξενιστής για μαζική εκτροφή αρκετών ειδών υμενοπτέρων παρασιτοειδών όπως το *Pimpla turionellae* της οικογένειας Ichneumonidae. Ακόμη η προνύμφη πολύ πρόσφατα έχει προσελκύσει ενδιαφέρον για την ικανότητα να καταναλώνει και να χωνεύει πολυαιθυλένιο το οποίο αποτελεί το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο πλαστικό στη Γη. Παρουσιάστηκε διερευνητική μελέτη των Bombelli et al., (2017) και προσδίδει νέες ιδιότητες που αφορούν την βιοαποικοδόμηση του πολυαιθυλενίου, παράγοντας αιθυλενογλυκόλη. Σε εργαστηριακά πειράματα περίπου 100 προνύμφες κατανάλωσαν 92 χιλιοστόγραμμα κοινής πλαστικής σακούλας πολυαιθυλενίου κατά τη διάρκεια 12 ωρών. Οι προνύμφες διασπών το πολυαιθυλένιο σε αιθυλενογλυκόλη και η απώλεια μάζας 13% πολυαιθυλενίου σε 14 ώρες έχει τεκμηριωθεί σε μεμβράνες πολυαιθυλενίου βάρους 2,2 gr/ημέρα και 15,5gr/εβδομάδα.

Επίσης χρησιμοποιείται ως μοντέλο απομόνωσης εντομοπαθογόνων μυκήτων μέσω προσβολής με την μέθοδο (*Galleria Bait*). Συγκεκριμένα οι προνύμφες είναι ένας εξαιρετικός οργανισμός μοντέλο για δοκιμές τοξικολογίας, αντικαθιστώντας τη χρήση μικρών θηλαστικών. Στη γενετική, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να μελετήσουν την κληρονομική στειρότητα. Ακόμη αποτελεί εξαιρετικό δόλωμα κυρίως για ψάρια γλυκού νερού και τροφή για εντομοφάγα ζώα. Δυστυχώς όμως μεγάλες οικονομικές απώλειες που φθάνουν το **60 έως 70%** παρατηρούνται στους επαγγελματίες μελισσοκόμους παγκοσμίως κάθε χρόνο ,με κυριότερη την προσβολή κηρηθρών στην αποθήκη ειδικά στις αναπτυσσόμενες χώρες, π.χ. η Νότια Αμερική χάνει 4-5% των κερδών της ανά έτος (Hanumanthaswamy et al., 2009). Η αυξημένη ευαισθητοποίηση των περιβαλλοντικών ρυθμιστικών αρχών, των υγειονομικών υπηρεσιών και των καταναλωτών σχετικά με τη δυνητική βλάβη από τα χημικά υπολείμματα στα τρόφιμα και τις επιπτώσεις στο περιβάλλον οδήγησε στην περιορισμένη χρήση χημικών εντομοκτόνων στα τρόφιμα αλλά και στους χώρους παραγωγής & αποθήκευσης επηρεάζοντας και τη μελισσοκομία. Έχουν αναπτυχθεί μέτρα για την πρόληψη και διαχείριση του κηρόσκορου, αλλά πολλά έχουν ανεπίλυτα μειονεκτήματα που θα αναλυθούν παρακάτω. Ακόμη η E.P.A. έχει καταχωρήσει ως απολύτως καρκινογόνα για τον άνθρωπο το (p-DCB) και το (EDB) όπως και την ναφθαλίνη ως υπεύθυνη για πιθανές καρκινογενέσεις και ανεπανόρθωτες βλάβες στα μάτια, όλες ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν σε μεγάλη κλίμακα για την καταπολέμηση του κηρόσκορου παγκοσμίως. Τα γεγονότα μαρτυρούν το υπαρκτό

πρόβλημα με τα κατάλοιπα των συγκεκριμένων ουσιών που δεν άφησε ανεπηρέαστη και την Ελλάδα, καθώς η χημική καταπολέμηση είχε θεωρηθεί ως η ιδανική λύση κατά του κηρόσκορου. Αποτέλεσμα ήταν η δημιουργία σοβαρής κρίσης στην ελληνική μελισσοκομία, πλήγμα στην αξιοπιστία των παραγωγών με αποτέλεσμα πτώση πωλήσεων και απώλεια εισοδήματος του μελισσοκόμου. Μια νέα προσέγγιση για τον έλεγχο αυτού του παρασίτου ήταν η αντικατάσταση της παραδοσιακά χρησιμοποιούμενης χημικής καταπολέμησης, με φυσικές μεθόδους φιλικές προς το περιβάλλον χωρίς κατάλοιπα στα προϊόντα όπως αυτή που εξετάζουμε παρακάτω.



Εικόνα 1. Παγκόσμια γεωγραφική εξάπλωση του *Galleria mellonella*.(Kwadha et al., 2017)

2. ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΜΕΓΑΛΟΥ ΚΗΡΟΣΚΟΡΟΥ ΚΑΙ ΖΗΜΙΕΣ ΣΤΗ ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΑ

Πρόκειται για νυκτόβιο λεπιδόπτερο της οικογένειας **Pyralidae**. Ο βιολογικός κύκλος του εξελίσσεται ως ολομετάβολο σε τέσσερα στάδια: ωό, προνύμφη, νύμφη και ακμαίο. Γενικά, τα ωά εναποτίθενται στις αρχές της άνοιξης και συνήθως συμπληρώνει **τέσσερις έως έξι γενεές** ετησίως στην Ελλάδα και γενικά παρουσιάζεται δραστήριο κυρίως από τον Απρίλιο έως τον Οκτώβριο σε εύκρατα κλίματα. Τον Δεκέμβριο, τα ωά, οι προνύμφες και οι νύμφες εισέρχονται σε διάπαυση και διαχειμάζουν αναμένοντας την άνοδο της θερμοκρασίας. Ο βιολογικός κύκλος μπορεί να διαρκέσει από 6 εβδομάδες έως 6 μήνες ανάλογα με την επικρατούσα θερμοκρασία και τη διαθέσιμη τροφή. Θερμοκρασία στους 28-30°C και επίπεδα υγρασίας έως 65% είναι βέλτιστα για ανάπτυξη όλων των σταδίων και φυσιολογική ανάπτυξη των προνυμφών αναφέρεται σε θερμοκρασίες έως 32°C. Μέσες θερμοκρασίες υψηλότερες από 43 ° C ή χαμηλότερες από 0 ° C, αναφέρονται πως είναι θανατηφόρες για όλα τα στάδια. Ακόμη σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από 23°C αναφέρεται η ολοκλήρωση μόνο μίας γενιάς / έτος σύμφωνα με τα υπάρχοντα δεδομένα που συλλέχθηκαν από πλήθος επιστημονικών εργασιών (Banks 1979, Cantwell 1980). Επίσης κανένα αναπτυξιακό στάδιο του κηρόσκορου δεν βλάπτει ζωντανά στάδια ανάπτυξης μελισσών δρώντας συνήθως ως δευτερογενής προσβολή σε ήδη εξασθενημένα μελίσσια.

Πίνακας 1.Συστηματική κατάταξη Κηρόσκορου.Πηγή :Wikipedia.

| | |
|-----------------------|-------------------|
| Βασίλειο | Animalia |
| Φύλο | Arthropoda |
| Κλάση | Insecta |
| Τάξη | Lepidoptera |
| Οικογένεια | Pyralidae |
| Υποοικογένεια | Gallerinae |
| Γένος | <i>Galleria</i> |
| Είδος | <i>mellonella</i> |
| Κοινή ονομασία | Κηρόσκορος |

2.1. Ωό

Τα ωά εναποτίθενται από το τέλειο σε μικρές ρωγμές στην κυψέλη σε συστάδες διαφορετικού αριθμού, ανάλογα με τις κλιματολογικές συνθήκες που επικρατούν στην περιοχή ωοτοκίας. Συστάδες 50-150 έχουν αναφερθεί στις Ηνωμένες Πολιτείες, ενώ συστάδες 300-600 έχουν αναφερθεί συνήθως στην

Ινδία. Μέχρι και 1800 έχουν εναποτεθεί από ένα μόνο θηλυκό. Τα ωά είναι ομαλά και σφαιρικά σε εμφάνιση, με μέγεθος που κυμαίνεται από 0,4 έως 0,5 mm. Ο χρωματισμός κυμαίνεται από ροζ μέχρι λευκό και μπορούν να επωάζονται από 7,2 έως 21,8 ημέρες (Hood 2010).



Εικόνα 2. Ωά κηρόσκορου όπως συλλέχθηκαν απο εργαστηριακή εκτροφή.

2.2. Προνύμφη

Είναι το κύριο στάδιο ανάπτυξης που προκαλεί οικονομικές απώλειες στη μελισσοκομία σε όλο τον κόσμο. Μέγιστη προσβολή έχει καταγραφεί κατά τη διάρκεια των καλοκαιρινών και φθινοπωρινών μηνών και είναι δραστήρια κυρίως από Απρίλιο μέχρι Σεπτέμβριο στις συνθήκες που επικρατούν στην Ελλάδα. Έχουν μέγεθος από 3 έως 30 mm με λευκό ή γκρι προς μαύρο χρώμα ,αναλόγως του είδους τροφής που καταναλώνουν. Μόλις επωαστούν επαρκώς τα ωά, εκκολάπτονται και αρχίζουν να τρέφονται συνήθως στο μέσο τμήμα της κηρήθρας, με ικανή ποσότητα γύρης, μικρών ποσοτήτων πρόπολης, μελιού και υπολείμματα γόνου όπως οι αποδερματώσεις μέσα στα κελιά. Η σίτιση αναφέρεται πως είναι εντονότερη στις τελευταίες ηλικίες σε σύγκριση με τις νεότερες. Η νεοεκκολαπτόμενη προνύμφη αναζητά αμέσως μια κηρήθρα για να τροφοδοτηθεί και να κατασκευάσει σήραγγες που επενδύει με μετάξινα νήματα και επισημαίνεται πως κάθε μία ανοίγει τη δική της στοά. Στη συνέχεια καταναλώνει το κερί και προστατεύεται μέσα σε αυτή από την άμυνα των μελισσών. Τονίζεται πως μετάξινα νήματα πλέκονται σε όλες τις προνυμφικές ηλικίες και παρατηρήθηκε ότι οι νεαρές παραμένουν αρχικά στο κάτω μέρος της κυψέλης πριν ξεκινήσουν να τρέφονται. Έχουν ανάγκη από πρωτεϊνούχες τροφές και συνεπώς προτιμούν να προσβάλλουν παλιές μαύρες αποθηκευμένες αλλά και μέσα στην κυψέλη κηρήθρες που δεν καλύπτονται από μέλισσες ,ενώ προσβάλλει πολύ λίγο τις νεόκτιστες. Υπό

ιδανικές συνθήκες, το βάρος των προνυμφών μπορεί να διπλασιαστεί καθημερινά κατά τις πρώτες 10 ημέρες και φθάνει το μέσο βάρος των 240mg. Επάνω στον ιστό που δημιουργούν βρίσκονται κολλημένα τα μαύρα κόπρανά τους, που έχουν τη μορφή πέλλετ. Μπορούν να παραμείνουν σε αυτό το στάδιο για διάστημα 28 ημερών έως 6 μηνών, κατά τη διάρκεια των οποίων υποβάλλονται σε οκτώ έως δέκα εκδύσεις. Στην τελευταία ηλικία κατασκευάζουν βομβύκιο και εισέρχονται στο στάδιο της νύμφης. Οι μεγάλης ηλικίας όταν νυμφωθούν δημιουργούν πτυχώσεις στα ξύλινα μέρη της κυψέλης τα οποία μπορεί να χρησιμεύσουν ως καταφύγια ή θέσεις νύμφωσης των μικρότερων. Επίσης έχει παρατηρηθεί διάβρωση των ξύλινων μερών των πλαισίων ή της κυψέλης στα σημεία που επιλέχθηκαν για τη νύμφωση. Ο αριθμός των βομβυκίων που μετρήθηκαν σε κυψέλη τύπου Langstroth έφτασε έως 10.000 και κατά μέσο όρο 250 προνύμφες κανονικού μεγέθους μπορούν να αναπτυχθούν σε μια κηρήθρα. Ο αριθμός των προνυμφών που νυμφώνονται επιτυχώς αντιπροσωπεύει περίπου τα 2/3 του ποσοστού ωοτοκίας των ακμαίων. Η διαχείμαση γίνεται μέσα στις κυψέλες που έχουν γόνο και η θερμοκρασία είναι υψηλότερη από τις υπόλοιπες, είτε στις αποθήκες. Συγκεκριμένα ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης των προνυμφών είναι οι 29°C και σταματά σε <15°C. (Ellis et al 2013, Hood 2010, Shimanuki 1997).



Εικόνα 3. Προνύμφη κηρόσκορου στο τελικό μέγεθος ανάπτυξης.

2.3. Νύμφη

Οι νύμφες είναι ακίνητες, δεν τρέφονται και παραμένουν στο βομβύκιο για 1 έως 9 εβδομάδες μέχρι να εμφανιστούν τα ενήλικα. Το μέγεθος κυμαίνεται από 14 έως 16 mm μήκος και 5-7 mm διάμετρο. Οι θηλυκές είναι κατά κανόνα μακρύτερες από τις αρσενικές. Αρχικά έχουν άσπρο χρώμα, αλλά σταδιακά αλλάζουν σε σκούρο καφέ καθώς προχωρά η ανάπτυξη λίγο πριν την έξοδο των ακμαίων (Ellis et al 2013).



Εικόνα 4. Πλοκή βομβυκίου προς νύμφωση.



Εικόνα 5. Νύμφες σε προσβεβλημένη κηρήθρα.

2.4.Ενήλικο

Τα ενήλικα εντοπίζονται με αποχρώσεις καφέ έως γκρι και κυμαίνονται από 10 έως 18 mm σε μήκος. Το άνοιγμα των φτερών είναι 30 έως 41 mm ,με τα θηλυκά να είναι μεγαλύτερα και βαρύτερα από τα αρσενικά. Τα θηλυκά διαθέτουν χαρακτηριστική κεφαλή με προβοσκίδα, ενώ τα αρσενικά μια εγκοπή στη θέση των στοματικών μορίων. Τα αρσενικά έχουν πιο ανοικτό χρώμα και χαρακτηριστικές γραμμές στο πρόσθιο ζεύγος πτερύγων. Τα τέλεια δεν προκαλούν ζημιά, επειδή τα στοματικά τους μόρια είναι ατροφικά ,συνεπώς δεν τρέφονται κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Γενικά παρατηρήθηκε πως μπορούν να ζήσουν μέχρι 1 μήνα αναλόγως συνθηκών και 24-29°C είναι η καταλληλότερη θερμοκρασία ανάπτυξης με κατώτερη ανεκτή τους 10°C.

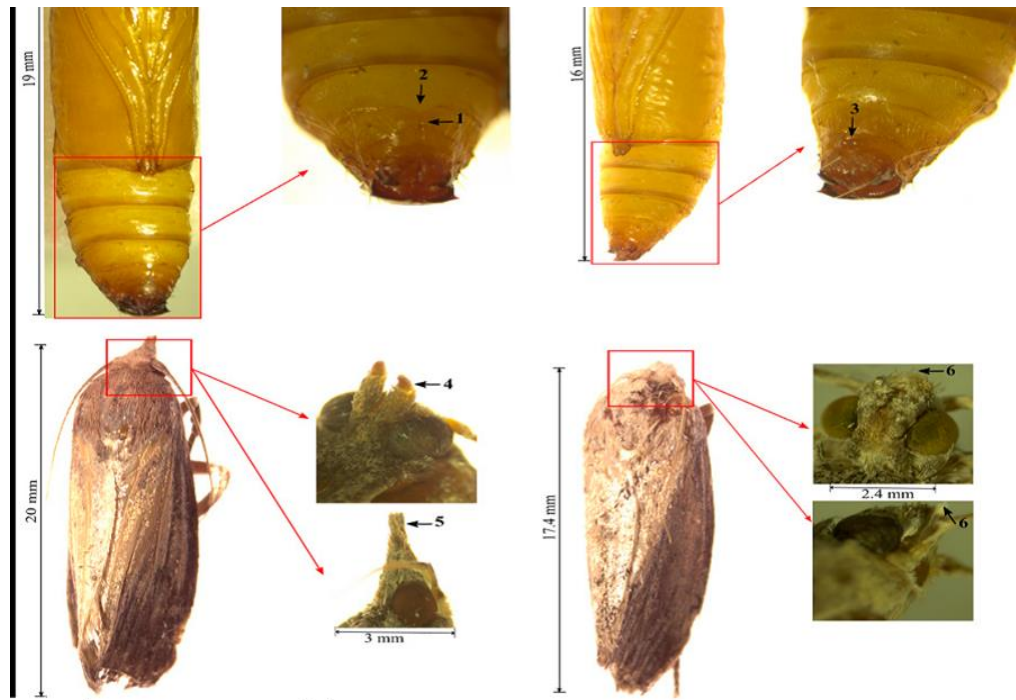
Μετά την έξοδο από το βομβύκιο, το θηλυκό είναι σε θέση να συζευχθεί σε 24 ώρες και να αρχίσει άμεσα την ωοτοκία. Αναφέρεται πως τα αρσενικά είναι σε θέση να παράγουν υπερηχητικούς παλμούς, συχνότητας 75Hz, με ταχύτητα μετάδοσης 200m/s οι οποίοι, μαζί με την παραγωγή φερομονών, χρησιμοποιούνται στην προσέλκυση των θηλυκών. Τα θηλυκά ανταποκρίνονται σηκώνοντας τα φτερά και εκπέμποντας συχνότητες 40-80 Hz, που ανιχνεύονται από τα αρσενικά, προς επιτυχή σύζευξη. Το ακμαίο θηλυκό εναποθέτει συνήθως 300 έως 800 αυγά σε ένα διάστημα που διαρκεί 3 έως 30 ημέρες. Ο επηρεασμός της ωοτοκίας και του μεγέθους προέρχεται ξεκάθαρα από την τροφή που κατανάλωσε η προνύμφη μέχρι να φθάσει στο τελικό στάδιο. Τα θηλυκά ζευγαρώνουν και εκτός κυψέλης, επιστρέφοντας για να ωοτοκήσουν ,με τα αρσενικά να εντοπίζονται επίσης εντός και εκτός κυψέλης. Η μέθοδος του αιφνιδιασμού χρησιμοποιείται ώστε να παρακάμψουν τις μέλισσες φρουρούς και να εισέρθουν στο εσωτερικό προς ανεύρεση θέσεων ωοτοκίας τις νυχτερινές ώρες κυρίως . Μόλις εισέλθουν στην κυψέλη, εναποθέτουν ωά σε προστατευμένες ρωγμές, για να μην εντοπιστούν από τις καθαρίστριες, εσωτερικά στο κατασκευαστικό υλικό της κυψέλης και εξέρχονται από την αποικία τις πρωϊνές ώρες. (Jones et al. 2002, Ellis et al, 2013). Είναι νυκτόβια (**αρνητικός φωτοτροπισμός**) όμως από τις απογευματινές ώρες, τα θηλυκά πετούν και συνήθως την ημέρα παραμένουν κρυμμένα σε θάμνους ή άλλα προστατευόμενα μέρη. Προτιμούν να εναποθέτουν τα ωά τους σε ισχυρές, υγιείς αποικίες μελισσών περισσότερο από ότι σε ασθενέστερες αποικίες λόγω επάρκειας τροφών, αλλά οι ασθενέστερες αποικίες έχουν τελικά υψηλότερο ρυθμό προσβολών και καταστροφής. Από το Μάιο έως τον Οκτώβριο διαρκεί η εναπόθεση αυγών σε χώρες με παρόμοιο κλίμα σαν της Ελλάδος.

Ακόμη σύμφωνα με αρκετές έρευνες φαίνεται πως το τέλειο είναι σε θέση να αντιληφθεί ήχους διαφορετικών συχνοτήτων. Συγκεκριμένα εξετάστηκε η ικανότητα ακοής, εκθέτοντάς το σε ένα ευρύ φάσμα ήχων με μέτρηση των δονήσεων των ακουστικών μεμβρανών και κατεγράφη η δραστηριότητα των

ακουστικών νεύρων. Το πείραμα έδειξε ότι το ακουστικό νεύρο του ακμαίου αντιδρά ακόμα και σε υπερηχητικές συχνότητες που προσεγγίζουν τα 300Hz, διαθέτοντας πιθανώς την μεγαλύτερη ευαισθησία στα ηχητικά σήματα απο οποιοδήποτε άλλο ζωντανό οργανισμό (άνθρωπος έως 20 Hertz, δελφίни έως 160 Hertz, νυχτερίδες έως 212 Hertz). Επίσης χρησιμοποιεί την περιοχή 30-100 Hz για επικοινωνία με τα υπόλοιπα μέλη του είδους του, η οποία αποτελεί ιδανική συχνότητα, καθώς οι μέλισσες, γενικά δεν παράγουν ήχο σε αυτό το εύρος για να αντιληφθούν την παρουσία του. Και τα δύο φύλα διαθέτουν την ίδια ευαισθησία στην ακοή, στα θηλυκά οι τυμπανικές μεμβράνες έχουν διάμετρο 0,65 mm ενώ στα αρσενικά 0,55 mm και βρίσκονται στα πλάγια του πρώτου κοιλιακού τμήματος. Η ιδιότητα αυτή πιθανότατα οφείλεται σε εκλεκτική πίεση από εντομοφάγες νυχτερίδες που βοήθησε τον κηρόσκορο να αναπτύξει την ικανότητα για να μπορέσει να επιβιώσει (Jones et al 2002).



Εικόνα 6. Σύζευξη τέλειων σε εργαστηριακή εκτροφή.



Εικόνα 7. Χαρακτηριστικά διαφοροποίησης φύλων του *G. mellonella*. (Kwadha et al., 2017).

2.5. Παραγωγή-χρησιμότητα μελισσοκομικού κεριού

Καθώς το κερί αποτελεί το μελισσοκομικό προϊόν που προσβάλλει ο κηρόσκορος και αποτέλεσε το βασικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για τη διατροφή των εντόμων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα που θα αναλυθούν παρακάτω, είναι αναγκαίο να τονίσουμε ορισμένα σημαντικά σημεία.

Πρόκειται για μίγμα εστέρων λιπαρών οξέων με μονοσθενείς αλκοόλες και κύρια συστατικά του είναι μονοεστέρες 35%, διεστέρες 14%, υδρογονάνθρακες 14%, ελεύθερα οργανικά οξέα 12 %, υδροξυλιωμένοι και όξινοι εστέρες και ελεύθερες αλκοόλες. Είναι αδιάλυτο στο νερό, ελαφρά διαλυτό σε αλκοόλη και απόλυτα διαλυτό σε οργανικούς διαλύτες. Το ειδικό βάρος είναι 0,95 ,λιώνει στους 64°C και πήζει στους 63°C. Αποτελεί ένα από τα φυσικά προϊόντα παραγωγής της μέλισσας, με το οποίο κατασκευάζονται οι κηρήθρες. Πλεονεκτεί διότι διαθέτει ελάχιστη θερμική αγωγιμότητα ώστε να ελαχιστοποιούνται οι απώλειες θερμότητας και να επιτυγχάνεται η διατήρηση επιθυμητής θερμοκρασίας τους ψυχρούς μήνες. Βασική προϋπόθεση για να παράγει η μέλισσα κερί, είναι να έχει πλήρως ανεπτυγμένους τους κηρογόνους αδένες. Ακόμη κατά την παραγωγή έχει γεμάτο τον προλοβό της με νέκταρ και χρησιμοποιεί τα αισθητήρια όργανα αφής, επάνω στις κεραίες

για να αντιληφθεί το ιδανικό πάχος τοιχωμάτων των κελιών. Έτσι κατασκευάζεται το τέλειο σχήμα κελιών κηρήθρας που τις εξυπηρετεί χωροταξικά και παράλληλα εξοικονομεί ενέργεια, το εξαγωνικό.

Το φυσικό του χρώμα κατά την έκκριση από τους κηρογόνους αδένες είναι το λευκό, που στη συνέχεια μετατρέπεται σε κίτρινο εξαιτίας χρωστικών της γύρης. Οι εξωκρινείς αδένες σχετίζονται με τέσσερις βασικές λειτουργίες της εργάτριας: την επικοινωνία, την άμυνα, την παραγωγή τροφής, την παραγωγή κεριού και την επεξεργασία τροφής και κεριού. Οι κηρογόνοι αδένες είναι παρόντες μόνο στις εργάτριες και φθάνουν στο μέγιστο της δραστηριότητας μεταξύ 12 και 18 ημερών. Υπάρχουν 4 ζεύγη κηρογόνων αδένων στο κάτω μέρος της κοιλιάς, από το 4ο ως το 7ο κοιλιακό τμήμα και καλύπτουν την εσωτερική επιφάνεια των στερνιτών των τεσσάρων τελευταίων κοιλιακών δακτυλίων. Το κεριό παράγεται σαν διαυγές υγρό, το οποίο στερεοποιείται μόλις έρθει σε επαφή με τον αέρα και βγαίνει υπό μορφή λεπιών. Η παραπέρα κατεργασία του από τις μέλισσες έχει ως αποτέλεσμα οι φρεσκοκτισμένες κηρήθρες να έχουν χρώμα λευκό. Μια αποικία κατέχει 2,5m² κηρηθρών δυο όψεων με βάρος 1,4kg. Σε μια κηρήθρα απολεπισμένη βάρους 55gr αποθηκεύεται 1kg μελιού.

Το κεριό εκρέει και αμέσως μόλις έρθει σε επαφή με τον αέρα στερεοποιείται. Οι κηρήθρες με τη πάροδο του χρόνου αποκτούν μαύρο χρώμα εξαιτίας των επαναλαμβανόμενων εκτροφών γόνου στα κελιά τους. Με κατανάλωση 1gr μελιού οι μέλισσες κατασκευάζουν 20cm² κηρήθρας. Η μέλισσα χρειάζεται επταπλάσια κατανάλωση μελιού για παραγωγή ενός κιλού κεριού συνεπώς καταλαβαίνουμε την υψηλή δαπάνη πολύτιμης ενέργειας σε περίπτωση απωλείας του θέτοντας σε κίνδυνο την αποικία. Ενδεικτικά αναφέρουμε πως η τιμή του κεριού/kg είναι 5-5,5 € κατά μέσο όρο, με παραγόμενη ποσότητα 150 gr ανά κηρήθρα περίπου.(www.fao.com, www.europa.com).

2.6. Εντοπισμένες ζημιές προσβολής

Αρχικά ο κηρόσκορος τονίζεται πως μπορεί να θεωρηθεί εξίσου έντομο αποθηκών λόγω προσβολής διατηρούμενων κηρηθρών αλλά επίσης αν δοθεί η δυνατότητα προσβάλλει αδύναμα μέλισσα στο μελισσοκομείο. Σημειώνεται πως στα δυνατά μελισσοσμήνη οι εργάτριες εντοπίζουν τις προνύμφες του και τις θανατώνουν ,συνεπώς οι προκαλούμενες απώλειες είναι ασήμαντες και δεν γίνονται συνήθως αντιληπτές. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να προκληθεί γρήγορη και πλήρης καταστροφή των μη προστατευμένων κηρηθρών και ανεπιθύμητης απώλειας μελιού ,αποτελώντας ένα δυσεπίλυτο πρόβλημα. Η υγιής κυψέλη κρατάει τον κηρόσκορο υπό έλεγχο αφαιρώντας τις προνύμφες αλλά η προσβολή αποδυναμώνει ειδικά τις κυψέλες με μικρούς πληθυσμούς.

Κάθε χρόνο το έντομο καταστρέφει μεγάλο αριθμό κηρηθρών, είτε στις αποθήκες, όπου διατηρούνται για να χρησιμοποιηθούν όταν χρειασθεί τροφοδοσία στα εξασθενημένα από διάφορες αιτίες μελίσσια ή να πωληθούν. Το έντομο όπως τονίσαμε και παραπάνω είναι δραστήριο από τον Απρίλιο μέχρι τον Οκτώβριο ή και αργότερα, αναλόγως της εξωτερικής θερμοκρασίας αλλά και όλο το χρόνο λόγω της αρκετά υψηλότερης που επικρατεί εσωτερικά στο χώρο αποθήκευσης. Επίσης εάν διαπιστωθούν πολλά ενήλικα στο ζωντανό μελισσοσμήνος κατά την επιθεώρηση, σημαίνει πως η αποικία είναι αδύναμη και είναι πιθανόν στα πρόθυρα της κατάρρευσης. Εάν ο κηρόσκορος εξελιχθεί σε σοβαρό πρόβλημα σε μια αποικία μελισσών, η παρουσία του είναι προφανής όταν ο μελισσοκόμος ανοίγει την κυψέλη και την παρατηρεί με γυμνό οφθαλμό.

Οι προνύμφες προσβάλλουν κηρήθρες μέσα στην κυψέλη που δεν καλύπτονται από μέλισσες προκαλώντας ανησυχία σε αδύνατα μελίσσια και ίσως λιποταξία. Ακόμη προκαλεί ζημιές στο υλικό κατασκευής της κυψέλης, όπως αναφέραμε και παραπάνω κατά την προσπάθεια νύμφωσης, ιδιαίτερα στα τοιχώματα και τη βάση. Το βλαβερό στάδιο της προνύμφης συνολικά τροφοδοτείται με κερί από κτισμένες και άκτιστες κηρήθρες, γύρη αποθηκευμένη στις κηρήθρες ενεργών αποικιών μελισσών, πρόπολη, απολεπίσματα κεριού, υπολείμματα γόνου και βασικά υλικά εκτροφής βασιλισσών από κερί όπως τα σφραγίσματα στα κτισμένα κελιά καθώς και αποθηκευμένες κηρήθρες με ή χωρίς μέλι.

Υπάρχουν περιπτώσεις όπου ολόκληρη η κηρήθρα καλύπτεται με μια μάζα μετζίινων νημάτων και μαύρων περιπτωμάτων των προνυμφών που οδηγεί σε επηρεασμό όλου του γόνου και παγίδευση αναδυομένων μελισσών μια κατάσταση που περιγράφεται ως **“Γκαλερίωση”**. Οι κηρήθρες μπλέκονται στο μετζίνο πλέγμα και ο γόνος επηρεάζεται, έτσι ώστε να μη μπορούν να αναδυθούν τα ακμαία. Επίσης περιφερειακά σε ορισμένες κηρήθρες με σφραγισμένο γόνο παρατηρούνται αποσφραγισμένα κελιά με νεκρές νύμφες στη σειρά σε διάφορες ηλικίες. Ουσιαστικά με τις στοές που ανοίγουν στο σφραγισμένο γόνο, καταστρέφουν τα κελιά και προκαλούν το θάνατο των νυμφών. Πολλές από τις νύμφες των μελισσών στα κελιά αυτά ενηλικιώνονται, αποσφραγίζουν το κελί τους αλλά δεν κατορθώνουν να εξέλθουν απ’ αυτό, κατάσταση γνωστή ως **“Φαλακρός γόνος”**. (Χαριζάνης 2017, Shimanuki 1981).

Ο κηρόσκορος προκαλεί σημαντικές βλάβες, εάν οι αποικίες είναι ήδη αδύναμες και οι μέλισσες δεν είναι ικανές να τον απωθήσουν. Η ευαισθησία της αποικίας στην επίθεση διαφέρει αναλόγως, όταν βρίσκεται υπό καθεστώς πίεσης. Αιτίες όπως ο υποσιτισμός, η ενδεχόμενη ασθένεια ή προσβολή και από άλλο εχθρό, η απώλεια της βασίλισσας, η μεγάλη θνησιμότητα των εργατριών λόγω δηλητηρίασης από φυτοφάρμακα και κάθε άλλη γενικότερη αιτία αποδυνάμωσης του μελισσοσμήνους εξυπηρετεί τη δευτερογενή

προσβολή του κηρόσκορου. Ο κηρόσκορος έχει εμπλακεί επίσης στη μετάδοση της Αμερικάνικης Σηψιγονίας, καθώς σπόρια του παθογόνου βακτηρίου *Paenibacillus larvae* φιλοξενούνται στο μέσο έντερο και βρέθηκαν στα περιττώματα προνυμφών και ακμαίων. Σημειώνεται πως με την κατανάλωση μολυσμένων κηρηθρών τα σπόρια μπορούν να κυκλοφορήσουν και σε άλλες αποικίες με τα αποχωρήματα μέσω των ακμαίων που ίπτανται. Επίσης εντοπίστηκαν τα πρωτόζωα *Nosema apis* και *Nosema ceranae* σε πρόσφατες μελέτες με χρήση PCR σε πραγματικό χρόνο που στοχεύουν στη διάκριση των ειδών *Nosema*. Τα αποτελέσματα της PCR έδειξαν ότι βρέθηκαν σπόρια στο μέσο έντερο των προνυμφών και των ακμαίων. Ακόμη ακμαία και προνύμφες χαρακτηρίστηκαν ως πιθανοί φορείς, του ιού της οξείας παράλυσης του Ισραήλ (**IAPV**) και του μαύρου ιού των βασιλικών κελιών (**BQCV**). (Erkay et al 2017, Ellis 2013). Μετά την προσβολή και καθώς οι εργάτριες είναι πλήρως επιφορτισμένες στο να ξοδεύουν πολύτιμο χρόνο και ενέργεια για την κατασκευή νέων κηρηθρών έχουμε τελικά χαμηλότερη απόδοση μελιού. Σε προχωρημένη προσβολή η βασίλισσα μπορεί να σταματήσει την ωοτοκία και να παρατηρηθεί λιποταξία η κατάρρευση. Ολόκληρη η αποικία καθίσταται αδύναμη και δυσλειτουργική γεγονός που οδηγεί στη γενική φθορά του μελισσοσμήνους ως υπεροργανισμός. Η κατεστραμμένη κηρήθρα βεβαίως πρέπει και να αντικατασταθεί από τον μελισσοκόμο άμεσα, με συνυπολογιζόμενο το κόστος της ζημιάς διότι το μέλι χάνεται καθώς εκρέει όταν αποσφραγίζονται τα κελιά. Μπορούν επίσης να αποτελέσουν γενικότερο πρόβλημα και στο μέλι που παράγεται για ανθρώπινη κατανάλωση καθιστώντας το αντιεμπορικό λόγω παρουσίας ανεπιθύμητων οσμών αν προσφέρεται με την κηρήθρα. Τονίζεται πως αν δεν παρθούν προληπτικά μέτρα ή τα ληφθέντα είναι ανεπαρκή, η καταστροφή είναι ταχύτατη.



Εικόνα 8. Προνύμφη επι το έργον σε κατεστραμμένη κηρήθρα.

3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΜΕΓΑΛΟΥ ΚΗΡΟΣΚΟΡΟΥ.

Τα τελευταία χρόνια έχουμε αντικρίσει την άνοδο και την πτώση πολλών εντομοκτόνων για τον έλεγχο διαφόρων εχθρών των καλλιεργειών γενικότερα, αλλά και της μελισσοκομίας ειδικότερα. Η εμφάνιση οργανοφωσφορικών, καρβαμιδικών, πυρεθρινών, πυρεθροειδών και νεονικοτινοειδών εντομοκτόνων φαινόταν να είναι το κλειδί στην προστασία των γεωργικών προϊόντων ενάντια στην προσβολή από έντομα. Ωστόσο, τα έντομα έχουν καταστεί ανθεκτικά σε πολλά από αυτά, μειώνοντας σημαντικά την αποτελεσματική διάρκεια δράσης τους. Σήμερα λόγω των προβλημάτων στο περιβάλλον και της απώλειας αισθήματος ασφάλειας του καταναλωτή που συνδέεται με τα εντομοκτόνα, υπάρχει ανανεωμένο ενδιαφέρον για τη διερεύνηση εναλλακτικών λύσεων όπως: Ρυθμιστές ανάπτυξης, αδρανείς σκόνες, απωθητικά, ελκυστικά, ακραίες θερμοκρασίες, ελεγχόμενη ατμόσφαιρα και βιολογική καταπολέμηση με παρασιτοειδή, αρπακτικά και παθογόνους μικροοργανισμούς.

Πρόκειται για ένα εχθρό της μελισσοκομίας που δεν έχει αναπτυχθεί όριο οικονομικής ζημιάς για να προσδιοριστεί ουσιαστικός χρόνος επέμβασης. Ωστόσο, οι μελισσοκόμοι διαθέτουν πολλά εργαλεία ολοκληρωμένης καταπολέμησης για τον έλεγχο του παρασίτου. Προκειμένου να προληφθούν ή να αντιμετωπιστούν οι παρασιτώσεις, οι μελισσοκόμοι ενθαρρύνονται να διατηρούν υγιεινές συνθήκες στο μελισσοκομείο και την αποικία ισχυρή. Ο κηρόσκορος εξακολουθεί να αποτελεί πρόβλημα και οι βλάβες μπορεί να είναι σημαντικές εάν δεν τηρούνται προσεκτικά και έγκαιρα ορισμένοι κανόνες ελέγχου. Παρακάτω παρουσιάζουμε όλες τις μεθόδους που εφαρμόζονται ευρέως από τους μελισσοκόμους, αλλά και ορισμένες που βρίσκονται σε πειραματικό στάδιο, όμως είναι σημαντικές στο πεδίο της εντομολογικής-μελισσοκομικής έρευνας.

3.1. Προληπτική αντιμετώπιση

Οι μελισσοκόμοι γενικά θα πρέπει να προσπαθούν να ελαχιστοποιήσουν τις ζημιές με την έγκαιρη χρήση ορθολογικών μεθόδων διαχείρισης των μελισσοσμηνών. Κατά τις περιόδους φθινοπώρου και χειμώνα, όλες οι απαλλαγμένες μελισσών κηρήθρες πρέπει να υποβάλλονται στην επιλεγμένη μέθοδο καταπολέμησης και να προστατεύονται από νέα προσβολή κατά τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης. Παράδειγμα η αποθήκευση κηρηθρών σε μη τεχνητά θερμαινόμενες, όμως φωτιζόμενες και καλά αεριζόμενες εγκαταστάσεις με θερμοκρασία μικρότερη των 10°C, αφορά μόνο κηρήθρες που δεν έχουν έρθει ουδέποτε σε επαφή με το έντομο διαπιστωμένα. Ανορθόδοξες μέθοδοι όπως η φύλαξη των κηρηθρών σε σακούλες πολυαιθυλενίου απευθείας μετά τη εξαγωγή τους από το μελίσσι (ειδικά από

ερασιτέχνες κατόχους), δεν συνιστώνται λόγω πιθανής ύπαρξης γονιμοποιημένων ωών κηρόσκορου.

Μέτρα πρόληψης που προάγουν τη διατήρηση ισχυρών αποικιών και τη μείωση προσβολών κηρόσκορου ,αποτελούν τα παρακάτω: **1)**Αντικατάσταση και λιώσιμο παλαιών μαύρων κηρηθρών και απομάκρυνση προσβεβλημένων. **2)**Αντιμετώπιση κάθε αιτίας που μπορεί να προκαλέσει εξασθένηση του μελισσιού. **3)**Διατήρηση πληθυσμού ανά πλαίσιο ικανό να διαχειριστεί την προσβολή. **4)**Αποθήκευση κηρηθρών και προστασία επαναπροσβολής αφού προηγηθεί εφαρμογή κατάλληλης μεθόδου θανάτωσης όλων των σταδίων του εχθρού. **5)**Αφαίρεση κηρηθρών που δεν καλύπτονται από μέλισσες. **6)**Καθαρισμός βάσης κυψέλης και απολύμανση ξύλινων μερών με χρήση φλόγας. **7)**Σφράγισμα ρωγμών σε όλα τα εξωτερικά και εσωτερικά σημεία των κυψελών ώστε να αποτρέπεται η ωοτοκία των ενηλίκων. **8)**Κάψιμο κατεστραμμένου εξοπλισμού που έχει προσβληθεί ανεπανόρθωτα και άμεση απομάκρυνση από το μελισσοκομείο. **9)**Τοποθέτηση ειδικής σίτας και κατασκευή εντομοστεγανής αποθήκης εξοπλισμένης με φως που έλκει τα λεπιδόπτερα. **10)**Σε περίπτωση έξαρσης πληθυσμού κατά την εποχή του τρύγου, συνιστάται ολοκλήρωση συγκομιδής όσο το δυνατόν γρηγορότερα. **11)**Έλεγχος επαναπροσβολής με το νέο μελισσοκομικό υλικό που εισέρχεται στην αποθήκη. **12)**Οποιοδήποτε υλικό πλησίον της κυψέλης όπως παγίδες για άλλους εχθρούς μπορεί να αποτελέσει πιθανό καταφύγιο του κηρόσκορου και πρέπει να απομακρύνεται ή να ελέγχεται αν είναι αναγκαία η παρουσία του. **13)**Γενετικός έλεγχος. Ο έλεγχος μπορεί να ενισχυθεί έμμεσα με τη χρήση μελισσών που έχουν επιλεγεί για αντοχή σε ασθένειες και παράσιτα. Αυτά τα ανθεκτικά στελέχη μελισσών πρέπει να είναι πιο ανθεκτικά σε μερικά από τα πρωταρχικά προβλήματα που επηρεάζουν τις αποικίες των μελισσών, τα οποία συχνά δημιουργούν συνθήκες άγχους που οδηγούν σε δευτερογενείς προσβολές. Η ορθή διαχείριση αποικιών ουσιαστικά ξεκινά με επιλογή βασίλισσας που μπορεί να ρυθμίσει τον πληθυσμό των αποικιών για να μεγιστοποιήσει την πιθανότητα επιβίωσης. Μια νεαρή βασίλισσα επίσης θα βοηθήσει στην αποτροπή σπατάλης ενέργειας και θα αποτρέψει την υπερθέρμανση, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε άγχος μια αποικία. Ακόμη βασίλισσα που διαθέτει υψηλό ωοπαραγωγικό δυναμικό μπορεί να ρυθμίσει εύκολα τον πληθυσμό των αποικιών. Επίσης είναι ικανή να μεταβιβάσει το γενετικό υλικό της στους απογόνους , για να υπερασπιστεί και να διατηρήσει την δομή της αποικίας αλώβητη από την παρουσία διαφόρων εχθρών, παρασίτων και ασθενειών. Συνεπώς εκτός από την προγραμματισμένη αντικατάσταση λόγω γήρατος που πραγματοποιεί ο μελισσοκόμος κάθε δυο χρόνια ,συνιστάται να αντικαθιστούμε τις βασίλισσες, απο μελίτσια ευαίσθητα στον κηρόσκορο, με αυτές από ανθεκτικότερα.

3.2. Χημική Καταπολέμηση

Τονίζεται πως η χρήση χημικών ουσιών στα πλαίσια της ολοκληρωμένης καταπολέμησης επιβλαβών οργανισμών συνιστάται ως έσχατη λύση όταν οι άλλες επιλογές έχουν αποτύχει. Η αντιμετώπιση του κηρόσκορου, για αρκετά χρόνια, στηρίχθηκε παγκόσμια στη χρήση υποκαπνιστικών εντομοκτόνων κυρίως. Το Διβρωμιούχο αιθυλένιο (C_2H_4Br), η ναφθαλίνη ($C_{10}H_8$) το βρωμιούχο μεθύλιο (CH_3Br) και το παραδιχλωροβενζόλιο ($C_6H_4Cl_2$) εξαιτίας της παρουσίας υπολειμμάτων στα προϊόντα της κυψέλης και της επικινδυνότητας για την υγεία του ανθρώπου δεν χρησιμοποιούνται πλέον σήμερα στη μελισσοκομία.

Επίσης ουσίες όπως το διοξείδιο του θείου, το οξικό οξύ, το μυρμηκικό οξύ, το μεθυλοβρωμίδιο και η φωσφίνη, είναι επιβλαβή και για τους πληθυσμούς των μελισσών εκτός από την τοξικότητα στους υπόλοιπους έμβιους οργανισμούς συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπινου. Η προσπάθεια της Ε.Ε. στην αντιμετώπιση προβλημάτων σχετικά με τα παρασιτοκτόνα εντοπίζεται στον κανονισμό **(1107/2009)** και την οδηγία **(128/2009)**. Σύμφωνα με τις υποδείξεις της, η οποιαδήποτε βιομηχανία πρέπει να αποδεικνύει την καταλληλότητα για το περιβάλλον και τον άνθρωπο, των προϊόντων που παράγονται ή διατίθενται στην αγορά. Ο παραπάνω κανονισμός επίσης απαιτεί την διερεύνηση του κινδύνου των παρασιτοκτόνων στην ***Apis mellifera*** σε οποιαδήποτε περίπτωση πιθανής έκθεσής της στις ουσίες. Κάθε κράτος μέλος μπορεί να προβεί σε απαγορεύσεις ουσιών εγχώρια, αυτοβούλως, αναλόγως των επικρατουσών περιβαλλοντικών συνθηκών, αν το κρίνει σκόπιμο και σαφώς προτείνεται η λήψη μέτρων περιορισμού και αντικατάστασης των τοξικών ουσιών με εναλλακτικές θεραπείες (www.europra.com). Στη μελισσοκομία για την καταπολέμηση του κηρόσκορου πολλές χημικές ουσίες έχουν χρησιμοποιηθεί με αμφίβολα αποτελέσματα όλα αυτά τα χρόνια και αναφέρονται στη συνέχεια.

3.2.1. Θείο (S)

Χρησιμοποιείται σε μορφή σκόνης αρκετά σήμερα από μεγάλο αριθμό μελισσοκόμων διότι είναι οικονομικό, εύκολο στην εφαρμογή και δίνει σχετικά ικανοποιητικά αποτελέσματα. Πρέπει όμως να εφαρμόζεται με επαναλήψεις ανά τρεις εβδομάδες, διότι οι ατμοί που παράγονται **δεν θανατώνουν τα ωά**. Η δοσολογία είναι 50-70gr θείου τα οποία καίγονται σε χώρο $1m^3$ ή 15gr / 6 πατώματα με κηρήθρες. Η εφαρμογή γίνεται με την τοποθέτηση κηρηθρών σε ορόφους, αφού καλυφθούν, με τη δόση που αναφέρθηκε να καίγεται στη βάση της στοίβας.

Η δεύτερη εφαρμογή γίνεται 7-10 ημέρες μετά την πρώτη και η τρίτη 15-20 ημέρες μετά τη δεύτερη. Σύμφωνα με διαθέσιμα στοιχεία από έρευνες η δόση των 60gr με εφαρμογή σε 100 κηρήθρες δεν σκοτώνει τα ωά με 2 επαναλήψεις σε 30 ημέρες. Ακόμη η πιθανή παρουσία καταλοίπων και το ενδεχόμενο της βλάβης στο ανθρώπινο ανώτερο αναπνευστικό σύστημα από τους ατμούς ,δεν έχει εξεταστεί ικανοποιητικά. Επίσης προκαλεί διάβρωση των μεταλλικών μερών όταν υπάρχει έντονη υγρασία στην ατμόσφαιρα και υπάρχει κίνδυνος δηλητηρίασης για εφαρμογή σε κηρήθρες με μέλι. (Ahmed 1993). Ανήκει στις ουσίες που εφαρμόζονται μόνο στις αποθηκευμένες **άδειες** κηρήθρες.

3.2.2. Φωσφίνη (PH₃)

Πρόκειται για ανόργανη χημική ένωση, που περιέχει φωσφόρο και υδρογόνο και η αποτελεσματικότητά της, έχει ερευνηθεί ως εναλλακτικός έλεγχος για τον κηρόσκορο. Πωλείται με διάφορες εμπορικές επωνυμίες σε μορφή δισκίου ή σφαιριδίων που μετατρέπεται σε κατάσταση αερίου ως υποκαπνιστικό για τον έλεγχο στην αποθήκη. Χρησιμοποιήθηκε σε ορισμένες μελέτες με δόση 1 δισκίο των 3 γραμμαρίων ,56% ανά 1 m³ χώρου. Η συγκέντρωση φωσφίνης σύμφωνα με τα διαθέσιμα στοιχεία πειραμάτων πρέπει να ξεπεράσει τη συγκέντρωση των 200 ppm κατά τη διάρκεια 5 ημερών που απαιτούνται για τον έλεγχο όλων των σταδίων εκτός των ωών. Επίσης αναφέρεται πως εφαρμογή δόσης 3 gr / m³ ήταν επαρκής για την επίτευξη του επιδιωκόμενου στόχου. Συνιστάται επίσης να γίνεται εκ νέου εφαρμογή μετά από 3 ημέρες από την έναρξη της θεραπείας. Ο υποκαπνισμός με φωσφίνη σε μη αεροστεγείς χώρους δεν θανατώνει των κηρόσκορο σε όλα τα αναπτυξιακά στάδια (Goodman et al 1990). Πρόκειται για αέριο που χρησιμοποιείται για απεντομώσεις παντός τύπου στην αποθήκη το οποίο παρουσιάζει υψηλότερη τοξικότητα.(Bolonhezi et al 1998).

3.2.3. Οξικό οξύ (CH₃COOH)

Πρόκειται για οξύ με μοριακή μάζα 60.05 g mol⁻¹, που χρησιμοποιείται κυρίως ενάντια στο πρωτόζωο *Nosema apis*. Χρησιμοποιείται και κατά του κηρόσκορου με ασαφή αποτελέσματα. Η εφαρμογή διαβρώνει τα μεταλλικά μέρη και το πυκνό οξικό οξύ είναι εύφλεκτο, γι' αυτό χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή τόσο στη χρήση του όσο και στο υλικό των δεξαμενών μέσα στο οποίο θα αποθηκευτεί.

Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει κατατάξει τα διαλύματα του οξικού οξέος σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την περιεκτικότητά τους : Διαβρωτικό σε συγκεντρώσεις >90% ,25-90% διαβρωτικό,10-24% ερεθιστικό.

Διαλύεται εύκολα στο νερό και η χορήγηση γίνεται με ψεκασμό, σε υγρή μορφή σε απορροφητικά υλικά, ή υποκαπνισμό ως διάλυμα σε ρηχό δοχείο. Η χορηγούμενη δόση είναι 200 ml, 60-80%/100 lt/ κυψέλη με επανάληψη μετά την πρώτη εβδομάδα ,1-2 φορές /2 εβδομάδες και τοποθέτηση στη βάση των κυψελών. Η δοσολογία που αναφέρεται σε άλλες εργασίες είναι 250gr /5 κυψέλες με εφαρμογή 2 επαναλήψεων σε αποθηκευμένες κηρήθρες (Ellis et al 2009). Οι ατμοί οξικού οξέος είναι βαρύτεροι από τον αέρα συνεπώς θα μεταφερθούν από την κορυφή στο κάτω μέρος της στοίβας και συνεπώς απαιτείται αεροστεγές σφράγισμα. (Hood et al 2010, Charriere et al 1999).

3.2.4. Μυρμηκικό οξύ (HCOOH)

Είναι άχρωμο υγρό με μοριακή μάζα: 46.03 g mol⁻¹.πλήρως αναμίξιμο στο νερό σημαντικό ενδιάμεσο σε χημικές συνθέσεις το οποίο υπάρχει στη φύση, κυρίως στα δηλητήρια των υμενοπτέρων, όπως οι μέλισσες, οι σφήκες και τα μυρμηγκία. Εμφανίζει επιτυχία καταπολέμησης στις ελαφρύτερες και μικρότερου μεγέθους προνύμφες του κηρόσκορου. Επισημαίνεται πως διαβρώνει τα μεταλλικά μέρη με τα οποία έρχεται σε επαφή. Η συνήθης δοσολογία είναι 100gr/5κυψέλες με εφαρμογή 2 επαναλήψεων ή 30-45 ml διαλύματος 65%, εφαρμοζόμενο 3-4 φορές με μεσολάβηση 4-7 ημερών.

Θεραπευτικές αγωγές την περίοδο της άνοιξης κυρίως κατά της βαρρόα αναφέρεται πως τροποποιούν τη γεύση του μελιού εξαιτίας της αύξησης του επιπέδου των καταλοίπων (Bogdanov et al. 2006).

Επίσης παρατηρήθηκαν αλλοιώσεις στον ανοιχτό γόνο και στις εκκολαπτόμενες μέλισσες. Δεν υπάρχουν στοιχεία για επικίνδυνα κατάλοιπα σε μη αποδεκτά επίπεδα στο μέλι και η τοξικότητά του είναι χαμηλή.

Άμεση επαφή με το δέρμα ή τα μάτια είναι ερεθιστική, ενώ ακόμη και οι ατμοί μπορούν να επηρεάσουν το αναπνευστικό και τους οφθαλμούς. Η χρήση του κατάλληλου προστατευτικού ιματισμού κρίνεται απαραίτητη κατά την εφαρμογή. Μεταβολίζεται και εξουδετερώνεται από το ανθρώπινο σώμα, ωστόσο έχει κατηγορηθεί για βλάβες στα οπτικά νεύρα και η χρόνια έκθεση πιθανόν προκαλεί βλάβες στο συκώτι, στα νεφρά και εκδήλωση δερματικής αλλεργικής αντίδρασης σε κάθε επανέκθεση.(www.europa.com).

Επίσης διασπάται αργά προς μονοξείδιο του άνθρακα (CO) και νερό (H₂O), οδηγώντας σε αύξηση της πίεσης στο δοχείο όπου έχει αποθηκευτεί. Σε συγκέντρωση 98% αποθηκεύεται σε πλαστικά δοχεία με καπάκια που έχουν βαλβίδες ασφαλείας εκτόνωσης αερίων. Κατατάχθηκε ως διαβρωτικό σε

συγκεντρώσεις ,25-90% και σε 10-25% ως ερεθιστικό. Κατά του κηρόσκορου έχει μειωμένη εφαρμογή και δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία για τη θνησιμότητα σε όλα τα στάδια , εφαρμοζόμενο εντός κυψέλης ή στην αποθήκη σε άδειες κηρήθρες. (www.europa.com).

3.3. Βιολογική καταπολέμηση

Βιολογική αντιμετώπιση ορίζεται η δράση των φυσικών εχθρών των επιβλαβών εντόμων ή χρήση άλλων ζωντανών οργανισμών στον αγώνα καταπολέμησής τους. Στις κατηγορίες των φυσικών εχθρών εντάσσονται τα ωφέλιμα έντομα και ακάρεα (παρασιτοειδή, αρπακτικά), οι εντομοπαθογόνοι νηματώδεις και οι παθογόνοι μικροοργανισμοί (μύκητες, βακτήρια, ιοί). Για τη σωστή αλλά και έγκαιρη χρήση των φυσικών εχθρών χρειάζεται γνώση του βιολογικού κύκλου τόσο των εχθρών (βιολογία, διαχείμαση κ.α.) όσο και των φυσικών τους εχθρών. Αρκετές έρευνες διεξήχθησαν για την εξεύρεση αποτελεσματικών μορφών βιολογικού ελέγχου του κηρόσκορου και περιγράφονται παρακάτω.

3.3.1. Μικροβιακός έλεγχος

Εφαρμόζεται εδώ και χρόνια η δυνατότητα καταπολέμησης του κηρόσκορου με χρήση της τοξίνης του βακτηρίου *Bacillus thuringensis var. Aizawai*, που προωθείται ως αβλαβής για τις μέλισσες.

Η εταιρεία Vita-Europe Ltd προώθησε πρώτη στην αγορά το σκεύασμα B401, για χρήση σε αποθηκευμένες κηρήθρες με την εμπορική ονομασία Certan το οποίο στη συνέχεια αποσύρθηκε.

Η εφαρμογή γίνεται με ψεκασμό στις προσβεβλημένες κηρήθρες με υδατικό διάλυμα του σκευάσματος. Η δοσολογία απαιτεί μίγμα από ένα μέρος Certan σε 19 μέρη νερού για ψεκασμό και στις δύο πλευρές κάθε πλαισίου για αποτελεσματικό έλεγχο. Τονίζεται πως μόλις αναμιχθεί το διάλυμα πρέπει να χρησιμοποιηθεί την ίδια ημέρα και αναφέρεται πως μια εφαρμογή του προϊόντος δίνει προστασία σε αποθηκευμένες κηρήθρες μέχρι την επόμενη χρονιά. Συγκεκριμένα ένα μπουκάλι B401 ή Certan των 120 ml αναφέρεται στη συσκευασία, πως μπορεί να θεραπεύσει μέχρι και 12 κυψέλες από τον κηρόσκορο με ανάμιξη 500-1000 gr/ 1000 kg νερό, με δόση 15-30 ml διαλύματος για κάθε πλαίσιο. Το B401 Certan επισημαίνεται πως μπορεί να εφαρμοστεί το φθινόπωρο πριν την αποθήκευση των πλαισίων ή την άνοιξη πριν την επιστροφή τους στην κυψέλη. (Vandeberg et al 1990, Taredahali et al 2013, Killiup et al 1991).

Σε ορισμένες αναφορές τα σκευάσματα B-401 χαρακτηρίζονται αρκετά αποτελεσματικά επί 2-4 μήνες όταν χρησιμοποιούνται σε κηρήθρες που αποθηκεύονται σε θερμοκρασίες μικρότερες των 30°C. Αυτό συμβαίνει διότι σε υψηλότερες θερμοκρασίες τα σπόρια του βάκιλου χάνουν γρήγορα τη βιωσιμότητά τους και η αποτελεσματικότητα μειώνεται (Cantwell 1981). Στην Ελλάδα χρησιμοποιήθηκε το Certan, το Thuricide-HP και το B – 401 που έχει έγκριση χρήσης από τον ΕΟΦ. Σημαντικό είναι οι κηρήθρες σύμφωνα με μαρτυρίες, να αερίζονται καλά πριν τοποθετηθούν στα μελίσσια και να αφηνονται τουλάχιστον δυο μέρες να στεγνώσουν.

Επίσης εφαρμογές με **εντομοπαθογόνους μύκητες** εντοπίζονται σε διαθέσιμες μελέτες που διεξήχθησαν πρόσφατα και έχουν δείξει τη δυνατότητα χρήσης στην βιολογική καταπολέμηση του κηρόσκορου. Οι εντομοπαθογόνοι μύκητες μολύνουν τον ξενιστή μέσω της επιδερμίδας, οπότε δεν χρειάζεται να προσλαμβάνονται όπως ο βάκιλος που περιγράψαμε, για να είναι αποτελεσματικοί. Οι μύκητες εκκρίνουν επίσης δευτερογενείς μεταβολίτες και πρωτεΐνες που είναι τοξικές για τα έντομα. Κυρίως έχει μελετηθεί κατά του κηρόσκορου η παθογονικότητα των στελεχών του ***Metarhizium anisopliae*** και του ***Beauveria bassiana*** στην αποθήκη και τα μελισσοσμήνη. Όλα τα στελέχη εμφάνισαν παθογένεια έναντι του εντόμου, υποδεικνύοντας την πιθανή χρήση τους στο μέλλον για βιολογική καταπολέμηση, όμως χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση. Επίσης ελάχιστες αναφορές υπάρχουν για την προσβολή του κηρόσκορου από το πρωτόζωο ***Nosema galleriae*** και τον **ιό της πυρηνικής πολυέδρωσης** που προσβάλλει τα λεπιδόπτερα γενικότερα. Μέχρι σήμερα δεν έχει γίνει άξια αναφοράς προσπάθεια απομόνωσης στελεχών για χρήση στον έλεγχο του κηρόσκορου.

3.3.2. Φυσικοί εχθροί.

Στοιχεία υπάρχουν επίσης για χρήση διαφόρων ειδών εντόμων στη βιολογική καταπολέμηση του κηρόσκορου παγκοσμίως. Μία περίπτωση που ελέγχεται εκτενώς είναι το κόκκινο μυρμήγκι της φωτιάς, ***Solenopsis invicta***, της οικογένειας Formicidae, το οποίο ενδημεί σε τροπικές περιοχές της Κεντρικής και Νότιας Αμερικής. Εξαιτίας της εκτεταμένης γεωγραφικής εξάπλωσης που παρουσιάζει, καθώς υπάρχει ακόμα και αναφορά πως βρέθηκε μια αποικία εγκατεστημένη στην Ολλανδία το 2002, εξετάζεται ως πιθανός παράγοντας βιολογικής καταπολέμησης ευρείας εφαρμογής.

Μερικοί μελισσοκόμοι στις νότιες ΗΠΑ αναφέρεται πως αποθηκεύουν τις κυψέλες με τις κηρήθρες σε ξύλινες παλέτες στοιβαγμένες για να επιτρέπουν είσοδο φωτός και τον εξαερισμό συγχρόνως με απελευθέρωση πληθυσμών μυρμηγκιών για επιτυχή έλεγχο (Hood et. al.2003).

Στην έρευνα που διεξήχθη στο Πανεπιστήμιο Clemson της Νότιας Καρολίνας διαπιστώθηκε ότι ένας υψηλός βαθμός ελέγχου του κηρόσκορου (σχεδόν 100%) στον αποθηκευμένο εξοπλισμό μπορεί να επιτευχθεί μόνο σε περιοχές με μεγάλη παρουσία μυρμηγκιών διότι χρειάζεται τεράστια πυκνότητα πληθυσμού και ειδικές περιβαλλοντικές συνθήκες για να αποδώσουν. (Hood et. al.2003).

Ακόμη το υμενόπτερο ενδοπαρασιτοειδές, ***Apanteles galleriae*** της οικογένειας Braconidae, είναι γνωστό ότι προσβάλλει τις προνύμφες και τις νύμφες του κηρόσκορου. Σύμφωνα με μελέτες ο παρασιτισμός φθάνει το 50% στις προνύμφες σε διάστημα ενός μήνα και όλες οι πρασιτισμένες προνύμφες παρατηρήθηκε πως ήταν 4ης ή 5ης ηλικίας. Έλεγχος υπήρξε σε εφαρμογές μετά από 20-70 ημέρες μετά την εξαπόλυση σε ποσοστά 55,6-68,4% εντός κυψέλης. Κάθε ακμαίο παρασιτοειδές εναποθέτει 1-2 ωά στο σώμα κάθε προνύμφης ή νύμφης κηρόσκορου, όμως ένα τελικά επιβιώνει. Η προνύμφη αναδύεται με ρήξη στο σώμα του ξενιστή και νυμφώνεται σε ένα μικρό βομβύκιο. Ο παρασιτισμός αυξάνεται σταδιακά, ξεκινώντας από τον Φεβρουάριο, φτάνοντας στο ανώτατο επίπεδο τον Μάιο, μειούμενος έπειτα μέχρι τον Ιούλιο. Ωστόσο, είναι δύσκολο το παράσιτο να εγκατασταθεί σε ισχυρή αποικία, καθώς θα απομακρυνθεί από τις μέλισσες διότι το θεωρούν εχθρό.

Επιπροσθέτως το υμενόπτερο εκτοπαρασιτοειδές ***Habrobracon hebetor*** της οικογένειας Braconidae παρασιτίζει επίσης τα ενήλικα του κηρόσκορου χρησιμοποιώντας φερομόνες φύλου για τον εντοπισμό του ξενιστή. Δεν υπάρχουν έως σήμερα πειραματικά στοιχεία άξια αναφοράς.(De bach et al 1991)

Ακόμη το εκτοπαρασιτοειδές υμενόπτερο ***Dibrachys cavus*** της οικογένειας Pteromalidae χρησιμοποιείται επίσης. Αναφέρεται πως παραλύει τον ξενιστή του και αφού τον θανατώσει τότε ωτοκεί με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται περίπου 50 απόγονοι / ξενιστή. Το ποσοστό των προνυμφών κηρόσκορου που υφαίνουν επιτυχώς βομβύκιο φθάνει το 20% μετά την προσβολή και το ποσοστό των ακμαίων του παρασιτοειδούς που πεθαίνουν φθάνει το 60% ,τα οποία μπλέκονται στα νήματα των προνυμφών του κηρόσκορου. Επίσης υπάρχουν αναφορές για τη διασπορά του βακτηρίου *Bacillus thuringiensis* μέσω του ωοθήτη του στον κηρόσκορο με πρόκληση μεγαλύτερου ποσοστού θανάτωσης (De bach et al 1991 ,Godfray 1994). Επίσης τα 3 παρασιτοειδή υμενόπτερα ***Trichogramma pretiosum*** ,***evanescens*** και ***minutum*** της οικογένειας Trichogrammatidae έχουν αναφερθεί ότι παρασιτίζουν τα ωά του κηρόσκορου χωρίς όμως καταγεγραμμένα ακριβή ποσοστά (Hood et.al. 2003, Bollhalder 1999). Φυσικά πάντα παραμένει απαραίτητη η επιθεώρηση της πρόσφατα αποθηκευμένης κηρήθρας για παρουσία προνυμφών με σκοπό την επιτυχή προστασία της ,καθώς είναι το βλαβερότερο στάδιο ,διότι ίσως ορισμένα ωά να μην παρασιτιστούν επιτυχώς.

3.3.3. Νηματώδεις.

Ορισμένα είδη εντομοπαθογόνων νηματωδών μελετήθηκαν στην δυνατότητα καταπολέμησης του κηρόσκορου σε προνύμφες που είχε εφαρμοστεί γάμμα ακτινοβολία σε δόσεις 40-100 Gy προηγουμένως. Μελέτη έδειξε ότι η μεγαλύτερη δόση ακτινοβολίας αύξησε την ευαισθησία των προνυμφών της F1 γενιάς στην προσβολή από νηματώδεις. Οι εξαντλημένες από την ακτινοβολία προνύμφες, διευκόλυναν τη διείσδυση των νηματωδών, έτσι ώστε η θνησιμότητα να αυξηθεί περισσότερο σε υψηλότερες δόσεις ακτινοβολίας. Το είδος *Steinernema carpocapsae* ήταν ο ταχύτερος και αποτελεσματικότερος νηματώδης για την επιτυχή θανάτωση των προνυμφών. Σημειώνεται πως δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία για εφαρμογή των αποτελεσμάτων σε ευρύτερη κλίμακα και επίσης δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε άλλα στάδια ανάπτυξης του κηρόσκορου. (Lewis et. Al. 2006, Mahmoud 2008).

3.4. Βιοτεχνικές μέθοδοι καταπολέμησης

Βιοτεχνικές μέθοδοι καταπολέμησης χρησιμοποιούνται με επιτυχία στη συντριπτική πλειοψηφία των εχθρών. Στην περίπτωση του κηρόσκορου δεν υπάρχει κάποια μέθοδος έως σήμερα που να έχει αποδώσει τα αναμενόμενα και να χρησιμοποιείται μαζικά.

3.4.1. Παγίδες φερομόνης

Οι διαθέσιμες έρευνες διεξήχθησαν κυρίως με στόχους την απόδοση της παγίδας φερομόνης για την προσέλκυση και τον έλεγχο του κηρόσκορου με τοποθέτηση σε αποθηκευμένες κηρήθρες. Τα αποτελέσματα σχετικά με φερομόνες σύζευξης συγκλίνουν στη δόση εκπομπής περίπου 4.7 mg / ημέρα στους (27 ° C). Ακόμη αναφέρεται πως ήταν εξίσου αποτελεσματικές με τρία αρσενικά ακμαία ως δόλωμα σε παγίδες τύπου δέλτα για την προσέλκυση εργαστηριακά εκτρεφόμενων παρθένων θηλυκών. Εντούτοις, οι συλλήψεις άγριων θηλυκών από μελισσοκομείο, χρησιμοποιώντας παγίδες με τη φερομόνη, έδειξαν ότι ο συνδυασμός δεν ήταν τελικά αποτελεσματικός. Τα στοιχεία δείχνουν πως χρήση παγίδων στο μελισσοκομείο μπορεί να μειώσει τον αριθμό ενήλικων θηλυκών κηρόσκορων που είναι ελεύθεροι να εισέλθουν στις αποικίες. (Ellis et. al. 2013, Kumari et. al. 2013, Sanford 2003).

3.4.2. Τροποποίηση κεντρικής εισόδου

Η διαφοροποίηση του μεγέθους της κεντρικής εισόδου της κυψέλης για τον έλεγχο του κηρόσκορου εφαρμόστηκε από ορισμένους ερευνητές. Τα στοιχεία αναφέρουν πως χρησιμοποιήθηκε 4 mm ύψος x 14 mm πλάτος σχισμής, το οποίο κρίθηκε ότι είναι αναποτελεσματικό στην πρόληψη εισόδου ακμαίων στην κυψέλη. Για να αποφευχθεί η είσοδος των ακμαίων το πλάτος της σχισμής τροποποιήθηκε σε μέγεθος 7 mm λαμβάνοντας υπόψη μορφομετρικές μετρήσεις του κηρόσκορου και των εργατριών μελισσών. Στο πλάτος σχισμής 14 mm παρατηρήθηκε ποσοστό 83,3% διέλευσης ακμαίων κηρόσκορου. Με μέγεθος σχισμής 7 χιλιοστών, δυσκολεύτηκαν τα ακμαία με ποσοστό διέλευσης κοντά στο 70%. Η μέθοδος είναι ακόμα σε πειραματικό στάδιο υπο διερεύνηση με ελλιπή στοιχεία για τον πιθανό επηρεασμό της αλλαγής διαστάσεων της εισόδου, στην ομαλότητα του μελισσοσμήνου. (Hanumanthaswamy 2009, Hood 2010).

3.4.3. Τεχνική εξαπόλυσης στείρων εντόμων

Πολλά παραδείγματα χρήσης της τεχνικής του στείρου εντόμου υπάρχουν για διάφορα επιβλαβή είδη μεγάλης οικονομικής σημασίας για τη γεωργία. Όλες οι έρευνες ακτινοβολήσης σε διάφορα είδη εντόμων συμφωνούν ότι το στάδιο των νυμφών είναι γενικά το πιο αποτελεσματικό στάδιο για εφαρμογή, καθώς είναι ευκολότερος ο χειρισμός στο εργαστήριο και οδηγεί σε μείωση του αναπαραγωγικού δυναμικού των ακμαίων. Η χρήση της ακτινοβολίας γάμμα για την στείρωση **νυμφών** και η τεχνική στείρωσης και απελευθέρωσης **αρσενικών ακμαίων** (MST) έχουν εφαρμοστεί εργαστηριακά και στον έλεγχο του κηρόσκορου.

Αναφέρεται πως εξετάστηκε η μέθοδος ελέγχου του μεγάλου κηρόσκορου χρησιμοποιώντας τεχνική απελευθέρωσης αρσενικών στείρων εντόμων με τη χρήση ακτίνων γάμμα. Προκειμένου να προσδιοριστεί η ασφαλής και αποτελεσματική δοσολογία ακτίνων γ για την στείρωση των αρσενικών, διεξήχθη ένα πείραμα με έναν πλήρη τυχαίοποιημένο σχεδιασμό με 5 εφαρμογές και 3 επαναλήψεις με 50 αρσενικές νύμφες σε κάθε επανάληψη. Οι εφαρμογές περιλάμβαναν διαφορετικά επίπεδα δόσεων ακτινών-γ (0, 250, 300, 350 και 400 gray), (Jafari et. al. 2010).

Ο λόγος απελευθέρωσης στερωμένων/φυσιολογικά αρσενικά μελετήθηκε επίσης σε άλλο παρόμοιο πείραμα. Οι εφαρμογές περιλάμβαναν στείρα αρσενικά, φυσιολογικά αρσενικά και παρθένα θηλυκά με αναλογία 1:1,2:1,3:1,4:1 και 5:1. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χαμηλότερη επιτυχημένη δόση για να στερηθούν τα αρσενικά είναι 350 gray. Διαπιστώθηκε, πως ο καλύτερος λόγος απελευθέρωσης ήταν τέσσερα στείρα αρσενικά και ένα φυσιολογικό αρσενικό για κάθε φυσιολογικό θηλυκό (4: 1: 1) που είχε ως

αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη μείωση των εκκολαφθέντων ωών και των προνυμφών που μεταμορφώθηκαν σε νύμφες. Επίσης η χορηγούμενη δόση ακτινοβολίας ήταν αντιστρόφως ανάλογη της γονιμότητας και στα δύο φύλα που εκτέθηκαν ως νύμφες σε όλες τις δοκιμασμένες δόσεις ακτινοβολίας. Ακόμη το θηλυκό ακμαίο ήταν πιο ευαίσθητο στις χορηγούμενες δόσεις ακτινοβολίας από το αρσενικό.(Jafari et. al. 2010).

Η μέθοδος αφορά τον έλεγχο του πληθυσμού του κηρόσκορου και μπορεί να χρησιμοποιηθεί συμπληρωματικά μόνο από επιστημονικούς φορείς για να βοηθήσει περισσότερο το μελισσοκόμο στην προσπάθεια αντιμετώπισης μελλοντικών προσβολών.

3.5. Φυσικές μέθοδοι καταπολέμησης

3.5.1. Χρήση ψύχους

Η αναζήτηση φυσικών μεθόδων που δεν εξαρτώνται από ζωντανούς οργανισμούς, είναι οικονομικότερες και ταχύτερες στην επιτυχή καταπολέμηση του κηρόσκορου, συνεχίζεται διεθνώς και αυτή τη στιγμή προτείνεται ευρέως η εφαρμογή ψύχους.

Η κύρια μέθοδος διαχείρισης και ελέγχου είναι η χρήση χαμηλών θερμοκρασιών καθώς είναι αποτελεσματική, χωρίς κίνδυνο υπολειμμάτων και αρκετά οικονομική. Από πειράματα που έγιναν στο Εργαστήριο Σηροτροφίας και Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών βρέθηκε ότι για να θανατωθούν και τα αυγά του κηρόσκορου θα πρέπει να διατηρηθούν οι κηρήθρες σε κατάψυξη (-20°C) για τουλάχιστον μία εβδομάδα. Οι κηρήθρες βέβαια πρέπει να χειρίζονται με προσοχή γιατί στις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες καθίστανται εύθραυστες και καταστρέφονται εύκολα (Χαριζάνης, 2017).

Η ανάπτυξη του κηρόσκορου επιταχύνεται όπως εξηγήσαμε αναλύοντας την βιολογία του, σε υψηλότερες θερμοκρασίες, οπότε το μέλι στην κηρήθρα που δεν θα τρυγηθεί άμεσα, πρέπει να προστατεύεται άμεσα μετά τη συγκομιδή. Φαίνεται από όσα αναφέρονται παγκοσμίως πως όσο χαμηλότερη είναι η θερμοκρασία τόσο μειώνεται ο αναγκαίος χρόνος έκθεσης της κηρήθρας σ'αυτή. Οι κηρήθρες βέβαια πρέπει να χειρίζονται με προσοχή γιατί στις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες καθίστανται εύθραυστες και καταστρέφονται εύκολα.

Επίσης κηρήθρες που έχουν απεντομωθεί με οποιοδήποτε τρόπο, για να προφυλαχθούν στη συνέχεια, πρέπει να τοποθετηθούν σε χώρους που δεν μπορούν να εισέλθουν ενήλικα του κηρόσκορου και ποτέ δεν τοποθετούνται

μαζί με κηρήθρες που δεν έγινε εφαρμογή. Πιθανόν ακόμη η ψύξη σε κηρήθρες που περιέχουν μέλι να επηρεάζει την κρυστάλλωση και ίσως τροποποιεί την μορφή του προϊόντος με ότι αυτό συνεπάγεται για τον παραγωγό.

3.5.2. Χρήση υψηλών θερμοκρασιών

Επίσης άλλη φυσική μέθοδος που χρησιμοποιεί μόνο την τροποποίηση της θερμοκρασίας είναι η εφαρμογή θερμότητας. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να θανατώσει όλα τα στάδια του κηρόσκορου όπως αναφέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία. Τα στοιχεία μαρτυρούν πως χρησιμοποιώντας τις ακόλουθες περιόδους έκθεσης:(46°C) για 80 λεπτά ή (49°C) για 40 λεπτά θανατώνονται όλα τα στάδια ανάπτυξης του εντόμου (Ellis 2013, USDA 1972).

Ο χρόνος έκθεσης υπολογίζεται από τη στιγμή που η θερμοκρασία φτάνει στο απαιτούμενο επίπεδο επομένως και εδώ όπως και με την ψύξη χρειάζεται χρόνος αναμονής αναλόγως δυναμικότητας του εξοπλισμού που διαθέτουμε. Η μέθοδος είναι δυνατό να εφαρμοσθεί σε θερμοθαλάμους με ρυθμιζόμενη και ομοιόμορφη θερμοκρασία σ' όλο το χώρο ή με οποιοδήποτε άλλο τρόπο θέρμανσης λειτουργικό και ασφαλή έχει πρόσβαση ο μελισσοκόμος. Τα πλαίσια τοποθετούνται στο θερμοθάλαμο στοιβαγμένα σε πατώματα μέχρι να κρυσώσουν. Η μέθοδος τονίζεται πως εφαρμόζεται μόνο σε άδειες κηρήθρες.

3.5.3. Φυτικά εκχυλίσματα

Μια ακόμη φυσική μέθοδος ελέγχου περιλαμβάνει πληθώρα φυτικών εκχυλισμάτων που έχουν δοκιμαστεί από διάφορους ερευνητές στην θνησιμότητα του κηρόσκορου. Χρήση εκχυλίσματος αποξηραμένων φύλλων του φυτού *Azadirachta indica* της οικογένειας Meliaceae καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο ποσοστό των διαθέσιμων στοιχείων. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν έδειξαν ότι οι διαφορετικές συγκεντρώσεις του Neem oil όπως καλείται διεθνώς αναμεμιγμένες στην παρασκευασμένη τεχνητή διατροφή είχαν σημαντική αποτελεσματικότητα έναντι των προνυμφών. Δοκιμάστηκαν συγκεντρώσεις 4%, 2%, 1%, 0,5% και 0.25% που προκάλεσαν έως 100% θνησιμότητα σε όλες τις προνύμφες που εφαρμόστηκε. Όταν χρησιμοποιήθηκε συγκέντρωση 2%, οι προνύμφες θανατώθηκαν στην πέμπτη ηλικία. Όταν χρησιμοποιήθηκε μειωμένη συγκέντρωση 1% και 0,5%, ορισμένες από τις προνύμφες ήταν ανεκτικές και έζησαν μέχρι την 6 ηλικία. Με τροφοδοσία των προνυμφών στις κηρήθρες που είχαν υποστεί εφαρμογή με 2%, προκλήθηκε θνησιμότητα 100% όταν χορηγήθηκε σε παλιό μαύρο κερί. Με δίαιτα που αποτελούνταν από άκτιστο επεξεργασμένο κερί του εμπορίου με 2%, καταγράφηκε θνησιμότητα 90%. Όταν χρησιμοποιήθηκε συγκέντρωση 4%,

όλες οι προνύμφες θανατώθηκαν στη 2 ηλικία κατά τη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας εφαρμογής. Τα προαναφερθέντα αποτελέσματα έδειξαν ότι η διατροφή σε συγκέντρωση 0,25% ήταν η χαμηλότερη απαιτούμενη δόση κατά των προνυμφών. (Huda et. al. 2008, Izhar et. al. 2008).

Επίσης αποτελέσματα παρόμοιων ερευνών αποκάλυψαν έξι νέα εκχυλίσματα φυτών που προκαλούν θνησιμότητα με δοκιμές όμως μόνο σε προνύμφες. Τα οποία ήταν τα παρακάτω: 93,33% θνησιμότητα με εκχύλισμα του ***Plantago psyllium*** παρασκευασμένο από φλοιό, ακολουθούμενο από το εκχύλισμα φύλλων του ***Hordeum Sativum*** με θνησιμότητα 80%, επίσης εκχύλισμα φλοιού και φύλλων του ***Raphanus sativus*** με θνησιμότητα 73,33%, του ***Linum usitatissimum*** με θνησιμότητα 66,66% ,του ***Cucurbita moschata*** με θνησιμότητα (60%) και του ***Vicia sativa*** με θνησιμότητα 46,66%. (Kumar et. al. 2018)

Στοιχεία υπάρχουν μόνο για εφαρμογή σε προνύμφες και είναι λογικό ,διότι η μέθοδος βασίζεται στην προσθήκη φυτικού εκχυλίσματος στην τροφή ,στο μόνο αναπτυξιακό στάδιο του κηρόσκορου το οποίο μπορεί να τρέφεται.

3.5.4. Όζον (O₃)

Στα πλαίσια της μεθόδου τροποποίησης των ατμοσφαιρικών συνθηκών, στοιχεία από πρόσφατες μελέτες που αφορούν τη χρήση όζοντος στην καταπολέμηση του κηρόσκορου είναι διαθέσιμα. Μελετήθηκε κατά τη διάρκεια των ερευνών, χρόνος εκθέσεων 1, 2, 3, 7 ώρες και τα ποσοστά θνησιμότητας έφθασαν στο 100% καθώς η εφαρμογή αναφέρθηκε πως είχε επίδραση τόσο στα στάδια των ακμαίων όσο και των προνυμφών. Τα ακμαία ήταν πιο ευαίσθητα, από το στάδιο της προνύμφης καθώς ο ρυθμός θνησιμότητας 100% επιτεύχθηκε σε 2 ώρες, ενώ το στάδιο της προνύμφης ήταν πιο ανθεκτικό και ο απαιτούμενος χρόνος για να επιτευχθεί 100% θνησιμότητα έφτασε τις 7 ώρες. Το αρσενικό ακμαίο ήταν πιο ευαίσθητο από το θηλυκό καθώς τα ποσοστά θνησιμότητας κατά την πρώτη ώρα έκθεσης ήταν 0,16% και 0% αντίστοιχα (James 2011). Διαπιστώθηκε πως προκλήθηκαν ποσοστά θνησιμότητας κοντά στο 50% σε ενήλικα (αρσενικά, θηλυκά) και προνύμφες, αλλά τα αποτελέσματα διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

Αποτελέσματα από παρόμοιες έρευνες έδειξαν ότι τα ποσοστά θνησιμότητας έφθασαν το 50% στα αρσενικά και θηλυκά ακμαία και σε κάθε μία από τις ηλικίες των προνυμφών στους ακόλουθους χρόνους: 50, 65, 130, 145 και 155 λεπτά αντίστοιχα (Falah et al. 2017). Σημειώνεται πως δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία για εφαρμογές σε ωά ή νύμφες και χρειάζεται πρόσθετη διερεύνηση.

3.5.5. Διοξείδιο του άνθρακα (CO₂)

Ο Johan Baptista van Helmont ήταν αυτός ο οποίος ανακάλυψε το διοξείδιο του άνθρακα το 1579. Θερμοδυναμικά, το διοξείδιο του άνθρακα είναι σταθερό κάτω από κανονική πίεση μέχρι περίπου τους 300°C. Πάνω από αυτή τη θερμοκρασία, διαχωρίζεται σε μονοξείδιο του άνθρακα και οξυγόνο. Σε φυσιολογική θερμοκρασία, είναι σταθερό έως σε 100 atm. Δεν είναι εύφλεκτο ή εκρηκτικό, δεν έχει οξειδωτικές ιδιότητες, διαλύεται στο νερό σχηματίζοντας ανθρακικό οξύ και συνεπώς δεν εμπίπτει στην κατηγορία των τοξικών αερίων.

3.5.5.1. Ρόλος του CO₂ στα έντομα

Είναι αναγκαίο να επισημανθούν ορισμένες χρήσιμες πληροφορίες για τον τρόπο δράσης του αερίου στα έντομα ώστε να γίνουν ευκολονόητα όσα θα αναφερθούν στα επόμενα κεφάλαια. Αρχικά τονίζεται πως ο αναπνευστικός μεταβολισμός ποικίλλει σημαντικά στα έντομα. Το αναπνευστικό σύστημα (τραχειακό) αποτελείται από σωληνωτό δίκτυο (τραχείες) μέσω των οποίων ο αέρας μετακινείται στους ιστούς και από ογκώδεις σάκους που διαθέτουν ελαστικά τοιχώματα (τραχειΐδια) ώστε να κυκλοφορεί διαμέσου των σωληνωτών σχηματισμών. Έτσι επιτρέπεται η ανταλλαγή αερίων (μεταφορά οξυγόνου στα κύτταρα και παράλληλης απομάκρυνσης του CO₂) σε ολόκληρο το σώμα. Τα εξωτερικά ανοίγματα του τραχειακού συστήματος ονομάζονται στίγματα, τα οποία δρουν ως μυϊκές βαλβίδες ελέγχοντας την ποσότητα των αερίων που διέρχονται ώστε να διατηρείται σταθερός ο ρυθμός της αναπνοής. Όταν το έντομο κινείται ο αέρας εισχωρεί μέσω των κοιλιακών στιγμάτων των δύο πρώτων θωρακικών δακτυλίων. Ακολούθως αποβάλλεται μέσω στιγμάτων του τρίτου θωρακικού δακτυλίου εξαιτίας των συσπάσεων της κοιλιάς. Όταν δεν κινείται το έντομο η αναπνοή γίνεται μέσω των θωρακικών στιγμάτων. Όταν οι μεταβολικές ανάγκες είναι υψηλές, τα στίγματα είναι ανοικτά και το έντομο αναπνέει συνεχώς. Όταν οι μεταβολικές απαιτήσεις είναι χαμηλότερες, απαιτείται λιγότερο οξυγόνο και η συνεχής ανταλλαγή αερίων δεν είναι αναγκαία, έτσι το έντομο κρατά τα στίγματα κλειστά κατά το μεγαλύτερο μέρος του χρόνου και τα ανοίγει περιοδικά.

Ακόμη κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, η αναπνοή επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, η υγρασία, το στάδιο ανάπτυξης, το φύλο και το επίπεδο δραστηριότητας. Συνήθως προσδιορίζεται ως οξειδωτικός μεταβολισμός ή μέσω ανταλλαγής αερίων (οξυγόνο και διοξείδιο του άνθρακος). Αξίζει να σημειωθεί πως η περιεκτικότητα του εισπνεόμενου αέρα σε οξυγόνο μπορεί να μην είναι αποφασιστικός παράγοντας επηρεασμού του οργανισμού εντόμων, αφού η πρόσληψη οξυγόνου σε

ορισμένα είδη είναι περισσότερο ή λιγότερο ανεξάρτητα από την συγκέντρωσή του στο περιβάλλον.

Παράδειγμα αποτελεί η εξαιρετικά σημαντική βιολογική λειτουργία του αερισμού στην κυψέλη κατά την οποία, οι μέλισσες δίνουν τα φτερά με αντίθετες κατευθύνσεις ώστε να επιτραπεί η κυκλοφορία αέρα. Με τον αερισμό, υποβιβάζουν τη θερμοκρασία μέσα στην κυψέλη, κάθε φορά που αυτή τείνει να υπερβεί τα ανώτερα φυσιολογικά όρια των 36,5°C και λαμβάνει χώρα κατά την 16-28η ημέρα ηλικίας της εργάτριας. Εσωτερικά της κυψέλης συγκεντρώνεται υψηλότερο ποσοστό υγρασίας και CO₂ με αποτέλεσμα να χρειάζεται επαρκής αερισμός. Έτσι θα διασφαλιστεί η θερμορύθμιση στο εσωτερικό, η επιτυχημένη εκκόλαψη του γόνου και θα απομακρυνθεί η περίσσεια υγρασίας. Ο αερισμός είναι ο μοναδικός τρόπος αντιστάθμισης των επιπέδων CO₂ στο εσωτερικό της κυψέλης και συμπύκνωσης του συλλεγόμενου νέκταρος ώστε να μην αλλοιωθεί. Ο ρυθμός αναπνοής του μελισσιού είναι περισσότερο έντονος την ημέρα και ηπιότερος στη διάρκεια της νύκτας κατά συνέπεια η κατανάλωση οξυγόνου στη μονάδα του χρόνου είναι κλιμακούμενη.

Η συγκέντρωση του CO₂ μεταβάλλεται σε σχέση με τη θερμοκρασία και μετά από μετρήσεις διαπιστώθηκε ότι οι συγκεντρώσεις είναι αντιστρόφως ανάλογες με αυτές του οξυγόνου στο εσωτερικό της κυψέλης. Άρα σε περίπτωση υψηλής συγκέντρωσης CO₂ ο πληθυσμός προσπαθεί να τη μειώσει με τη δόνηση των φτερών ώστε να προκαλέσει αύξηση της συγκέντρωσης οξυγόνου (Southwick 1992). Το χειμώνα μειώνεται η περιεκτικότητα σε νερό στο σώμα και αυξάνεται το CO₂ στην αιμολέμφο της μέλισσας για να μειωθεί ο μεταβολισμός και να αντέξει, γεγονός που ισχύει για όλα τα έντομα. Η συγκέντρωση CO₂ μπορεί να ξεπεράσει τα επιτρεπτά όρια στο εσωτερικό της κυψέλης και να αδρανοποιήσει κατηγορίες απαραίτητων για την ανάπτυξη ενζύμων. Η βιώσιμη συγκέντρωση του διοξειδίου στο εσωτερικό της κυψέλης είναι 0,1-4,4% και κάθε έντομο παρουσιάζει σύμφωνα με τα υπάρχοντα ερευνητικά δεδομένα διαφορετική ανεκτικότητα στο διοξείδιο του άνθρακος.

Ορισμένα είδη ανέχονται να ζούν για μέρες ή ακόμη και μήνες κάτω από υποξικές συνθήκες, μεταβαίνοντας σε αναερόβιο μεταβολισμό. Μικρή αύξηση της περιεκτικότητας σε CO₂ είναι ανεκτή από τα έντομα, όμως οι υψηλές συγκεντρώσεις είναι ναρκωτικές. Οι προνύμφες ειδών εντόμων που ζουν βαθιά στο έδαφος είναι ανθεκτικότερες των λοιπών ειδών, όμως το CO₂ επηρεάζει το άνοιγμα των στιγμάτων και οδηγεί στη γρήγορη αποξήρανση του οργανισμού. Ορισμένα έντομα μπορούν να ανταποκριθούν σε διαβαθμίσεις CO₂ διαφορετικά, για παράδειγμα τα κουνούπια χρησιμοποιούν αυτή τη στρατηγική για να εντοπίσουν τους ξενιστές τους. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η επίδραση του διοξειδίου του άνθρακος στο χρόνο ανάπτυξης αισθήσεων μπορεί επίσης να εξηγηθεί από τη δράση του, στην αύξηση του ρυθμού

αναπνοής, ωστόσο, 100% συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα προκαλεί πλήρη άπνοια. Επιπρόσθετα σε χαμηλές συγκεντρώσεις, το CO₂ μπορεί να δράσει προσελκυστικά στα έντομα.

Ουσιαστικά το επίπεδο απελευθέρωσης CO₂ αντικατοπτρίζει το επίπεδο δραστηριότητας του εντόμου. Η απώλεια νερού είναι φυσική συνέπεια της ανταλλαγής αερίων. Η αύξηση του μεταβολικού ρυθμού οδηγεί σε αύξηση της απώλειας νερού. Τα έντομα συχνά υφίστανται βραχύτερες ή μεγαλύτερες χρονικές περιόδους ακινησίας εξαιτίας του αναπτυξιακού τους σταδίου, των δυσμενών περιβαλλοντικών συνθηκών, της παράλυσης λόγω επαφής με τοξικούς παράγοντες, κατά την οποία είναι σημαντικό να μειωθεί η απώλεια νερού για να αποφευχθεί η αποξήρανση. Στα περισσότερα είδη που έχουν μελετηθεί, η απώλεια νερού αποτελεί περίπου το 10% της συνολικής απώλειας.

Ακόμη σημαντικό είναι να αναφέρουμε πως ο μεταβολικός ρυθμός της προνύμφης είναι γενικά υψηλότερος από εκείνο των άλλων σταδίων, επειδή τρέφεται εντατικά. Επιπλέον, οι προνύμφες που προετοιμάζονται για νύμφωση έχουν υψηλότερο μεταβολικό ρυθμό σε σχέση με τις υπόλοιπες. Τέλος η θερμοκρασία επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό τον μεταβολικό ρυθμό και σε υψηλότερες θερμοκρασίες καταλαβαίνουμε πως ο ρυθμός μεταβολισμού είναι συνήθως υψηλότερος μέχρι βεβαίως το βέλτιστο όριο ανάπτυξης.

3.5.5.2. Το CO₂ ως εντομοκτόνο

Πρόκειται για ένα εντομοκτόνο με ευρεία χρήση από επαγγελματίες χειριστές για τον έλεγχο των τάξεων των Δικτυοπτέρων, Κολεοπτέρων, Λεπιδοπτέρων Ακάρεων και Ημιπτέρων. Το CO₂ προκαλεί γρηγορότερη θανάτωση με την απώλεια νερού στα έντομα όταν τα επίπεδα υγρασίας είναι χαμηλά. Τα αυξημένα επίπεδα CO₂ προκαλούν συνεχές άνοιγμα των σιγμάτων των εντόμων, με αποτέλεσμα θάνατο από απώλεια νερού. Η υψηλή συγκέντρωση CO₂ είναι επίσης τοξική με επιδράσεις στο νευρικό σύστημα των εντόμων. Ο κηρόσκορος ως έντομο αποτελεί αερόβιο οργανισμό που απαιτεί οξυγόνο για την επιβίωσή του. Ως εκ τούτου, ανταποκρίνεται σε μεταβαλλόμενες ατμοσφαιρικές συνθέσεις που περιέχουν χαμηλό O₂ ή υψηλό CO₂. Ουσιαστικά ο τρόπος δράσης αφορά μείωση του οξυγόνου κάτω από αυτό που απαιτείται για τη στήριξη ζωής. Χαμηλό οξυγόνο μπορεί να επιτευχθεί είτε με την πλήρωση του χώρου αποθήκευσης με ένα αδρανές αέριο, το οποίο ωθεί τα περισσότερα άλλα αέρια εκτός και έτσι μειώνει τη συγκέντρωση του O₂ ή με την επιβολή χαμηλής πίεσης μέσω κενού, που μειώνει τις συγκεντρώσεις όλων των αερίων.

Οι απόψεις δίστανται σχετικά με τη θνησιμότητα των εντόμων σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης CO₂ σε υψηλή υγρασία και έχει παρατηρηθεί ότι είναι ανεξάρτητη από την απώλεια νερού. Αντίθετα, ο Donahaye (1992) πρότεινε ότι ο τρόπος δράσης του αυξημένου CO₂ ήταν η αποξήρανση ακόμη και σε υψηλά επίπεδα σχετικής υγρασίας. Ενώ σε άλλες έρευνες αναφέρεται πως σε υψηλότερες συγκεντρώσεις CO₂, οι μεταβολικές επιδράσεις καθίστανται ο πιο σημαντικός καθοριστικός παράγοντας θνησιμότητας.

Η αύξηση της συγκέντρωσης του CO₂ στην ατμόσφαιρα τα επόμενα χρόνια είναι σταδιακή και αναμένεται να συνεχιστεί, επομένως, είναι δύσκολο να πραγματοποιηθούν ρεαλιστικά πειράματα σχετικά με τα αποτελέσματά του στα έντομα σε πραγματικές συνθήκες. Σε εργαστηριακές συνθήκες αντίθετα είναι εφικτό με γνώμονα τη φυσιολογική συγκέντρωση CO₂ στην ατμόσφαιρα που είναι περίπου 400 ppm. Αξίζει να αναφέρουμε από τα διαθέσιμα στοιχεία που εντοπίσαμε στο διαδίκτυο, πως υπάρχουν έτοιμες κατασκευές απεντόμωσης μέσω εφαρμογής αερίου, διαστάσεων έως 5 x 5 x 5 m με το συνηθισμένο μέγεθος να είναι περίπου 3 x 3 x 3m. Όμως πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχουν πρακτικά όρια στο μέγεθος της κατασκευής και στην ποσότητα του απαιτούμενου CO₂. Στο τέλος της επεξεργασίας, το διοξείδιο του άνθρακα απελευθερώνεται από την κατασκευή, κατευθύνει στην εξωτερική ατμόσφαιρα και όταν η συγκέντρωση φθάσει σε ένα κατάλληλο επίπεδο, κάτω από το ανθρώπινο όριο έκθεσης του 0,5%, αποσυναρμολογείται και τα περιεχόμενα αφαιρούνται και αποθηκεύονται.



Εικόνα 9. Παράδειγμα κατασκευής απεντόμωσης με χρήση CO₂. (<http://www.maheu-maheu.com>)

Για την αντιμετώπιση του κηρόσκορου με τη χρήση CO₂ υπάρχουν ελάχιστα στοιχεία και χωρίς επαρκείς λεπτομέρειες για τα ακριβή επίπεδα θνησιμότητας αναλόγως σταδίου ανάπτυξης παγκοσμίως. Αναφέρεται σε ορισμένες μελέτες πως απαιτείται θερμοκρασία περίπου 38 °C ,σχετική υγρασία 50% και συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακος 98%-100% η οποία θανατώνει όλα τα στάδια του κηρόσκορου σε χρονικά περιθώρια που ξεκινούν από 4 ώρες-αρκετές ημέρες (Cantwell et al 1972, Popolizio et al 1973, Greatti et al.1992).

Καταλαβαίνουμε πως οι συνθήκες αυτές δεν είναι εύκολο να επιτευχθούν από μεμονωμένους μελισσοκόμους διότι το κόστος είναι πολύ υψηλό με τρόπο εφαρμογής που να είναι εύκολα προσβάσιμος για ευρεία εφαρμογή. Ακόμη τα υπάρχοντα αποτελέσματα με τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν πιθανόν να αλλοιώνονται από την υψηλή πίεση αερίου και τη χρησιμοποιούμενη υψηλή θερμοκρασία που απέχει πολύ από το βέλτιστο όριο ανάπτυξης του εντόμου.

Επισημαίνεται πως όλες οι διαθέσιμες μελέτες χρονικά διεξήχθησαν πριν την καθολική απαγόρευση του παραδιχλωροβενζολίου. Επίσης στο πλαίσιο του κανονισμού (797/2004) της Ε.Ε. αποφασίστηκε μεταξύ άλλων η επιχορήγηση για αγορά ψυκτικών θαλάμων, αντικατάσταση κηρηθρών, ταχύρρυθμες εκπαιδεύσεις μελισσοκόμων και αντιμετώπισης εχθρών και ασθενειών με **εναλλακτικούς τρόπους**. Συνεπώς σήμερα διαφαίνεται ακόμα περισσότερο η οικονομική σημασία εξέλιξης των φυσικών μεθόδων αντιμετώπισης του κηρόσκορου που δεν θέτουν σε κίνδυνο τα προϊόντα της κυψέλης και μπορούν να εφαρμοστούν σε ευρεία κλίμακα. Ουσιαστικά οι παραπάνω διαπιστώσεις αποτέλεσαν την αιτία για την διεξαγωγή του παρακάτω πειράματος.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.

1.ΥΛΙΚΑ

1.1. Επωαστήριο. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και συγκεκριμένα σε δωμάτιο που λειτουργούσε και ως θάλαμος σταθερής θερμοκρασίας 29°C, με τη χρήση κλιματιστικού. Επίσης χρησιμοποιήθηκε επωαστικός θάλαμος ρυθμισμένος σε σταθερή θερμοκρασία 29°C και φωτοπερίοδος 16l:8d.



Εικόνα 10. Δοχεία και θάλαμος εκτροφής σταθερών συνθηκών.

1.2. Εργαστηριακοί κλωβοί. Τετράγωνοι διάτρητοι κλωβοί διαστάσεων 30 x 30 cm χρησιμοποιήθηκαν , με μεταλλικό πλέγμα περιφερειακά, που βρίσκουν εφαρμογή ως εκτροφεία διαφόρων εντόμων στα εργαστήρια. Ο σκελετός των κλωβών ήταν ξύλινος, οι δύο πλάγιες πλευρές ήταν καλυμμένες με μεταλλικό πλέγμα, η οπίσθια πλευρά είχε οπή εισόδου για εύκολους χειρισμούς εντός του κλωβού, η πρόσθια πλευρά είχε άνοιγμα μικρής διατομής, το οποίο λειτουργούσε και ως είσοδος στο εσωτερικό, για διευκόλυνση γενικών χειρισμών και το κάτω μέρος ήταν επίσης ξύλινο (MDF).



Εικόνα 11.Κλωβός διαχωρισμού και καταμέτρησης αναπτυξιακών σταδίων.

1.3. Δοχεία και σάκοι πολυαιθυλενίου.



Εικόνα 12. Δοχεία με βαλβίδα εισόδου για εφαρμογή CO₂ και μάρτυρας .



Εικόνα 13. Δοχεία πολυαιθυλενίου με βαλβίδα εισόδου και εξόδου αερίου.



Εικόνα 14. Σάκκοι πολυαιθυλενίου με βαλβίδα αφαίρεσης αέρα.

1.4. Πηγές προμήθειας CO₂.

Για την προμήθεια της απαραίτητης ποσότητας διοξειδίου του άνθρακος έγινε έρευνα αγοράς στην Ελλάδα αλλά και σε διαδικτυακούς ιστοτόπους του εξωτερικού ώστε να ανευρεθεί η χρηστικότερη και οικονομικότερη λύση για την συγκεκριμένη περίπτωση. Αρχικά είχαμε στην κατοχή μας φιάλη ατσάλινη χωρητικότητας 10 κιλών προδιαγραφών 15°C και 49,5 bar. Σύμφωνα με μέτρο του Κανονισμού (ΕΚ) αριθ.1907/2006 που εφαρμόζεται από 01-09-2008 στη χώρα μας για να διασφαλίσει την καταλληλότητα κάθε παρόμοιας φιάλης, καθιστά υποχρεωτική την ύπαρξη ανάγλυφης σήμανσης στο εξωτερικό μέρος που θα πρέπει να αναφέρει μήνα ,έτος πρώτης δοκιμής, έτος επόμενης δοκιμής και λογότυπο κέντρου επανελέγχου. Απο την αρχική ημερομηνία αγοράς όταν ξεπεραστεί το όριο των 10 ετών αντοχής φιάλης που ορίζεται από τον κατασκευαστή , απαιτείται ο πρώτος έλεγχος για τυχόν διαρροές.

Σημειώνεται πως μετά από προσωπική επικοινωνία με εργοστάσια που πραγματοποιούν τον έλεγχο, είναι αναγκαία παραμονή της φιάλης στο εργοστάσιο περίπου 1 εβδομάδα. Επιπρόσθετα μετα την πάροδο των δέκα ετών από την ημερομηνία αγοράς, σε κάθε επαναπλήρωση το εργοστάσιο είναι υποχρεωμένο να πραγματοποιεί έλεγχο διαρροών και επομένως στο κόστος πλήρωσης πρέπει να συνυπολογίζεται και το κόστος ελέγχου. Ξεκαθαρίζουμε πως αν κάποιος προμηθευτεί μεταχειρισμένη φιάλη εξαρχής θα πρέπει αναγκαστικά πάντα πριν την πλήρωση να έχει περάσει τον έλεγχο, χωρίς να επιδέχεται επισκευές.

Στο συγκεκριμένο πείραμα λόγω των ελάχιστα διαφοροποιημένων συγκεντρώσεων που ήταν αναγκαίο να χρησιμοποιηθούν εξαιτίας της μεγάλης ευαισθησίας του οργανισμού που μελετήσαμε, ερευνήσαμε και εναλλακτικούς τρόπους προμήθειας CO₂. Η καλύτερη λύση που παράλληλα εξασφάλισε και τη μεγαλύτερη ακρίβεια για τα πειράματα ήταν οι ατσάλινες αμπούλες διαφόρων συγκεντρώσεων που χρησιμοποιούνται για άλλους σκοπούς στο εμπόριο. Ακόμη εξίσου χρηστικά ήταν και ορισμένα φιαλίδια τύπου σπρέι με στόμιο ψεκασμού που μπορέσαμε να προμηθευτούμε πραγματοποιώντας συνεχή έρευνα αγοράς για τις διαθέσιμες πηγές αερίου. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν αμπούλες που περιείχαν αέριο σε συγκεντρώσεις 12gr,16gr, 25 gr και φιαλίδια με περιεκτικότητα 550 gr για μεγαλύτερη ακρίβεια και ευκολία ελέγχου των απαραίτητων μικροσυγκεντρώσεων που απαιτούνταν.

Χρήση ξηρού πάγου δοκιμάστηκε επίσης, καθώς πρόκειται για τη στερεή μορφή του διοξειδίου του άνθρακα σε θερμοκρασία -78,5°C και ήταν αναγκαίο να διαπιστωθούν τυχόν διαφορές με τα άλλα υλικά. Είναι άχρωμος, άοσμος, άγευστος και παράγεται συμπιέζοντας το διοξείδιο του άνθρακα όταν αυτό βρίσκεται στην υγρή του μορφή. Γνωρίζουμε πως για κάθε ουσία η εξάχνωση μπορεί να επιτευχθεί σε συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας στις οποίες η συγκεκριμένη ουσία απλά δεν μπορεί να βρεθεί σε υγρή κατάσταση. Ουσιαστικά από το υγρό διοξείδιο του άνθρακα αφαιρείται η θερμότητα που παράγεται από τη συμπίεση και ακολούθως στερεοποιείται αφήνοντας το υγρό να εκτονωθεί. Η εκτόνωση προκαλεί πτώση της θερμοκρασίας με αποτέλεσμα μέρος από το διοξείδιο του άνθρακα να παγώνει σε μορφή πάγου το οποίο συμπιέζεται έπειτα σε μεγαλύτερα κομμάτια.

Καθώς χρησιμοποιήθηκε σε αρκετές εφαρμογές και ποσότητες, παρατηρήθηκε αρχικά πως στις συνθήκες διεξαγωγής των πειραμάτων, έχασε περίπου το 30% του όγκου σε περίπου 24 ώρες. Συνεπώς μετά την παρασκευή ή την προμήθειά του μπορεί να μεταφερθεί σε κιβώτια διογκωμένης πολυστερίνης που δεν κλείνουν βέβαια αεροστεγώς. Το ποσοστό εξάχνωσης είναι περίπου 1% ανά ώρα σε φυσιολογικές ατμοσφαιρικές συνθήκες σύμφωνα με τις μαρτυρίες των εταιρειών πώλησης που συμβουλευτήκαμε.



Εικόνα 15. Περιέκτες προμήθειας CO₂.

1.5. Μετρητές επιπέδων CO₂.



Εικόνα 16 .Μετρητές επιπέδων CO₂ εσωτερικού χώρου.

1.6. Λοιπά : Μανόμετρο, ροόμετρο διοξειδίου του άνθρακος με πλωτήρα, σιλικόνη, σωληνάκια πολυαιθυλενίου διοχεύτησης αερίου διαφόρων διαμετρημάτων, ρακόρ σύνδεσης θηλυκά και αρσενικά , βαλβίδες εισόδου και εξόδου αερίων με διακόπτη ροής, ανεπίστροφες βαλβίδες αερίου, βελόνες με σπείρωμα εισαγωγής αερίου, υγρό τεφλόν και κολλητική ταινία, κυψέλες Langstroth , κερί από παλιές και νεόκτιστες κηρήθρες , μπαταρίες ,σίτα αλουμινίου, τριβλία, κόφτης σωληνώσεων, τρυπάνι πολυαιθυλενίου, κόλλα πολυαιθυλενίου , γυάλινες κωνικές φιάλες και ζυγαριά ακριβείας.

2. ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Μέθοδος εκτροφής κηρόσκορου.

Τα έντομα ώστε να ξεκινήσει η εκτροφή συλλέχθηκαν από προσβεβλημένες κηρήθρες κυψελών του μελισσοκομείου του Πανεπιστημίου.

Αρχικά χρησιμοποιήθηκε για την εκτροφή κυψέλη τύπου Langstroth που περιείχε παλιές μαύρες κηρήθρες φυσικά χωρίς μέλισσες και εφαρμόστηκε περιφερειακά μονωτική ταινία για αποτροπή εξόδου εντόμων, εισόδου παρασίτων ή προσβολών μυρμηγκιών. Στη συνέχεια εγκαταλείφθηκε γρήγορα λόγω δυσκολίας ελέγχου ηλικιών παραγόμενου πληθυσμού εντόμων και συνεχών αποδράσεων προνυμφών αφού διατρύπησαν και την ταινία. Η χρήση περιελάμβανε την ωτοκία των ακμαίων αλλά κυρίως τον επιτυχή διαχωρισμό και καταμέτρηση των ατόμων διάφορων σταδίων που χρειάζονταν σε κάθε πειραματική επέμβαση. Σε κάθε κλωβό διατηρούνταν 10 έως 20 ζεύγη τέλειων εντόμων και χαρτόνια μαύρου χρώματος προστέθηκαν διαμορφωμένα έτσι ώστε να σχηματίζονται εσοχές που προσελκύουν τα ακμαία να ωτοκήσουν.

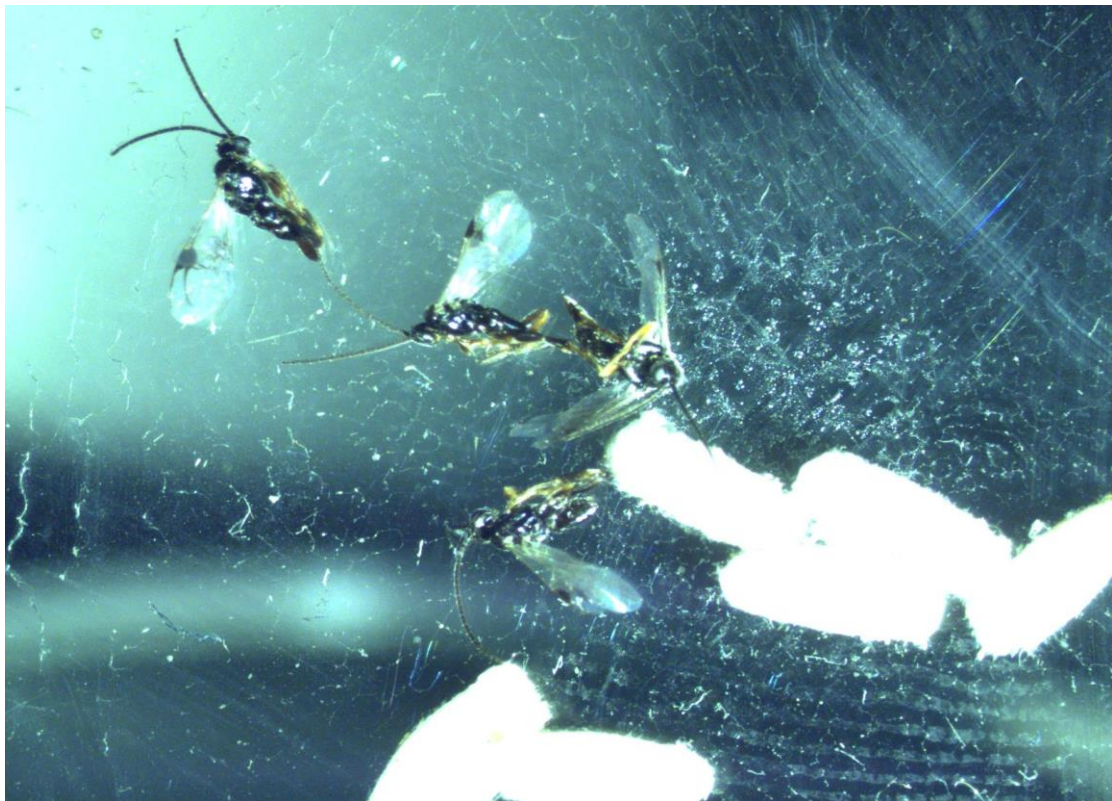
Στη συνέχεια επιλέχθηκαν δοχεία πολυαιθυλενίου του ενός λίτρου τα οποία προσαρμόστηκαν με δημιουργία οπής στο καπάκι για τον απαραίτητο αερισμό και έγινε κόλληση με σιλικόνη, μεταλλικής ανοξειδωτής σίτας. Χρήση υφασμάτων και πλαστικών σιτών δε συνιστάται, καθώς καταστρέφονται από τις προνύμφες και υπάρχουν σοβαρές απώλειες πληθυσμού.

Όλα τα δοχεία πολυαιθυλενίου τοποθετήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο ρυθμισμένο σε σταθερή θερμοκρασία 29°C και φωτοπερίοδο 16L:8d. Η τροποποιημένη φωτοπερίοδος στη συνέχεια διακόπηκε καθώς είναι απαραίτητη μόνο για τα ακμαία και οι προνύμφες φάνηκε να επηρεάζονται αρνητικά στην συμπεριφορά τους, διότι παρατηρήθηκε πως δεν τρέφονταν με τον ίδιο ρυθμό. Οι προνύμφες μόλις εκκολάπτονταν απομακρύνονταν και τοποθετούνταν σε τριβλία με φυσική τροφή για να μεγαλώσουν ώστε να μπορούν να μετρηθούν ευκολότερα. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν προνύμφες σε διάφορους αριθμούς σε τριβλία αλλά και στα διάτρητα δοχεία πολυαιθυλενίου για την απόκτηση ικανού αριθμού εντόμων αρχικά και μετά διαχωρίζονταν κατά στάδια ανάπτυξης.

Ακολούθως μετά την ωτοκία των ακμαίων τα ωά μεταφέρονταν σε τριβλία με μαύρη παλαιά κηρήθρα ως τροφή για την ολοκλήρωση της ανάπτυξης και συλλογή των επόμενων σταδίων αναλόγως αναγκών των πειραμάτων ή συλλέγονταν απευθείας.

Παρατηρήθηκε σε συνθήκες υψηλής υγρασίας >80% και σταθερής θερμοκρασίας 28 °C ανάπτυξη μεγάλου πληθυσμού από το σαπροφάγο άκαρι *Tyrophagus putrescentiae*. Ακόμη είχαμε αρκετές προσβολές του

εκτοπαρασιτοειδούς *Dibrachys cavus*, αν και για τη διατροφή του κηρόσκορου χρησιμοποιήθηκαν κηρήθρες οι οποίες προηγουμένως διατηρήθηκαν επιμελώς σε συνθήκες κατάψυξης επί 10 τουλάχιστον ημέρες. Η σχετική υγρασία δοκιμάστηκε σε διάφορα επίπεδα και τελικά ρυθμίστηκε στο 60%. Η υπερβολικά υψηλή ή χαμηλή θερμοκρασία επίσης είναι φανερό πως είχε αρνητικές επιπτώσεις στα έντομα, μειώνοντας τα ποσοστά επιβίωσης, ως αποτέλεσμα της θερμικής καταπόνησης και συνεπώς χρησιμοποιήθηκε σταθερή η βέλτιστη θερμοκρασία εκτροφής που περιγράφηκε.



Εικόνα 17. Ακμαία και βομβύκια του *Dibrachys cavus*. οικ. Pteromalidae.



Εικόνα 18. Συλλογή και μέθοδος τοποθέτησης ωών προς πειραματισμό.



Εικόνα 19. Ανάπτυξη μύκητα σε κηρήθρα , χωρίς επέμβαση με CO₂, εντός μάρτυρα.

2.2. Μεθοδολογία εφαρμογής CO₂.

Χρήσιμο είναι να αναφέρουμε πως η ατμοσφαιρική πίεση ελαττώνεται με την αύξηση του ύψους και πως σε ένα κλειστό δοχείο που υπάρχει αέριο, η πίεσή του εξαρτάται μόνο από τη θερμοκρασία που αυτό βρίσκεται. Αν η θερμοκρασία του αερίου είναι σταθερή τότε η πίεση εξαρτάται από τον όγκο του δοχείου. Έτσι αν ελαττώσουμε τον όγκο τον οποίο καταλαμβάνει το αέριο που βρίσκεται στο δοχείο χωρίς να μεταβληθεί η θερμοκρασία του αερίου τότε η πίεσή του αυξάνεται. Αν το αέριο που βρίσκεται στο κλειστό δοχείο θερμανθεί τότε είναι δυνατό να διαρραγεί το δοχείο, συνεπώς είναι απαραίτητο να εκτονωθεί.

Ο συνηθέστερος τρόπος για την προσθήκη διοξειδίου του άνθρακα σε ένα αεροστεγή, σφραγισμένο χώρο είναι με κυλινδρικές φιάλες που περιέχουν πεπιεσμένο υγρό, το οποίο όταν απελευθερώνεται μετατρέπεται σε αέριο.

Ένας ειδικά σχεδιασμένος ρυθμιστής αερίου απαιτείται για τον έλεγχο της ταχύτητας που απελευθερώνεται αέριο από τη φιάλη στο χώρο μέσω ενός μικρού σωλήνα υψηλής πίεσης. Αν πρόκειται για σφραγισμένο δοχείο η χώρο θα χρειαστεί βεβαίως πιστοποιημένη βαλβίδα εκτόνωσης πίεσης προσαρμοσμένη ώστε να επιτρέψει φυσική διαστολή και συστολή του αέρα στο χώρο όταν σφραγιστεί. Η χρήση όσο το δυνατόν μικρότερου εύκαμπτου σωλήνα παροχής μειώνει την ποσότητα αερίου που θα παγώσει στο σωλήνα και θα προκαλέσει καθυστέρηση της διαδικασίας εφαρμογής για να μπορέσει να ξεπαγώσει.

Η αρχή στην οποία βασιστήκαμε περιλαμβάνει την αντικατάσταση του οξυγόνου με διοξείδιο του άνθρακα σε μια συγκέντρωση που είναι τοξική για τα έντομα για ικανό χρονικό διάστημα. Η αεροστεγανότητα είναι σημαντική για τον έλεγχο της ατμόσφαιρας στον όγκο που το εφαρμόσαμε αλλά και γενικά σε οποιοδήποτε όγκο μελλοντικής εφαρμογής.

Συνολικά το αέριο εφαρμόστηκε στα παρακάτω: Σε σάκους πολυαιθυλενίου με βαλβίδα αφαίρεσης αέρα, δοχεία πολυαιθυλενίου τροποποιημένα ως μικροί θάλαμοι με βαλβίδα εισαγωγής αλλά χωρίς βαλβίδα εξαγωγής αερίων, δοχεία πολυαιθυλενίου με βαλβίδα εισαγωγής και εξαγωγής αερίων και σε κωνικές φιάλες που έγινε τοποθέτηση μόνο ξηρού πάγου.

Τα δοχεία πολυαιθυλενίου είχαν εξωτερικές διαστάσεις 23,5×16×10cm, εσωτερικού όγκου 3.76 l και το κάθε ένα εφοδιάστηκε με βαλβίδα εισαγωγής αερίου που διέθετε διακόπτη ροής. Οι οπές τοποθέτησης των βαλβίδων εισαγωγής αερίου για λόγους ευχρηστίας έγιναν ακριβώς στη μέση του δοχείου με ειδικό τρυπάνι. Η κάθε βαλβίδα συνδέθηκε με ιδίων διαμετρημάτων **ρακόρ** στην έξοδο και ιδίων διαμετρημάτων σπείρωμα στην είσοδο (6mm). Στην είσοδο της βαλβίδας συνδέθηκαν διαφόρων διαστάσεων σωληνώσεις πολυαιθυλενίου και αντίστοιχα ρακόρ που έδωσαν τη

δυνατότητα να βρεθεί το κατάλληλο διαμέτρημα που θα σταθεροποιήσει την πίεση ροής εισόδου και εξόδου. Βαλβίδα εξαγωγής αερίου χρησιμοποιήθηκε αρχικά τοποθετούμενη στην κορυφή του δοχείου, αλλά εγκαταλείφθηκε γρήγορα διότι το οξυγόνο απομακρυνόταν καλύτερα συμπιέζοντας ελαφρώς τα τοιχώματα του δοχείου με μικρή αύξηση της πίεσης. Για σφράγιση χρησιμοποιήθηκε αρχικά σιλικόνη με όχι ικανοποιητικά αποτελέσματα η οποία δημιούργησε τοξικές αναθυμιάσεις εντός δοχείου που φάνηκε πως επηρέαζαν τα δεδομένα του πειράματος και έτσι εγκαταλείφθηκε. Επίσης παρουσιάστηκαν μεγαλύτερες διαρροές, απώλεια χρόνου αλλά και μεγαλύτερη δαπάνη χρημάτων με τη χρήση σιλικόνης τελικά.

Τα πλαστικά δοχεία, είναι κατάλληλα για μικρότερες επεμβάσεις και εμφανίζουν πλεονέκτημα ευκολίας μεταφοράς ,εγκατάστασης στο χώρο αποθήκευσης και επιτυχέστερο έλεγχο των ελαχίστων συγκεντρώσεων διοξειδίου του άνθρακος. Τελικά επιλέχθηκαν δοχεία πολυαιθυλενίου με προσαρμοσμένη φλάντζα σιλικόνης που διέθεταν προδιαγραφές κατασκευαστή 100% αεροστεγανότητας.

Στην φιάλη προσαρμόστηκε αρχικά μειωτήρας ο οποίος δεν παρείχε ικανοποιητικό έλεγχο της ποσότητας και πίεσης του αερίου που διοχετεύονταν στα δοχεία. Ειδικό ροόμετρο εφοδιασμένο με μετρητή ροής που διέθετε πλωτήρα και μανόμετρο πίεσης εξόδου της φιάλης κρίθηκε απαραίτητο. Έτσι υπήρξε μέγιστη ακρίβεια στον έλεγχο ροής και του χρησιμοποιούμενου όγκου αερίου.

Κρίνεται απαραίτητο να ειπωθεί πως τα ροόμετρα μετρούν τη ροή των αερίων, με βάση την αρχή ότι όταν ένα αέριο διέρχεται από μια στένωση, αναπτύσσεται διαφορά πίεσης μεταξύ των δύο άκρων της στένωσης, η οποία ρυθμίζει τη ροή του αερίου. Η μείωση της πίεσης στο ένα άκρο της στένωσης είναι ανάλογη προς τη ροή του αερίου και αντιστρόφως ανάλογη προς τη διάμετρο της στένωσης. Κατά συνέπεια εάν η στένωση έχει σταθερή διάμετρο , η διαφορά πίεσης είναι ανάλογη προς τη ροή μέσα από αυτό. Εάν η στένωση έχει μεταβλητή διάμετρο ,η διαφορά πίεσης διατηρείται σταθερή και είναι αυτή που απαιτείται για να ανεβάσει τον πλωτήρα, δηλαδή η ροή κυμαίνεται ανάλογα με τη διάμετρο της στένωσης. Τα ροόμετρα είναι ειδικά βαθμονομημένα για κάθε μετρούμενο αέριο. Η ροή επίσης εξαρτάται από την πυκνότητα αερίου, όταν η ροή είναι χαμηλή και γραμμική και από το ιξώδες του αερίου, όταν η ροή είναι υψηλή ή στροβιλώδης. Επίσης, όταν ένα αέριο χορηγείται σε διαφορετική πίεση από αυτή στην οποία βαθμονομήθηκε το ροόμετρό του, όταν μεταβληθεί η πυκνότητα,θα επηρεαστεί η ακρίβεια των μετρήσεων. Συνεπώς είναι απαραίτητη η προμήθεια ροομέτρου CO₂ για την επιτυχή μέτρηση των θανατηφόρων δόσεων ,από το χρήστη της μεθόδου.

Ακόμη για να αποκλειστεί το ενδεχόμενο της δημιουργίας πίεσης εντός δοχείων που θα υποβοηθούσε τη θανάτωση των εντόμων, αναγκαία κρίθηκε η χρήση **μανομέτρου**. Το μανόμετρο που προμηθευτήκαμε μετρούσε ανώτατη πίεση έως 8 bar, το οποίο δοκιμάστηκε στο σημείο σύνδεσης της φιάλης με το σωλήνα υψηλής πίεσης αλλά και στο σημείο ένωσης του δοχείου με το ρακόρ εξωτερικά και εσωτερικά του δοχείου. Έτσι επιτράπηκε ο καλύτερος προσδιορισμός και αποκλεισμός του παράγοντα της πίεσης του αερίου από την εμπλοκή στα τελικά αποτελέσματα θνησιμότητας.

Χρήσιμο είναι να αναφέρουμε επίσης πως ο σωλήνας πολυαιθυλενίου που συνδέεται με την πηγή παροχής διοξειδίου του άνθρακος πρέπει να κλείνει αμέσως, για να μην εισέλθει αέριο, εφόσον μόνο μειωτήρας-ροόμετρο και μανόμετρο χρησιμοποιούνται. Για να αποφευχθεί το παραπάνω πρόβλημα πρέπει να τοποθετηθούν βαλβίδες ανεπιστροφής αερίου μεταξύ ροομέτρου και μανομέτρου. Τελικά λοιπόν μετά από αρκετές δοκιμές στην συγκεκριμένη πειραματική εφαρμογή καλύτερα αποτελέσματα λάβαμε με την προσθήκη ανεπίστροφης βαλβίδας συνδεδεμένης με το ρακόρ εισαγωγής αερίου που είχε τις επιθυμητές μηδαμινές απώλειες.

2.3. Καταγραφή επιπέδων συγκέντρωσης CO₂.

Η μέθοδος της απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας χρησιμοποιείται διεθνώς για την ανάλυση της δραστικής ουσίας και έχει αποδειχθεί ότι είναι επαρκώς συγκεκριμένη και ακριβής. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ανάλυση του διοξειδίου του άνθρακα σε συγκεντρώσεις 99-100% αλλά η μέθοδος δεν έχει επικυρωθεί για χαμηλότερες συγκεντρώσεις όπως στην περίπτωση που εξετάζουμε και επίσης είναι πολύ ακριβή. Η πλήρωση δοχείου συγκεκριμένων λίτρων θα μπορούσε θεωρητικά-εμπειρικά να γίνει με βάση τον ακριβή όγκο και υπολογισμό της χωρητικότητας χωρίς όμως να μπορεί να μετρηθεί η **ακριβής συγκέντρωση** που επιτυγχάνουμε στο εσωτερικό και οι **πιθανές διαρροές**.

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται μια προσέγγιση που λαμβάνει υπόψη τη φιλικότητα στο χρήστη αλλά και το χαμηλότερο κόστος ,για την λήψη αξιόπιστων αποτελεσμάτων στην καταμέτρηση των επιπέδων του αερίου. Πρόκειται για τη χρήση επιτραπέζιων μετρητών ελέγχου ποιότητας αέρα (**loggers**) που είναι συσκευές καταγραφής επιπέδων CO₂, κατασκευασμένες για εσωτερικούς χώρους, οι οποίες δοκιμάστηκαν και προσαρμόστηκαν στις ανάγκες του πειράματος. Στη συγκεκριμένη μελέτη διαπιστώθηκε επίσης εάν χαμηλού κόστους καταγραφείς CO₂, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν

αποτελεσματικά στην εντομολογική έρευνα. Αυτοί οι τύποι αισθητήρων που δεν έχουν την ίδια υψηλή απόδοση και ευαισθησία όπως οι κατά πολύ ακριβότεροι μετρητές (20 πλάσιο κόστος). Ωστόσο επιτρέποντας την ταυτόχρονη εγκατάσταση μεγάλου αριθμού μετρητών ,εξαιτίας χαμηλού κόστους , καθίστανται εξαιρετικά επωφελείς για μέτρηση σε πολλαπλά σημεία ταυτόχρονα. Έτσι μετατρέπονται στους καταλληλότερους για τη συγκεκριμένη περίπτωση καθώς η εξοικονόμηση χρημάτων και η ευελιξία είναι εμφανής. Παρουσιάζουμε παρακάτω προσεγγίσεις για τη μέτρηση ροών και συγκεντρώσεων χρησιμοποιώντας παρόμοια καταγραφικά CO₂ στο χώρο εφαρμογής των πειραμάτων αλλά και εντός των πλαστικών δοχείων και σάκων που χρησιμοποιήθηκαν. Τονίζεται πως πραγματοποιήθηκε εξέταση των επιδόσεων του κάθε καταγραφέα κάτω από διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες με ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Ο αισθητήρας αρχικά αλλά και μετά από κάθε μέτρηση βαθμονομήθηκε επιτυχώς στον ατμοσφαιρικό αέρα στα 398-407ppm που μετρήθηκαν στον εξωτερικό χώρο και στη συνέχεια αφαιρέθηκαν από την πρόσφατα υπολογισμένη τιμή μετατόπισης. Σε εργαστήρια του εξωτερικού αναφέρεται πως υπάρχει ακριβέστερος τρόπος μέτρησης σε συγκέντρωση 0ppm CO₂ με παρουσία μόνο αζώτου. Επιλέχθηκε η βαθμονόμηση με ατμοσφαιρικό αέρα λόγω έκθεσης συνεχώς σε διαφορετικά επίπεδα CO₂ καθώς επιτυγχάνεται μεγαλύτερη ταχύτητα και εξοικονόμηση. Οι μετρητές είναι προσιτοί, αρκούντως αποδοτικοί, φιλικοί προς το χρήστη και κατάλληλοι για ευρεία εφαρμογή, ως εκ τούτου έχουν μεγάλες δυνατότητες ως σημαντικά εργαλεία για μελλοντικές μελέτες που αφορούν τις συγκεντρώσεις CO₂ σε κλειστό χώρο. Ειδικά στην εξεταζόμενη περίπτωση είναι η οικονομικότερη λύση ,μετά βέβαια την κατά προσέγγιση μέτρηση χωρητικότητας διοξειδίου με βάση τον όγκο του χώρου ή του δοχείου εφαρμογής υπολογιζόμενη σε σχέση με την παροχή. Επίσης σημαντική συμβολή τους στην πειραματική εφαρμογή εντοπίστηκε στο γεγονός του εντοπισμού **διαρροών** από το δοχείο που εφαρμόστηκε το αέριο. Όπως και στη σύγκριση των συγκεντρώσεων εντός και εκτός δοχείου μετρούμενες σε ακρίβεια ppm. Σημειώνεται πως όλοι οι υπόλοιποι μετρητές που διατίθενται στο εμπόριο μετρούν συγκεντρώσεις % και όπως είπαμε και παραπάνω είναι πολύ ακριβότεροι.

Στην πρακτική εφαρμογή το αέριο αναμιγνύεται με ποσοστό αέρα καθώς γεμίζει το δοχείο και αλλοιώνει τα αποτελέσματα. Διαπιστώθηκε πως έλεγχος 100% του κηρόσκορου δεν είναι επιτυχής εάν μικρές διαρροές αέρα επιτρέπουν διαφυγή CO₂ και είσοδο O₂ που τροποποιούν τα επίπεδα συγκέντρωσης κάτω από αυτά της θνησιμότητας.

Οι διαρροές καταλήξαμε πως οφείλονται στη διαφορά συγκέντρωσης μεταξύ εισερχόμενων-εξερχόμενων αερίων και τη διαφορά πίεσης αερίων συμπεριλαμβανομένου του αέρα μεταξύ του άνω και κάτω μέρους του δοχείου. Διαρροή που ξεκινούσε από **60%** παρατηρήθηκε σε κλειστά δοχεία ή σακούλες που αφέθηκαν ανοικτά αφού πρώτα εφαρμόστηκε η ελάχιστη θανατηφόρα δόση. Διαπιστώθηκε ακόμη πως η προσθήκη περισσότερου αερίου από την αρχή δεν επηρεάζει θετικά την έκβαση της τελικής διαρροής ή της θνησιμότητας στα δοχεία πολυαιθυλενίου που κυρίως δοκιμάστηκε.

Αξίζει να αναφερθεί πως καλύτερη **στεγανοποίηση** μεταλλικών ενώσεων για ενδεχόμενες διαρροές αερίου είχαμε με τη χρήση **υγρού τεφλόν**, σε σύγκριση με οποιοδήποτε υλικό χρησιμοποιήθηκε, το οποίο χάρισε την καλύτερη απόδοση σταθεροποίησης CO₂ στα δοχεία πολυαιθυλενίου και τους σάκους. Ακόμη προσαρμόστηκε εσωτερικός δακτύλιος σύσφιξης για επιτυχή συγκράτηση της βαλβίδας στο δοχείο μαζί με ταινία τεφλόν ενδιάμεσα.

Τονίζεται πως η αλληλεπίδραση μεταξύ της μεθόδου εφαρμογής και στεγανοποίησης είναι ορατή σε όσες προσπάθειες κάναμε. Γενικά διαφαίνεται πως με την **εφάπαξ δόση** σε κάθε εφαρμογή περιορίζεται ο κίνδυνος να υπερβούμε την αναγκαία συγκέντρωση που θα οδηγήσει σε υψηλές διαρροές.

Επίσης ο χώρος- επωαστήριο στον οποίο έγιναν όλες οι εφαρμογές του αερίου παρέμεινε σε τροποποιημένες αναλόγως των αναγκών αλλά σταθερές θερμοκρασίες εντός ορίων των 26-29°C. Όταν η θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι κάτω από τους 22°C, η χρήση διοξειδίου του άνθρακα δεν συνιστάται καθώς παρατείνεται κατά πολύ η απαιτούμενη διάρκεια εφαρμογής και λόγω της συμπεριφοράς του εντόμου δεν εξάγουμε απολύτως ασφαλή συμπεράσματα από το πείραμα. Η συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα πρέπει να παραμείνει συνεχώς στα επιθυμητά επίπεδα, επομένως μπορεί να χρειαστεί να προστεθεί περισσότερο αέριο ανάλογα με το βαθμό αεροστεγανότητας που επιτυγχάνεται.



Εικόνα 20. Σύστημα εφαρμογής-μέτρησης CO₂ σε πλήρη λειτουργία (φιάλη).



Εικόνα 21. Σύστημα εφαρμογής CO₂ (αμπούλα).



Εικόνα 22. Μανόμετρο τοποθετημένο εντός δοχείου

2.4. Μέτρα προφύλαξης κατά την εφαρμογή CO₂.

Παρά το γεγονός ότι το διοξείδιο του άνθρακα υπάρχει φυσικά στην ατμόσφαιρα, το μέγιστο ασφαλές επίπεδο για τον άνθρωπο είναι 5000 ppm (0,5% κατ' όγκο). Είναι 1,5 φορά βαρύτερο από τον αέρα και συγκεντρώνεται σε χαμηλά επίπεδα ειδικά σε ανεπαρκώς αεριζόμενους χώρους συνδυναζόμενο με έλλειψη οξυγόνου. Μετά τις αλληπάλληλες εφαρμογές για τις ανάγκες του πειράματος είναι απόλυτα αναγκαίο να αναφερθούν ορισμένες παρατηρήσεις που αφορούν την προφύλαξη του μελλοντικού εφαρμοστή καθώς και των παρευρισκομένων στο χώρο εφαρμογής. Είναι γνωστό πως ταξινομείται ως επιβλαβές αέριο στους ανθρώπους, είναι άοσμο και άχρωμο και οι ασφαλείς συγκεντρώσεις μπορούν εύκολα να ξεπεραστούν σε περιορισμένους χώρους. Μπορεί να προκαλέσει ασφυξία, αναπνευστική δυσχέρεια καθιστώντας απαραίτητο να αεριστεί επαρκώς ο χώρος. Οι οικονομικοί μετρητές που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα διαθέτουν και την πρόσθετη λειτουργία συναγερμού που αφορά τα ασφαλή επίπεδα για τον ανθρώπινο οργανισμό σε κλειστό χώρο. Τα **γάντια** επίσης είναι απαραίτητη προσθήκη όταν χειριζόμαστε κυλίνδρους διοξειδίου του άνθρακα, σωληνάκια υψηλής πίεσης ή ξηρό πάγο, κατά τη διάρκεια της εφαρμογής, λόγω κινδύνου εγκαυμάτων χαμηλής θερμοκρασίας.

| <u>Συγκέντρωση(CO₂)</u> | <u>Επιπτώσεις στον Άνθρωπο</u> |
|------------------------------------|--|
| 300 ppm (0.03%) | Καμία αρνητική επίπτωση, φυσιολογική συγκέντρωση στον ατμοσφαιρικό αέρα. |
| 3,000-5,000ppm (0,5%) | Αυξημένος ρυθμός αναπνοής κατά 5% και κεφαλαλγία. |
| 10,000ppm (1.0%) | Συμπτώματα αδυναμίας συγκέντρωσης, αίσθημα άγχους και γενικής κοπώσεως. |
| 20,000ppm (2.0%) | Ο ρυθμός αναπνοής αυξάνεται κατά 50%, ισχυρός πονοκέφαλος. |
| 50000–100000 ppm (5-10%) | Δυσκολία αναπνοής και εξάντληση. Η παρατεταμένη έκθεση σε συγκεντρώσεις >5% οδηγεί σε μη αναστρέψιμες βλάβες στην υγεία. |

Πίνακας 2. Επιπτώσεις CO₂ στον ανθρώπινο οργανισμό σε εσωτερικούς χώρους. Πηγή: ΕΡΑ.

2.5. Τύποι και μεθοδολογία πειραμάτων.

Αρχικά τονίζεται πως κάθε επέμβαση που παρουσίασε ενθαρρυντικά αποτελέσματα κατά τη διεξαγωγή πιλοτικών δοκιμών επιλέχθηκε στη συνέχεια ώστε να γίνουν οι απαραίτητες επαναλήψεις για επαλήθευση.

Στις πιλοτικές και λοιπές εφαρμογές έγινε χρήση του τύπου του **Abbott** για την επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας:

Αποτελεσματικότητα = $1 - \frac{\text{τελικός πληθυσμός στην επέμβαση}}{\text{αρχικός πληθυσμός στην επέμβαση} \times \text{αρχικός πληθυσμός στο μάρτυρα} / \text{τελικός πληθυσμός στο μάρτυρα}} \times 100$ και επιβεβαίωση με χειρωνακτική μέτρηση των αναπτυξιακών σταδίων που επιβίωσαν. Στη συνέχεια για διευκόλυνση των πειραμάτων επιλέχθηκε ο διαχωρισμός σε **δεκάδες** και **εκατοντάδες**.

Ορισμένοι χρήσιμοι υπολογισμοί που μας βοήθησαν στον ακριβή προσδιορισμό της απαιτούμενης δόσης αερίου για επιτυχή αντιμετώπιση αναφέρονται στη συνέχεια:

α) Από την καταστατική εξίσωση των ιδανικών αερίων όπως το εξεταζόμενο προκύπτει:

Μάζα για 10gr CO₂ = 44gr/mol = μάζα/μοριακό βάρος = 10g / 44g / mol = 5/22 = 0,227mol

Από την $V = k \times n$ προκύπτει 22,4 x 5 / 22 = 5,16 lit για ιδανικά αέρια 10 gr CO₂ = 5,16 lit για 100% συγκέντρωση. Επίσης 44gr CO₂ αποδίδουν 22,4 lit CO₂ αερίου.

β) Το 1kg CO₂ αποδίδει 559L στους 28°C και καταλαμβάνει 0.553 m³ χώρου. Επίσης στο 1 lit χώρου αντιστοιχούν σχεδόν 1.95 gr αερίου για 100% συγκέντρωση. Τα 1800ppm συγκέντρωσης αερίου καταλαμβάνουν 3488mg/m³ όγκου και τα 1850ppm συγκέντρωσης αερίου καταλαμβάνουν όγκο 3585mg/m³

γ) Επίσης 1kg ξηρού πάγου αποδίδει 541 lit CO₂ και καταλαμβάνει 0,45m³ όγκου με αέριο CO₂.

δ) Για παράδειγμα κάθε φιαλίδιο που περιγράφηκε αντιστοιχεί:

12gr για 100% συγκέντρωση αερίου σε χώρο 6.11 lit

16gr για 100% συγκέντρωση αερίου σε χώρο 8,15 lit

25gr για 100% συγκέντρωση αερίου σε χώρο 12.73lit

550gr για 100% συγκέντρωση αερίου σε χώρο 305.55lit

Τα παρακάτω πειράματα πραγματοποιήθηκαν και παρουσιάζονται παρακάτω συνοπτικά :

1)Πειράματα προσδιορισμού πεπτικότητας προνυμφών και υπολογισμού μέσου βάρους τους.

Προνύμφες που εκτρέφονταν στα διάτρητα δοχεία πολυαιθυλενίου που περιγράφηκαν παραπάνω, χρησιμοποιήθηκαν κατά **δεκάδες** για να προσδιοριστεί η συνολική ποσότητα τροφής που καταναλώνουν ή αλλιώς πόση ζημιά προκαλούν στο κερί. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε ο παρακάτω τύπος για την εύρεση της κατανάλωσης τροφής. $\text{Πεπτικότητα} = \frac{[(\text{βάρους της τροφής που αφομοίωσαν οι προνύμφες} - \text{βάρους αποχωρημάτων}) / \text{βάρους της τροφής που αφομοιώθηκε}] \times 100$. Όλες οι μετρήσεις πεπτικότητας και μέσου βάρους έγιναν **στην τελευταία ηλικία** πριν τη νύμφωση με προσθήκη **50** γραμμαρίων μαύρου κεριού στα δοχεία. Όλες οι μετρήσεις έγιναν σε προνύμφες που απομονώθηκαν κατά δεκάδες και οι οποίες τράφηκαν με μαύρο κερί σε κομμάτια ή σε τρίμματα για καλύτερη παρατήρηση. Στο τέλος τοποθετήθηκαν σε ζυγό ακριβείας για προσδιορισμό του μέσου βάρους τους και στον ίδιο ζυγό μετρήθηκε και η πεπτικότητα.

2)Πειράματα προσδιορισμού ικανότητας ωτοκίας ακμαίων σε ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες.

Τα ακμαία τοποθετήθηκαν στα δοχεία ανά **10** αμέσως μετά την εκκόλαψη μαζί με μαύρα διαμορφωμένα **χαρτόνια** που διέθεταν εσοχές, τα οποία συλλέχθηκαν κόβοντας το χαρτόνι, καταμετρήθηκαν και διαχωρίστηκαν ανά **50** στο στερεοσκόπιο. Η χρήση τεχνητής τροφής επηρέασε αρνητικά την ωοπαραγωγή. Συνεπώς όλοι οι πληθυσμοί που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, τράφηκαν με μαύρη κηρήθρα ώστε να προσομοιωθούν οι συνθήκες όσο είναι εφικτό με τις πραγματικές και να μην επηρεαστεί το ωοπαραγωγικό δυναμικό. Τα ακμαία αφέθηκαν να ωτοκήσουν σε χαρτόνια εντός των πλαστικών δοχείων και σε τριβλία τροποποιημένα για καλύτερο αερισμό χωρίς την τοποθέτηση τροφής, με τα οποία να συλλέγονται κάθε ημέρα και να τοποθετούνται σε νέα τριβλία με φυσική τροφή για να αναπτυχθούν οι προνύμφες ώστε να χρησιμοποιηθούν στα υπόλοιπα πειράματα.

3)Πειράματα προσδιορισμού θνησιμότητας όλων των αναπτυξιακών σταδίων σε φυσιολογικές και υποξικές συνθήκες.

Όλα τα στάδια τοποθετήθηκαν σε όσο ήταν δυνατόν παρόμοιες συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας, εγκλωβισμένα στο ίδιο ακριβώς δοχείο των 3.7 λίτρων που χρησιμοποιήθηκε αργότερα για εισαγωγή CO₂ και καταγράφηκε ο χρόνος βιωσιμότητάς τους. Τα **ωά** συλλέχθηκαν με τον τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω τοποθετήθηκαν εντός των δοχείων πολυαιθυλενίου με τον καταγραφέα επιπέδων διοξειδίου του άνθρακα εντός. Απο όσα **ωά** εκκολάφθηκαν προνύμφες συλλέχθηκαν και στη συνέχεια μετρήθηκαν για να προσδιοριστεί η βιωσιμότητα. Οι **προνύμφες** τοποθετήθηκαν κατά δεκάδες

στα δοχεία και όσες επιβίωσαν και στη συνέχεια συνέχισαν να καταναλώνουν τροφή, θεωρήθηκαν έμβιες. Οι **νύμφες** τοποθετήθηκαν σε μεγάλους αριθμούς αρχικά στο μάρτυρα αφού συλλέχθηκαν από τα δοχεία εκτροφής προνυμφών για να βρεθεί το ανώτατο όριο διαβίωσης. Στη συνέχεια απομακρύνθηκαν ανά 7 ημέρες τοποθετήθηκαν σε δοχεία και τριβλία και εξελίχθηκαν κανονικά όσες ήταν ακόμα ζωντανές. Συνεπώς όσες δεν εξελίχθηκαν παρέμειναν ικανό χρόνο στο μάρτυρα που τις θανάτωσε λόγω έλλειψης οξυγόνου. Από τις 21 ημέρες τα πειράματα συνέχισαν μειούμενα έως το κατώτατο όριο των 15 ημερών θνησιμότητας σε ίδια δοχεία που τοποθετούνταν συνεχώς 10 νύμφες παράλληλα στις ίδιες συνθήκες. Οι ημέρες διαβίωσης των νυμφών προσδιορίστηκαν όπως και στις προηγούμενες μετρήσεις. Ο χρόνος θνησιμότητας τοποθετείται μεταξύ 10 και 16 ημερών προσπαθώντας όσο είναι δυνατόν να πετύχουμε υποξικές συνθήκες σε σάκους και τα δοχεία με τη βαλβίδα αφαίρεσης αέρα.

Τα ακμαία πάντα τοποθετούνταν σε ξεχωριστό δοχείο για τον αποκλεισμό της πιθανότητας να ωοτοκήσουν και να αλλοιώσουν τα δεδομένα του πειράματος σε σχέση με τα ωά και τις προνύμφες. Σε όλες τις εφαρμογές χρησιμοποιήθηκε ο ίδιος μάρτυρας χωρίς τροποποίηση για εισαγωγή αερίου και απλά κρατήθηκε κλειστός χωρίς αερισμό.

Όλα τα αναπτυξιακά στάδια διαδοχικά τοποθετήθηκαν στα δοχεία και τους σάκους πολυαιθυλενίου που περιγράφηκαν. Ο αέρας αφαιρέθηκε με αντλία όσο ήταν δυνατόν στα δοχεία των υποξικών συνθηκών και καταγράφηκε η θνησιμότητά σε όλα τα στάδια κατά περίπτωση. Ακόμη χρησιμοποιήθηκε ο παρόμοιος τρόπος καταμέτρησης της συγκέντρωσης αερίου και προσδιορισμός πιθανών διαρροών με επιτραπέζιους μετρητές ποιότητας αέρα.

4) Πειράματα συσχετισμού ελάχιστης συγκέντρωσης CO₂ και χρόνου επίτευξης ποσοστών αναισθησίας προνυμφών και ακμαίων.

Η νάρκωση είναι μια εξαιρετική μέθοδος για τη φυσιολογική ανάλυση οργανισμών, όπως τονίστηκε για πρώτη φορά από τον Claude Bernard (1875). Φαίνεται ότι το CO₂ ασκεί αναισθητικό αποτέλεσμα απευθείας στο νευρικό σύστημα μέσω της τραχείας και όχι μέσω της αιμολέμφου. Αναφέρεται πως το καθαρό διοξείδιο του άνθρακα έχει ανασταλτικό αποτέλεσμα στις συνάψεις του νευρικού συστήματος, ενώ μια μικρότερη συγκέντρωση (15%) έχει διεγερτική δράση. Λέγεται ακόμη ότι προκαλεί αποπόλωση των νευρώνων (www.Europa.CO2.report).

Αν και δεν εντοπίσαμε ένα καθολικά αποδεκτό ορισμό της αναισθησίας χαμηλής ροής, σίγουρα αναφέρουμε πως προϋποθέτει ροή αερίων μεγαλύτερη από τον ανά λεπτό φυσικό αερισμό του οργανισμού που εκτίθεται. Ο ρυθμός ροής εκφράζεται σε L.sec⁻¹ και όταν οι προνύμφες και τα

ακμαία είναι αναισθητοποιημένα, διαπιστώθηκε πως δεν ανταποκρίνονται στη μηχανική διέγερση, συνεπώς είναι πλήρως διαχειρίσιμα μέχρι να παρέλθει ο χρόνος ανάνηψης. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στα δοχεία πολυαιθυλενίου των **3.76 l** που περιγράφηκαν στα υλικά. Μετά την εφαρμογή πιλοτικών δοκιμών επιλέχθηκε η χρήση ακμαίων και προνυμφών κατά **δεκάδες** για πραγματοποίηση περισσότερων δοκιμών και μεγαλύτερη ευελιξία. Ο χρόνος ανάνηψης καταμετρήθηκε με τη χρήση ψηφιακού χρονομέτρου μόλις διαπιστωθηκε κινητικότητα των εντόμων. Χρησιμοποιήθηκε ο ίδιος τρόπος καταμέτρησης της συγκέντρωσης αερίου και προσδιορισμός πιθανών διαρροών με επιτραπέζιους μετρητές ποιότητας αέρα.

5) Πειράματα συσχετισμού ελάχιστης δόσης CO₂ και διαφόρων επιπέδων θνησιμότητας όλων των αναπτυξιακών σταδίων του κηρόσκορου.

Πραγματοποιήθηκαν πιλοτικά πειράματα για την πρόβλεψη της θνησιμότητας όλων των σταδίων ανάπτυξης του μεγάλου κηρόσκορου που εκτέθηκαν σε συνθήκες μεταβαλλόμενης συγκέντρωσης CO₂ και θερμοκρασίες από **20-29°C**. Όλα τα στάδια ανάπτυξης εκτέθηκαν στις διάφορες συγκεντρώσεις που περιγράφονται παρακάτω και μετρήθηκε η θνησιμότητα σε σχέση με το χρόνο. Τα τριβλία ελέγχονταν σχεδόν καθημερινά για να μετρήσουμε τις εκκολαφθείσες προνύμφες. Τα ωά από τα οποία δεν εκκολάφθηκαν προνύμφες έως και μετά από **8** ημέρες, θεωρήθηκαν νεκρά. Τα ωά τοποθετήθηκαν κατά **εκατοντάδες** ώστε να υπάρχει ευελιξία και όσο το δυνατόν καλύτερη καταμέτρηση. Τοποθετήθηκαν σε τριβλία Petri ελέγχθηκαν καθημερινά για εκκολαφθείσες προνύμφες, οι οποίες αφαιρέθηκαν και μετρήθηκαν. Οι προνύμφες τοποθετήθηκαν κατά δεκάδες στα ίδια δοχεία και μετρήθηκε η επιβίωση. Κατά δεκάδες τοποθετήθηκαν και οι νύμφες που μετά την εφαρμογή τοποθετούνταν σε τριβλία και όσες μετά από 14 ημέρες δεν εξελίσσονταν σε ακμαία θεωρούνταν νεκρές. Ακόμη τα ακμαία τοποθετήθηκαν κατά δεκάδες με την ίδια μεθοδολογία. Βαρύτητα δόθηκε στον προσδιορισμό της ελάχιστης δόσης και χρόνου παραμονής για επίτευξη θνησιμότητας 100% καθώς είναι το ζητούμενο για ρεαλιστική εφαρμογή της μεθόδου στη μελισσοκομία. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στα δοχεία πολυαιθυλενίου, στους σάκους και σε κωνικές φιάλες με τη χρήση διοξειδίου του άνθρακος σε αέρια και στερεή μορφή (ξηρός πάγος). Χρησιμοποιήθηκε ο ίδιος τρόπος καταμέτρησης της συγκέντρωσης αερίου και προσδιορισμός πιθανών διαρροών με επιτραπέζιους μετρητές ποιότητας αέρα.

6) Πειράματα προσδιορισμού της επίδρασης υποθανάτιων συγκεντρώσεων CO₂ στο χρόνο επώασης των ωών μετά την επέμβαση.

Ωά που εκτέθηκαν σε υποθανάτιες συγκεντρώσεις στο ίδιο χρονικό διάστημα που απαιτείται για τη θανάτωσή τους, τοποθετήθηκαν σε τριβλία με φυσική τροφή για να διαπιστώσουμε τον επηρεασμό του χρόνου επώασης λόγω έκθεσης στο CO₂. Ο χρόνος επηρεασμού προσδιορίστηκε αμέσως μετά, με την εκκόλαψη των πρώτων προνυμφών υπολογίζοντας το μέσο όρο ημερών που χρειάστηκαν. Χρησιμοποιήθηκε ο ίδιος τρόπος καταμέτρησης της συγκέντρωσης αερίου και προσδιορισμός πιθανών διαρροών με επιτραπέζιους μετρητές ποιότητας αέρα στην πρώτη φάση των πειραμάτων.

Αξίζει να αναφερθεί επίσης πως έγινε χρήση εφάπαξ εφαρμογών αερίου για **1 sec** αλλά και συνεχούς ροής όσο χρειαζόταν για την επίτευξη επιθυμητής συγκέντρωσης για πλήρη έλεγχο. Ακόμη δοκιμάστηκε συνεχόμενη για έως και **4 ώρες** ροή αερίου για να διερευνήσουμε τυχόν πρόσθετες επιδράσεις με την συνεχή επαφή αλλά και τη ρεαλιστικότερη επίτευξη της **100%** συγκέντρωσης αερίου που αναφέρεται σε άλλες εργασίες. Αναφέρουμε πως σε όλα τα παραπάνω πειράματα η εφαρμογή του αερίου έγινε με το σύστημα της **φιάλης**, με το σύστημα της **αμπούλας** αλλά και με τη χρήση **ξηρού πάγου**.

Οι παρακάτω μετρήσεις που αφορούν την πεπτικότητα, την ωοτοκία, την αντοχή των διαφόρων σταδίων σε περιβάλλον χωρίς ανταλλαγή αερίων και τη θνησιμότητα στο αέριο, επιλέχθηκε τελικά να γίνουν στα δοχεία των **3,76** λίτρων και σε σάκους πολυαιθυλενίου χωρίς βαλβίδα εξαγωγής αέρα. Οι μετρήσεις για την επίδραση των υποξικών συνθηκών σε όλα τα στάδια έγιναν σε κουτιά σκληρού πολυαιθυλενίου των **4,5** και **2** λίτρων με βαλβίδα εξαγωγής αέρα.

Οι μετρήσεις μέσου όρου υγρασίας πάρθηκαν απευθείας από το μετρητή και έγινε επεξεργασία στον υπολογιστή μέσω του προγράμματος που τον συνοδεύει. Η θερμοκρασία έγινε προσπάθεια να κρατηθεί σταθερή για να ικανοποιήσει τις θερμικές απαιτήσεις όλων των σταδίων, καθώς για τα ακμαία η ιδανική θερμοκρασία ωοτοκίας φάνηκε πως ήταν οι **29 °C**. Έτσι ήταν δυνατό να πραγματοποιηθούν αλληπάλληλα πειράματα στον ίδιο χώρο σε διάφορα στάδια ανάπτυξης ταυτοχρόνως και σημαντική εξοικονόμηση χρόνου.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πίνακας 4. Πεπτικότητα και αντίστοιχο μέσο τελικό βάρος προνυμφών στην τελευταία ηλικία.

| A/A Επανάληψης | Αριθμός προνυμφών | Θερμοκρασία °C | Υγρασία % | Μέσο Βάρος mg/ προνύμφη | Μέση κατανάλωση κεριούgr/προνύμφη |
|----------------|-------------------|----------------|--------------|-------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 10 | 28 | 63,3 | 360 | 1,38 |
| 2 | 10 | 28 | 63,6 | 262 | 1,31 |
| 3 | 10 | 28 | 64,1 | 257 | 1,30 |
| 4 | 10 | 28 | 64,4 | 245 | 1,28 |
| 5 | 10 | 28 | 64,4 | 241 | 1,26 |
| 6 | 10 | 28 | 64,3 | 240 | 1,24 |
| 7 | 10 | 28 | 64,2 | 238 | 1,26 |
| 8 | 10 | 28 | 64 | 335 | 1,28 |
| 9 | 10 | 28 | 63,8 | 331 | 1,29 |
| 10 | 10 | 28 | 63,7 | 349 | 1,22 |
| 11 | 10 | 28 | 63,7 | 282 | 1,25 |
| 12 | 10 | 28 | 63,6 | 244 | 1,26 |
| 13 | 10 | 28 | 63,5 | 295 | 1,28 |
| 14 | 10 | 28 | 63,3 | 321 | 1,28 |
| 15 | 10 | 28 | 63,6 | 318 | 1,33 |
| 16 | 10 | 28 | 64,1 | 314 | 1,24 |
| 17 | 10 | 28 | 64,4 | 311 | 1,31 |
| 18 | 10 | 28 | 64,4 | 308 | 1,28 |
| 19 | 10 | 28 | 64,3 | 304 | 1,28 |
| 20 | 10 | 28 | 64,2 | 301 | 1,26 |
| M.O. | | | 63,95 | 292,8 | 1,295 |

Σημείωση: Σύμφωνα με τα αποτελέσματα από την κατανάλωση τροφής των προνυμφών υπολογίστηκε πως **12-16** προνύμφες κατά μέσο όρο αρκούν για να καταστρέψουν μια κηρήθρα αναλόγως ίσως των συνθηκών που επικρατούν και προφανώς τις ωθεί να καταναλώνουν περισσότερη τροφή.

Πίνακας 5. Ωοτοκία ακμαίων

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός ακμαίων | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | Αριθμός ωών | Ημέρες επώασης |
|-----------------|-----------------|---------------|--------------|--------------|----------------|
| 1 | 10 | 28 | 60,5 | 482 | 8 |
| 2 | 10 | 28 | 61,3 | 443 | 7 |
| 3 | 10 | 28 | 65,6 | 525 | 7 |
| 4 | 10 | 28 | 63,4 | 362 | 6 |
| 5 | 10 | 28 | 66,7 | 528 | 8 |
| 6 | 10 | 28 | 60,2 | 424 | 7 |
| 7 | 10 | 28 | 61,2 | 407 | 8 |
| 8 | 10 | 28 | 62,4 | 345 | 7 |
| 9 | 10 | 28 | 63,4 | 446 | 6 |
| 10 | 10 | 28 | 62,6 | 312 | 8 |
| 11 | 10 | 28 | 62,8 | 290 | 8 |
| 12 | 10 | 28 | 62,5 | 682 | 7 |
| 13 | 10 | 28 | 62,4 | 605 | 6 |
| 14 | 10 | 28 | 62,1 | 588 | 8 |
| 15 | 10 | 28 | 61,4 | 420 | 7 |
| 16 | 10 | 28 | 60,9 | 445 | 6 |
| 17 | 10 | 28 | 60,5 | 508 | 7 |
| 18 | 10 | 28 | 61,2 | 469 | 8 |
| 19 | 10 | 28 | 61,8 | 526 | 8 |
| 20 | 10 | 28 | 62,7 | 591 | 7 |
| M.O. | | | 62,28 | 469,9 | 7,2 |

Πίνακας 6. Βιωσιμότητα ωών στο μάρτυρα, σε φυσιολογικές συνθήκες.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός αυγών | Συγκέντρωση CO2 (ppm) | CO2% | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | % Εκκόλαψη προνυμφών |
|-----------------|---------------|-----------------------|-------------|---------------|--------------|----------------------|
| 1 | 100 | 411 | 21 | 28 | 65,3 | 80 |
| 2 | 100 | 450 | 23 | 28 | 63,2 | 78 |
| 3 | 100 | 480 | 24,6 | 28 | 66,7 | 75 |
| 4 | 100 | 423 | 21,6 | 28 | 64,3 | 69 |
| 5 | 100 | 425 | 21,7 | 28 | 60,2 | 44 |
| 6 | 100 | 485 | 24,8 | 28 | 63,5 | 89 |
| 7 | 100 | 490 | 25,1 | 28 | 67,3 | 92 |
| 8 | 100 | 452 | 23,1 | 28 | 62,8 | 55 |
| 9 | 100 | 472 | 24,2 | 28 | 61,3 | 79 |
| 10 | 100 | 467 | 23,9 | 28 | 66,8 | 84 |
| M.O. | | 455,5 | 23,3 | | 64,14 | 74,5 |

Σημείωση: Οι προνύμφες που εκκολάφθηκαν επιτυχώς, κατανάλωσαν ελάχιστη ποσότητα κεριού αλλά καμία δεν μπόρεσε να ολοκληρώσει τον βιολογικό της κύκλο εντός μάρτυρα. Ο χρόνος επώασης δεν διαφοροποιήθηκε σημαντικά στο μάρτυρα.

Πίνακας 7. Βιωσιμότητα προνυμφών διαφόρων ηλικιών σε φυσιολογικές συνθήκες, παρουσία τροφής.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός προνυμφών | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | Διαβίωση σε ημέρες |
|-----------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|---------------|--------------|--------------------|
| 1 | 10 | 404 | 20,7 | 28 | 60,5 | 18 |
| 2 | 10 | 407 | 20,8 | 28 | 60,3 | 18 |
| 3 | 10 | 416 | 21,3 | 28 | 60,9 | 19 |
| 4 | 10 | 445 | 22,8 | 28 | 60,2 | 21 |
| 5 | 10 | 412 | 21,1 | 28 | 61,4 | 17 |
| 6 | 10 | 456 | 23,3 | 28 | 61,7 | 16 |
| 7 | 10 | 457 | 23,4 | 28 | 61,3 | 18 |
| 8 | 10 | 432 | 22,1 | 28 | 61,8 | 19 |
| 9 | 10 | 455 | 23,3 | 28 | 61,9 | 20 |
| 10 | 10 | 476 | 24,4 | 28 | 62,4 | 19 |
| 11 | 10 | 489 | 25 | 28 | 63,5 | 18 |
| 12 | 10 | 482 | 24,7 | 28 | 63,1 | 16 |
| 13 | 10 | 437 | 22,4 | 28 | 63,8 | 22 |
| 14 | 10 | 421 | 21,5 | 28 | 62,3 | 25 |
| 15 | 10 | 435 | 22,3 | 28 | 62,1 | 18 |
| 16 | 10 | 438 | 22,4 | 28 | 61,6 | 20 |
| 17 | 10 | 472 | 24,2 | 28 | 61,7 | 25 |
| 18 | 10 | 493 | 25,2 | 28 | 61,2 | 19 |
| 19 | 10 | 426 | 21,8 | 28 | 62,3 | 18 |
| 20 | 10 | 428 | 21,9 | 28 | 62,1 | 19 |
| M.O. | | 444,05 | 22,73 | | 61,82 | 19,25 |

Σημείωση: Οι προνύμφες κατά την τοποθέτηση τους στο μάρτυρα χωρίς ανταλλαγή αερίων παρουσία τροφής ,πρώτα ζημίωσαν το κεριό που ήταν τοποθετημένο, μετά προσπάθησαν να νυμφωθούν και όλες πέθαναν ως προνύμφες ή νύμφες χωρίς καμία να εξελιχθεί σε ακμαίο.

Πίνακας 8. Βιωσιμότητα νυμφών σε φυσιολογικές συνθήκες.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός νυμφών | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | Διαβίωση σε ημέρες |
|-----------------|----------------|-----------------------------------|-------------------|---------------|--------------|--------------------|
| 1 | 10 | 414 | 21 | 28 | 60,8 | 18 |
| 2 | 10 | 409 | 21 | 28 | 61,3 | 16 |
| 3 | 10 | 418 | 21 | 28 | 62,5 | 18 |
| 4 | 10 | 421 | 22 | 28 | 61,5 | 21 |
| 5 | 10 | 418 | 21 | 28 | 61,9 | 20 |
| 6 | 10 | 432 | 22 | 28 | 61,3 | 21 |
| 7 | 10 | 428 | 22 | 28 | 61,1 | 20 |
| 8 | 10 | 439 | 22 | 28 | 62,7 | 16 |
| 9 | 10 | 451 | 23 | 28 | 61,7 | 17 |
| 10 | 10 | 446 | 23 | 28 | 62,5 | 18 |
| 11 | 10 | 439 | 22 | 28 | 63,7 | 21 |
| 12 | 10 | 432 | 22 | 28 | 63,4 | 19 |
| 13 | 10 | 435 | 22 | 28 | 63,2 | 16 |
| 14 | 10 | 428 | 21 | 28 | 63,7 | 17 |
| 15 | 10 | 439 | 22 | 28 | 62,6 | 18 |
| 16 | 10 | 433 | 22 | 28 | 61,9 | 20 |
| 17 | 10 | 460 | 23 | 28 | 61,7 | 15 |
| 18 | 10 | 451 | 23 | 28 | 61,3 | 16 |
| 19 | 10 | 448 | 23 | 28 | 62,5 | 19 |
| 20 | 10 | 434 | 22 | 28 | 62,8 | 20 |
| M.O. | | 433,75 | 22 | | 62,21 | 18,3 |

Πίνακας 9. Βιωσιμότητα ακμαίων σε φυσιολογικές συνθήκες.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός ακμαίων | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | Διαβίωση σε ημέρες |
|-----------------|-----------------|-----------------------------------|-------------------|---------------|--------------|--------------------|
| 1 | 10 | 424 | 21,7 | 28 | 60,1 | 11 |
| 2 | 10 | 412 | 21,1 | 28 | 60,7 | 11 |
| 3 | 10 | 418 | 21,4 | 28 | 60,2 | 12 |
| 4 | 10 | 442 | 22,6 | 28 | 60,6 | 10 |
| 5 | 10 | 419 | 21,4 | 28 | 61,2 | 11 |
| 6 | 10 | 436 | 22,3 | 28 | 62,4 | 12 |
| 7 | 10 | 447 | 22,9 | 28 | 61,9 | 11 |
| 8 | 10 | 415 | 21,2 | 28 | 61,1 | 11 |
| 9 | 10 | 428 | 21,9 | 28 | 61,6 | 11 |
| 10 | 10 | 453 | 23,2 | 28 | 62,1 | 12 |
| 11 | 10 | 451 | 23,1 | 28 | 63,7 | 10 |
| 12 | 10 | 419 | 21,4 | 28 | 63,9 | 10 |
| 13 | 10 | 434 | 22,2 | 28 | 63,1 | 11 |
| 14 | 10 | 428 | 21,9 | 28 | 62,2 | 10 |
| 15 | 10 | 431 | 22,1 | 28 | 62,4 | 12 |
| 16 | 10 | 434 | 22,2 | 28 | 61,8 | 12 |
| 17 | 10 | 477 | 24,4 | 28 | 61,1 | 11 |
| 18 | 10 | 491 | 25,1 | 28 | 61,9 | 10 |
| 19 | 10 | 423 | 21,6 | 28 | 62,9 | 9 |
| 20 | 10 | 422 | 21,6 | 28 | 62,2 | 10 |
| M.O. | | 435,2 | 22,27 | | 61,86 | 10,85 |

Σημείωση. Οι κηρήθρες που τοποθετήθηκαν καταστράφηκαν από μύκητες όταν παρέμειναν για μεγάλο διάστημα στα δοχεία ή τους σάκους. Επίσης τελικά κανένα ακμαίο δεν ωτόκησε και δεν παρατηρήθηκε προσπάθεια σύζευξης εντός μαρτύρων καθώς όλα τα έντομα παρέμειναν σχεδόν ακίνητα.

Πίνακας 10. Βιωσιμότητα ωών σε υποξικές συνθήκες.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός αυγών | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | % Εκκόλαψη προνυμφών |
|-----------------|---------------|-----------------------------------|-------------------|---------------|--------------|----------------------|
| 1 | 100 | 190 | 8,14 | 28 | 61,2 | 45 |
| 2 | 100 | 202 | 8,65 | 28 | 61,8 | 52 |
| 3 | 100 | 210 | 9 | 28 | 60,9 | 32 |
| 4 | 100 | 207 | 8,87 | 28 | 60,2 | 46 |
| 5 | 100 | 209 | 8,9 | 28 | 61,7 | 39 |
| 6 | 100 | 216 | 9,25 | 28 | 61,9 | 55 |
| 7 | 100 | 221 | 9,47 | 28 | 61,6 | 38 |
| 8 | 100 | 218 | 9,34 | 28 | 61,1 | 52 |
| 9 | 100 | 215 | 9,21 | 28 | 60,9 | 57 |
| 10 | 100 | 217 | 9,3 | 28 | 62,4 | 48 |
| M.O. | | 210,5 | 9,013 | | 61,37 | 46,4 |

Σημείωση: Καμία προνύμφη δεν θανατώθηκε μετά τη γέννηση και όλες μεγάλωσαν φυσιολογικά. Ο χρόνος επώασης δεν διαφοροποιήθηκε σε σχέση με τις προηγούμενες δοκιμές.

Πίνακας 11. Βιωσιμότητα προνυμφών σε υποξικές συνθήκες.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός προνυμφών | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | Διαβίωση προνυμφών σε ημέρες |
|-----------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|---------------|--------------|------------------------------|
| 1 | 10 | 182 | 7,8 | 28 | 61,4 | 12 |
| 2 | 10 | 195 | 8,3 | 28 | 61,9 | 11 |
| 3 | 10 | 201 | 8,6 | 28 | 60,1 | 13 |
| 4 | 10 | 205 | 8,7 | 28 | 60,6 | 11 |
| 5 | 10 | 210 | 9 | 28 | 61,1 | 14 |
| 6 | 10 | 212 | 9 | 28 | 61,8 | 11 |
| 7 | 10 | 211 | 9 | 28 | 61,2 | 11 |
| 8 | 10 | 198 | 8,4 | 28 | 61,3 | 10 |
| 9 | 10 | 208 | 8,9 | 28 | 60,8 | 11 |
| 10 | 10 | 211 | 9 | 28 | 62,1 | 12 |
| M.O. | | 203,3 | 8,67 | | 61,23 | 11,6 |

Σημείωση: Οι προνύμφες που τοποθετήθηκαν αφού ζημίωσαν το κερύ, έμειναν αδρανείς και θανατώθηκαν στη συνέχεια από τις υποξικές συνθήκες στο μέσο όρο ημερών που αναγράφονται. Σημειώνεται πως καμία δεν νυμφώθηκε επιτυχώς.

Πίνακας 12. Βιωσιμότητα νυμφών σε υποξικές συνθήκες .

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός νυμφών | Συγκέντρωση CO2 (ppm) | CO2% | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | Διαβίωση νυμφών σε ημέρες |
|-----------------|----------------|-----------------------|-------------|---------------|--------------|---------------------------|
| 1 | 10 | 188 | 8 | 28 | 61,6 | 12 |
| 2 | 10 | 205 | 8,7 | 28 | 61,1 | 11 |
| 3 | 10 | 201 | 8,6 | 28 | 61,3 | 14 |
| 4 | 10 | 211 | 9 | 28 | 61,7 | 16 |
| 5 | 10 | 214 | 9 | 28 | 61,4 | 10 |
| 6 | 10 | 217 | 9,3 | 28 | 61,1 | 11 |
| 7 | 10 | 208 | 8,9 | 28 | 61,4 | 14 |
| 8 | 10 | 199 | 8,5 | 28 | 61,2 | 13 |
| 9 | 10 | 205 | 8,7 | 28 | 60,4 | 14 |
| 10 | 10 | 218 | 9,3 | 28 | 62,4 | 10 |
| M.O. | | 206,6 | 8,75 | | 61,36 | 12,5 |

Σημείωση: Τα αποτελέσματα αφορούν το 100% των νυμφών καθώς στα χρονικά όρια που αναφέρονται καμία δεν εξελίχθηκε σε ακμαίο.

Πίνακας 13. Βιωσιμότητα ακμαίων σε υποξικές συνθήκες.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός ακμαίων | Συγκέντρωση CO2 (ppm) | CO2% | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | Διαβίωση ακμαίων σε ημέρες |
|-----------------|-----------------|-----------------------|-------------|---------------|--------------|----------------------------|
| 1 | 10 | 184 | 7,8 | 28 | 60,6 | 6 |
| 2 | 10 | 192 | 8,2 | 28 | 61,6 | 8 |
| 3 | 10 | 203 | 8,7 | 28 | 60,8 | 7 |
| 4 | 10 | 198 | 8,4 | 28 | 61,2 | 7 |
| 5 | 10 | 202 | 8,6 | 28 | 61,6 | 8 |
| 6 | 10 | 210 | 9 | 28 | 61,3 | 7 |
| 7 | 10 | 208 | 8,9 | 28 | 61,1 | 7 |
| 8 | 10 | 215 | 9,2 | 28 | 61,7 | 8 |
| 9 | 10 | 203 | 8,7 | 28 | 60,8 | 8 |
| 10 | 10 | 213 | 9,1 | 28 | 62,1 | 8 |
| M.O. | | 202,8 | 8,66 | | 61,28 | 7,4 |

Σημείωση : Στα ακμαία όπως και στις προνύμφες λόγω δυνατότητας και εξωτερικής παρατήρησης συμπεριφοράς ήταν πολύ ευκολότερο να γίνει προσδιορισμός της θνησιμότητας. Τελικά κανένα από τα ακμαία δεν ωτόκησε ούτε συζεύχθηκε σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου.

Πίνακας 14. Αναισθησία προνυμφών με εισαγωγή CO₂.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός προνυμφών | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία °C | Υγρασία% | Ελάχιστος Χρόνος παραμονής sec | Μέσος Χρόνος ανάνηψης min |
|-----------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|----------------|--------------|--------------------------------|---------------------------|
| 1 | 100 | 980 | 50 | 28 | 61,6 | 116 | - |
| 2 | 100 | 1050 | 53 | 28 | 61,0 | 116 | - |
| 3 | 100 | 1100 | 56 | 28 | 61,3 | 116 | - |
| 4 | 100 | 1150 | 58 | 28 | 62,8 | 116 | - |
| 5 | 100 | 1200 | 61 | 28 | 62,7 | 116 | - |
| 6 | 100 | 1250 | 64 | 28 | 62,9 | 116 | - |
| 7 | 100 | 1300 | 67 | 28 | 62,8 | 116 | - |
| 8 | 100 | 1350 | 69 | 28 | 61,2 | 116 | - |
| 9 | 100 | 1400 | 71 | 28 | 62,6 | 116 | - |
| 10 | 100 | 1450 | 74 | 28 | 63,3 | 116 | - |
| 11 | 100 | 1500 | 77 | 28 | 63,8 | 116 | - |
| 12 | 100 | 1550 | 79 | 28 | 63,2 | 116 | - |
| 13 | 100 | 1600 | 82 | 28 | 63,3 | 116 | - |
| 14 | 100 | 1650 | 84 | 28 | 63,5 | 116 | - |
| 15 | 100 | 1700 | 87 | 28 | 62,4 | 116 | - |
| 16 | 100 | 1750 | 90 | 28 | 62,7 | 116 | 2,8 |
| 17 | 100 | 1800 | 92 | 28 | 62,2 | 116 | 3,6 |
| 18 | 100 | 1850 | 95 | 28 | 62,8 | 116 | 4,9 |
| 19 | 100 | 1900 | 97 | 28 | 62,6 | 116 | 5,4 |
| 20 | 100 | 1950 | 100 | 28 | 62,1 | 116 | 8,2 |
| M.O. | | 1474 | 75 | | 62,54 | | 4,98 |

Σημείωση : Σε συγκεντρώσεις έως 1700 ppm ,οι προνύμφες νυμφώνονται καταναγκαστικά αν τα καταφέρουν εντός του δοχείου χωρίς διέξοδο και διαθέσιμη τροφή. Όταν οι ίδιες συγκεντρώσεις χρησιμοποιήθηκαν στους σάκκους οι προνύμφες τρύπησαν το πολυαιθυλένιο και διέφυγαν αγνοώντας την τροφή. Επίσης έγιναν δοκιμές έως το ανώτατο όριο χρόνου στις ίδιες συγκεντρώσεις που μπορούν να παραμείνουν οι προνύμφες στο μάρτυρα χωρίς να θανατωθούν και τα αποτελέσματα έδειξαν παρόμοιους χρόνους ανάνηψης.

Πίνακας 15. Αναισθησία ακμαίων με εισαγωγή CO₂.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός ακμαίων | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία °C | Υγρασία % | Ελάχιστος Χρόνος παραμονής sec | Μέσος Χρόνος ανάνηψης min |
|-----------------|-----------------|-----------------------------------|-------------------|----------------|-------------|--------------------------------|---------------------------|
| 1 | 10 | 980 | 50 | 28 | 61,3 | 45 | - |
| 2 | 10 | 1050 | 53 | 28 | 61,0 | 45 | - |
| 3 | 10 | 1100 | 56 | 28 | 61,5 | 45 | - |
| 4 | 10 | 1150 | 58 | 28 | 62,2 | 45 | - |
| 5 | 10 | 1200 | 61 | 28 | 62,1 | 45 | - |
| 6 | 10 | 1250 | 64 | 28 | 62,9 | 45 | - |
| 7 | 10 | 1300 | 67 | 28 | 62,5 | 45 | - |
| 8 | 10 | 1350 | 69 | 28 | 62,4 | 45 | - |
| 9 | 10 | 1400 | 71 | 28 | 62,3 | 45 | - |
| 10 | 10 | 1450 | 74 | 28 | 63,2 | 45 | - |
| 11 | 10 | 1500 | 77 | 28 | 63,1 | 45 | - |
| 12 | 10 | 1550 | 79 | 28 | 63,9 | 45 | - |
| 13 | 10 | 1600 | 82 | 28 | 63,7 | 45 | 2,5 |
| 14 | 10 | 1650 | 84 | 28 | 63,2 | 45 | 2,8 |
| 15 | 10 | 1700 | 87 | 28 | 63,4 | 45 | 3,5 |
| 16 | 10 | 1750 | 90 | 28 | 63,3 | 45 | 4,6 |
| 17 | 10 | 1800 | 92 | 28 | 62,1 | 45 | 5,1 |
| 18 | 10 | 1850 | 95 | 28 | 62,9 | 45 | 5,9 |
| 19 | 10 | 1900 | 97 | 28 | 62,7 | 45 | 6,8 |
| 20 | 10 | 1950 | 100 | 28 | 62,3 | 45 | 6,3 |
| M.O. | | 1474 | 75,3 | | 62,6 | | 4,69 |

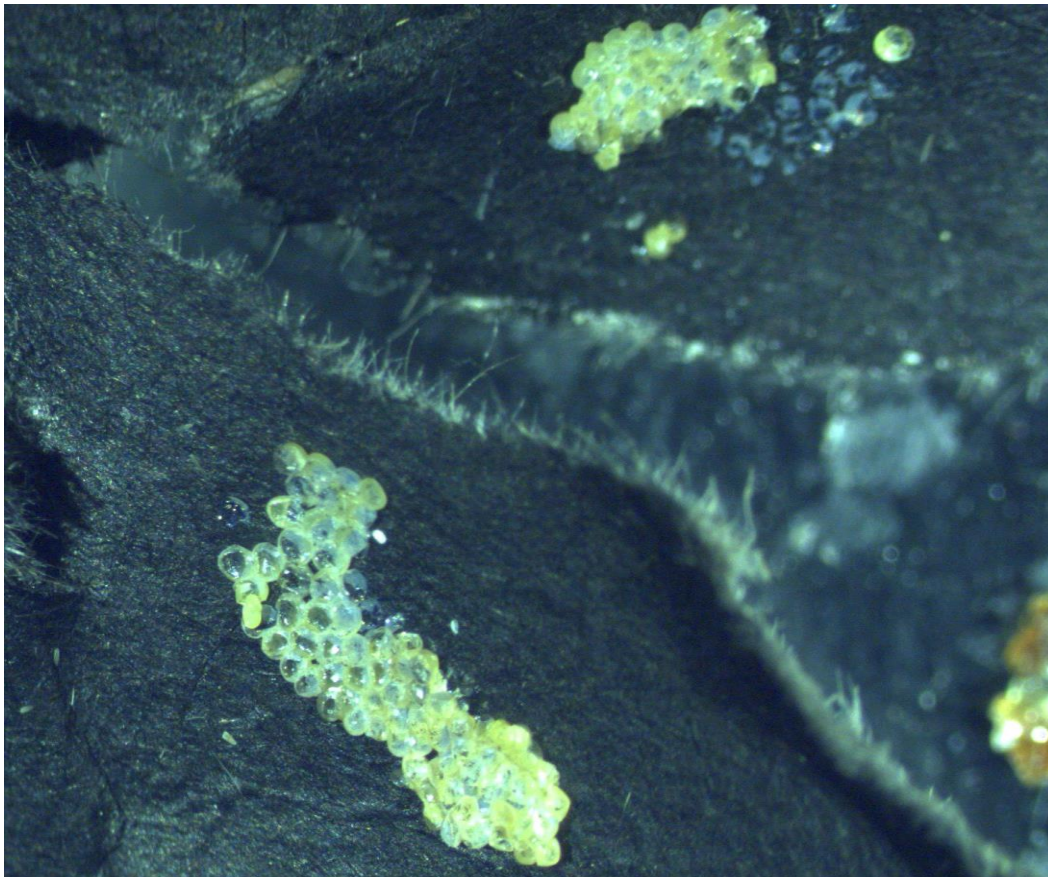
Σημείωση: Παρατηρήθηκε υπερκινητικότητα που ξεκίνησε στην συγκέντρωση των 1500ppm στα ακμαία και η αναισθησία άρχισε από την συγκέντρωση 1600 ppm. Ο χρόνος ανάνηψης δεν επηρεάστηκε σημαντικά μέσα στα όρια των συγκεντρώσεων αναισθησίας παρατείνοντας το χρόνο παραμονής έως του ορίου θνησιμότητας, που ξεκινά μετά την παραμονή για διάστημα μεγαλύτερο των **3 ωρών** για τα ακμαία.

Πίνακας 16. Βιωσιμότητα ωών με εισαγωγή CO₂ .

| Α/Α. Επανάληψης | Αριθμός αυγών | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | Ελάχιστος Χρόνος παραμονής (ημέρες) | Εκκόλαψη προνυμφών % |
|-----------------|---------------|-----------------------------------|-------------------|---------------|--------------|-------------------------------------|----------------------|
| 1 | 100 | 980 | 50 | 28 | 60,8 | 11 | 98 |
| 2 | 100 | 1050 | 53 | 28 | 61,1 | 11 | 96 |
| 3 | 100 | 1100 | 56 | 28 | 61,4 | 11 | 92 |
| 4 | 100 | 1150 | 58 | 28 | 61,6 | 11 | 93 |
| 5 | 100 | 1200 | 61 | 28 | 60,9 | 11 | 95 |
| 6 | 100 | 1250 | 64 | 28 | 60,4 | 11 | 92 |
| 7 | 100 | 1300 | 67 | 28 | 60,1 | 11 | 94 |
| 8 | 100 | 1350 | 69 | 28 | 61,4 | 11 | 90 |
| 9 | 100 | 1400 | 71 | 28 | 61,7 | 11 | 93 |
| 10 | 100 | 1450 | 74 | 28 | 61,6 | 11 | 94 |
| 11 | 100 | 1500 | 77 | 28 | 61,9 | 11 | 88 |
| 12 | 100 | 1550 | 79 | 28 | 61,3 | 11 | 85 |
| 13 | 100 | 1600 | 82 | 28 | 61,2 | 11 | 82 |
| 14 | 100 | 1650 | 84 | 28 | 61,5 | 11 | 82 |
| 15 | 100 | 1700 | 87 | 28 | 60,8 | 11 | 55 |
| 16 | 100 | 1750 | 90 | 28 | 60,2 | 11 | 28 |
| 17 | 100 | 1800 | 92 | 28 | 60,1 | 11 | 16 |
| 18 | 100 | 1850 | 95 | 28 | 61,2 | 11 | 0 |
| 19 | 100 | 1900 | 97 | 28 | 61,4 | 11 | 0 |
| 20 | 100 | 1950 | 100 | 28 | 61,8 | 11 | 0 |
| M.O. | | 1474 | 75 | | 61,16 | | 68,65 |



Εικόνα 23. Εμφάνιση ωών κηρόσκορου πριν την επέμβαση με CO₂.



Εικόνα 24. Εμφάνιση ωών κηρόσκορου μετά την θανατηφόρα επέμβαση με CO₂.

Σημείωση: Σύμφωνα με αλληπάλληλες μετρήσεις σε διάφορες θερμοκρασίες στα όρια των 20-29 °C παρατηρήθηκε παραλλακτικότητα στα αποτελέσματα με ανάγκη αρκετά μεγαλύτερων χρόνων παραμονής σε θερμοκρασίες κάτω από 28°C βαθμούς (έως 16 ημέρες στους 22°C). Ωά που τοποθετήθηκαν στο δοχείο που έγινε εφαρμογή της ίδιας δόσης αερίου αφού πρώτα αφαιρέθηκε με αντλία ο αέρας, έδειξαν ελάχιστα διαφοροποιημένη αντοχή.

Πίνακας 17. Βιωσιμότητα προνυμφών με εισαγωγή CO₂.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός προνυμφών | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | Ελάχιστος Χρόνος παραμονής (ημέρες) | Βιωσιμότητα % |
|-----------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|---------------|--------------|-------------------------------------|---------------|
| 1 | 10 | 980 | 50 | 28 | 60,2 | 5 | 98 |
| 2 | 10 | 1050 | 53 | 28 | 61,5 | 5 | 95 |
| 3 | 10 | 1100 | 56 | 28 | 61,2 | 5 | 95 |
| 4 | 10 | 1150 | 58 | 28 | 61,9 | 5 | 97 |
| 5 | 10 | 1200 | 61 | 28 | 60,4 | 5 | 93 |
| 6 | 10 | 1250 | 64 | 28 | 60,7 | 5 | 92 |
| 7 | 10 | 1300 | 67 | 28 | 60,8 | 5 | 92 |
| 8 | 10 | 1350 | 69 | 28 | 61,1 | 5 | 90 |
| 9 | 10 | 1400 | 71 | 28 | 61,3 | 5 | 94 |
| 10 | 10 | 1450 | 74 | 28 | 61,9 | 5 | 92 |
| 11 | 10 | 1500 | 77 | 28 | 61,2 | 5 | 92 |
| 12 | 10 | 1550 | 79 | 28 | 61,6 | 5 | 92 |
| 13 | 10 | 1600 | 82 | 28 | 61,9 | 5 | 84 |
| 14 | 10 | 1650 | 84 | 28 | 61,1 | 5 | 81 |
| 15 | 10 | 1700 | 87 | 28 | 60,4 | 5 | 76 |
| 16 | 10 | 1750 | 90 | 28 | 60,8 | 5 | 62 |
| 17 | 10 | 1800 | 92 | 28 | 60,9 | 5 | 50 |
| 18 | 10 | 1850 | 95 | 28 | 61,3 | 5 | 0 |
| 19 | 10 | 1900 | 97 | 28 | 61,8 | 5 | 0 |
| 20 | 10 | 1950 | 100 | 28 | 61,9 | 5 | 0 |
| M.O. | | 1474 | 75 | | 61,22 | | 73,75 |



Εικόνα 25 . Εμφάνιση προνυμφών μετά την επέμβαση με την ελάχιστη θανατηφόρα δόση CO₂.

Σημείωση. Η τελευταία ηλικία και το μέγιστο βάρος προνυμφών μειώνει την ευαισθησία στο διοξείδιο του άνθρακος. Ορισμένες προνύμφες που είχαν μεγαλύτερο βάρος και ήταν στην τελευταία ηλικία άντεξαν στην υψηλότερη συγκέντρωση θνησιμότητας για **5 ημέρες**. Σε όλες τις υπόλοιπες ηλικίες και ειδικά στις νεογέννητες προνύμφες αρκούν 3-4 ημέρες για 100% θνησιμότητα. Η μέση θανατηφόρα δόση LD₅₀ των προνυμφών που προσδιορίστηκε ήταν οι 72 ώρες σε 82% συγκέντρωση και LD₅₀ σε 24 ώρες με 98% συγκέντρωση αερίου.

Πίνακας 18. Θνησιμότητα νυμφών με εισαγωγή CO₂.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός νυμφών | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία °C | Υγρασία % | Ελάχιστος Χρόνος παραμονής (h) | Θνησιμότητα % |
|-----------------|----------------|-----------------------------------|-------------------|----------------|--------------|--------------------------------|---------------|
| 1 | 10 | 980 | 50 | 28 | 62,2 | 72 | 3 |
| 2 | 10 | 1050 | 53 | 28 | 61,9 | 72 | 4 |
| 3 | 10 | 1100 | 56 | 28 | 61,3 | 72 | 2 |
| 4 | 10 | 1150 | 58 | 28 | 61,6 | 72 | 4 |
| 5 | 10 | 1200 | 61 | 28 | 61,3 | 72 | 5 |
| 6 | 10 | 1250 | 64 | 28 | 61,2 | 72 | 5 |
| 7 | 10 | 1300 | 67 | 28 | 61,8 | 72 | 4 |
| 8 | 10 | 1350 | 69 | 28 | 61,6 | 72 | 6 |
| 9 | 10 | 1400 | 71 | 28 | 61,3 | 72 | 8 |
| 10 | 10 | 1450 | 74 | 28 | 61,8 | 72 | 8 |
| 11 | 10 | 1500 | 77 | 28 | 61,5 | 72 | 8 |
| 12 | 10 | 1550 | 79 | 28 | 61,4 | 72 | 9 |
| 13 | 10 | 1600 | 82 | 28 | 61,8 | 72 | 16 |
| 14 | 10 | 1650 | 84 | 28 | 61,3 | 72 | 20 |
| 15 | 10 | 1700 | 87 | 28 | 61,6 | 72 | 50 |
| 16 | 10 | 1750 | 90 | 28 | 61,8 | 72 | 80 |
| 17 | 10 | 1800 | 92 | 28 | 61,3 | 72 | 95 |
| 18 | 10 | 1850 | 95 | 28 | 61,6 | 72 | 100 |
| 19 | 10 | 1900 | 97 | 28 | 61,1 | 72 | 100 |
| 20 | 10 | 1950 | 100 | 28 | 61,3 | 72 | 100 |
| M.O. | | 1474 | | 75 | 61,54 | | 31,35 |

Σημείωση: Η γρηγορότερη επίτευξη της απαραίτητης συγκέντρωσης για τον προσδιορισμό τη μέσης θανατηφόρας δόσης LD₅₀ ήταν 26 ώρες στους 28°C.



Εικόνα 26. Εμφάνιση νυμφών μετά την επέμβαση με την ελάχιστη θανατηφόρα δόση CO₂.

Πίνακας 19. Θνησιμότητα ακμαίων με εισαγωγή CO₂.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός ακμαίων | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | Ελάχιστος Χρόνος παραμονής (h) | Θνησιμότητα % |
|-----------------|-----------------|-----------------------------------|-------------------|---------------|--------------|--------------------------------|---------------|
| 1 | 10 | 980 | 50 | 28 | 60,5 | 16 | 5 |
| 2 | 10 | 1050 | 53 | 28 | 61,2 | 16 | 8 |
| 3 | 10 | 1100 | 56 | 28 | 60,8 | 16 | 6 |
| 4 | 10 | 1150 | 58 | 28 | 60,3 | 16 | 11 |
| 5 | 10 | 1200 | 61 | 28 | 60,5 | 16 | 9 |
| 6 | 10 | 1250 | 64 | 28 | 60,9 | 16 | 6 |
| 7 | 10 | 1300 | 67 | 28 | 61,2 | 16 | 8 |
| 8 | 10 | 1350 | 69 | 28 | 61,4 | 16 | 14 |
| 9 | 10 | 1400 | 71 | 28 | 61,8 | 16 | 12 |
| 10 | 10 | 1450 | 74 | 28 | 61,4 | 16 | 11 |
| 11 | 10 | 1500 | 77 | 28 | 61,3 | 16 | 15 |
| 12 | 10 | 1550 | 79 | 28 | 61,9 | 16 | 10 |
| 13 | 10 | 1600 | 82 | 28 | 61,6 | 16 | 18 |
| 14 | 10 | 1650 | 84 | 28 | 61,2 | 16 | 21 |
| 15 | 10 | 1700 | 87 | 28 | 60,4 | 16 | 35 |
| 16 | 10 | 1750 | 90 | 28 | 60,6 | 16 | 50 |
| 17 | 10 | 1800 | 92 | 28 | 61,2 | 16 | 82 |
| 18 | 10 | 1850 | 95 | 28 | 61,1 | 16 | 100 |
| 19 | 10 | 1900 | 97 | 28 | 61,4 | 16 | 100 |
| 20 | 10 | 1950 | 100 | 28 | 61,8 | 16 | 100 |
| M.O. | | 1474 | 75 | | 61,12 | | 31,05 |

Σημείωση: Ο προσδιορισμός της LD₅₀ που αφορά τα ακμαία στο μικρότερο δυνατό χρόνο ήταν 11 ώρες σε 1800 ppm συγκέντρωση αερίου.



Εικόνα 27 . Εμφάνιση ακμαίων μετά την επέμβαση με την ελάχιστη θανατηφόρα δόση CO₂.

Πίνακας 20. Επώαση ωών μετά την επέμβαση αναλόγως συγκέντρωσης CO₂.

| A/A. Επανάληψης | Αριθμός ωών | Συγκέντρωση CO ₂ (ppm) | CO ₂ % | Θερμοκρασία°C | Υγρασία% | Ελάχιστος Χρόνος παραμονής (ημέρες) | Χρόνος εκκόλαψης προνυμφών (Ημέρες) |
|-----------------|-------------|-----------------------------------|-------------------|---------------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | 100 | 980 | 50 | 28 | 60,3 | 11 | 16 |
| 2 | 100 | 1200 | 62 | 28 | 60,6 | 11 | 16 |
| 3 | 100 | 1300 | 66 | 28 | 61,3 | 11 | 18 |
| 4 | 100 | 1400 | 72 | 28 | 61,9 | 11 | 18 |
| 5 | 100 | 1500 | 77 | 28 | 61,4 | 11 | 16 |
| 6 | 100 | 1600 | 82 | 28 | 61,6 | 11 | 19 |
| 7 | 100 | 1700 | 87 | 28 | 61,2 | 11 | 21 |
| 8 | 100 | 1800 | 92 | 28 | 61,8 | 11 | 21 |
| M.O. | | 1435 | 73,5 | | 61,26 | | 18,12 |

Σύγκριση μέσων όρων

| Πίνακες 6 & 10. | % Εκκόλαψη προνυμφών | |
|-----------------|----------------------|-------------------|
| | Μάρτυρας | Υποξικές συνθήκες |
| M.O. | 74,5 ^{a*} | 46,4 ^b |
| s | 14,95 | 8,07 |
| CV% | 20,07 | 17,39 |

*Όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές, με τον έλεγχο ANOVA (F1,18=27,36, p<0,05)

| Πίνακες 7 & 11 | Διαβίωση σε ημέρες Προνύμφες | |
|----------------|------------------------------|-------------------|
| | Μάρτυρας | Υποξικές συνθήκες |
| M.O. | 19,25 ^{a*} | 11,6 ^b |
| s | 2,45 | 1,17 |
| CV% | 12,72 | 10,09 |

*Όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές, με τον έλεγχο ANOVA (F1,28=86,60, p<0,05)

| Πίνακες 8 & 12. | Διαβίωση σε ημέρες. Νύμφες | |
|-----------------|----------------------------|-------------------|
| | Μάρτυρας | Υποξικές συνθήκες |
| M.O. | 18,3 ^{a*} | 12,5 ^b |
| s | 1,92 | 2,01 |
| CV% | 10,49 | 16,08 |

*Όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές, με τον έλεγχο ANOVA (F1,28=58,85, p<0,05)

| Πίνακες 9 & 13 | Διαβίωση σε ημέρες. Ακμαία | |
|----------------|----------------------------|-------------------|
| | Μάρτυρας | Υποξικές συνθήκες |
| M.O. | 10,85 ^{a*} | 7,4 ^b |
| s | 0,87 | 0,70 |
| CV% | 8,01 | 9,45 |

*Όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές, με τον έλεγχο ANOVA (F1,28=117,245, p<0,05)

Εντοπίσαμε πως οι προνύμφες δεν μπορούν να επιβιώσουν τρεφόμενες με κερί του εμπορίου, άκτιστο (σταματήσαν την ανάπτυξη τους). Ακόμη παρατηρήθηκε κανιβαλισμός μεταξύ των προνυμφών κατά τη μεταφορά σε τριβλία, σε συνθήκες έλλειψης τροφής για διάστημα μεγαλύτερο των τεσσάρων ημερών. Επιπροσθέτως η κηρήθρα που περιέχει μόνο αποθηκευμένο μέλι δεν προτιμάται από τις προνύμφες όσο εκείνες που περιέχουν γύρη.

Σημειώνεται πως η αποτελεσματικότητα του CO₂ μειώθηκε δραστικά και χρειάστηκαν έως και **16 ημέρες** για τη θανάτωση του 100% των αυγών, με πτώση της θερμοκρασίας κάτω των 22°C σε εφαρμογές πιλοτικών δοκιμών. Σε όλα τα άλλα στάδια ανάπτυξης, στο ίδιο εύρος θερμοκρασιών, δεν επηρεάστηκε ο ελάχιστος χρόνος παραμονής για 100% θνησιμότητα.

Έντομα που εκτέθηκαν σε υψηλές συγκεντρώσεις CO₂ για μικρό χρόνο και επέζησαν, ολοκλήρωσαν τελικά το βιολογικό κύκλο τους, όμως η περίοδος ανάπτυξης ήταν μεγαλύτερη για τα ακμαία που προέκυπταν από ωά που εκτέθηκαν για >18 ώρες και επίσης εναπόθεσαν τελικά κατά 45% λιγότερα ωά.

Αξίζει να ξεκαθαριστεί πως η θανάτωση των προνυμφών που εκκολάπτονται μετά από 5 ημέρες σε ιδανικές συνθήκες εκτροφής του εντόμου, από τα γονιμοποιημένα αυγά που έχει γίνει επέμβαση δεν σημαίνει πως τα ωά θανατώθηκαν από το CO₂ και συνεπώς **χρειάζεται δεύτερη επέμβαση**.

Τα περισσότερο αδρανή στάδια, όπως τα αυγά και οι νύμφες πιθανότατα έχουν βραδύτερους ρυθμούς αναπνοής από τα στάδια ταχείας ανάπτυξης, όπως οι προνύμφες. Όμως οι νύμφες βρήκαμε πως θανατώνονται γρηγορότερα σε σχέση με τις προνύμφες, γεγονός που ίσως οφείλεται στην ταχύτερη αποξήρανσή τους παρουσία CO₂. Παρατηρήθηκε καθυστέρηση εκκόλαψης προνυμφών σε βιά που εκτέθηκαν σε υποθανάτιες συγκεντρώσεις, σε ιδανική θερμοκρασία με έως και 21 ημέρες αναμονής, γεγονός που μαρτυρά παράταση του χρόνου επώασης ωών λόγω έκθεσης στο αέριο.

Αναλογικά με τις ελάχιστες θανατηφόρες συγκεντρώσεις που εξάγονται, αναφέρουμε πως τα 6,61gr αντιστοιχούν σε 1800ppm συκέντρωση και προσθήκη 1,8gr/lit ,τα 1,85gr/lit και 1850ppm αντιστοιχούν σε 7 gr στα 3,76 λίτρα και τα 1950 ppm αντιστοιχούν σε 7,38 gr στα 3,76 λίτρα για 100% συκέντρωση αερίου στο δοχείο. Συνεπώς απαιτούνται 6,61gr για 3,76 lit σε ιδανικές συνθήκες ως ελάχιστη δόση για επιτυχή καταπολέμηση όλων των σταδίων τροποποιώντας μόνο τον χρόνο παραμονής αναλόγως του σταδίου ανάπτυξης που θέλουμε να θανατώσουμε.

Τελικά αναφέρουμε πως διαπιστώθηκε ότι **1.85 gr CO₂ χρειάζονται ανά λίτρο χώρου για την επιτυχή καταπολέμηση όλων των σταδίων του κηρόσκορου** στα χρονικά πλαίσια και τις συνθήκες που περιγράφονται.

Αν χρησιμοποιηθεί για παράδειγμα μια κυψέλη Langstroth της οποίας οι έξοδοι θα κλειστούν αεροστεγώς για εφαρμογή καταπολέμησης ,θα ληφθούν οι παρακάτω διαστάσεις λόγω του ύψους που έχει το καπάκι εσωτερικά **50x42x36** και αντιστοιχεί σε 75,6 λίτρα όγκου. Τότε απαιτείται ελάχιστη δόση της τάξεως των **136 gr αερίου ή 160 gr ξηρού πάγου ανά κυψέλη** για την επίτευξη της ελάχιστης συγκέντρωσης καθολικής αντιμετώπισης όλων των σταδίων στα χρονικά πλαίσια που περιγράφονται παρακάτω. Σημειώνεται πως αν η θερμοκρασία είναι αυξημένη πέραν των 30°C τότε ο χρόνος εφαρμογής μειώνεται πιθανόν διότι η θέρμανση δρα συνεργιστικά με το CO₂.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.

Όσο εντατικότερα ασκείται η μελισσοκομία ειδικά ως αποκλειστική απασχόληση για την επιβίωση, η επικρατούσα κατάσταση οδηγεί σε μηδενική ανοχή από την θέση του μελισσοκόμου σε ενδεχόμενες απώλειες κεριού. Αν και οι μέλισσες θα ξαναχτίσουν εφόσον είναι υγιείς την κηρήθρα ,η φθορά συνιστά σημαντική δαπάνη για τον μελισσοκόμο με τη μορφή εργασίας και αγοράς εξοπλισμού ειδικά όταν πρόκειται για αποθηκευμένες. Επιπλέον, οι μέλισσες πρέπει να δαπανήσουν πολύτιμα ενεργειακά αποθέματα για την κατασκευή νέας κηρήθρας, όταν μπορούν να τα χρησιμοποιήσουν για την παραγωγή πλεονάσματος μελιού.

Η ζήτηση επίσης για βιολογικά τρόφιμα οδηγείται σε μεγάλο βαθμό από τις απαιτήσεις της αγοράς γεγονός που δεν αφήνει ανεπηρέαστα και τα προϊόντα της κυψέλης.

Γεγονός είναι πως ο σημαντικότερος εχθρός παγκοσμίως που προσβάλλει την κηρήθρα είναι ο μεγάλος κηρόσκορος *G. mellonella* με την προστασία των αποθηκευμένων κηρηθρών να αποτελεί υψηλή προτεραιότητα.

Σύμφωνα με όσα αναφέραμε παραπάνω, συγκρίνοντας τις διαθέσιμες μεθόδους καταπολέμησης του κηρόσκορου με βάση τα διαθέσιμα στοιχεία αλλά και ανεπίσημες μαρτυρίες μελισσοκόμων διαπιστώθηκαν τα εξής:

Αρχικά είναι γενικά παραδεκτό πως οι κηρήθρες πρέπει να προστατεύονται από την προσβολή πριν αλλά και κατά τη διάρκεια των περιόδων αποθήκευσης. Η **πρόληψη** είναι γνωστό πως είναι η καλύτερη θεραπεία και η περίπτωση του κηρόσκορου δεν ξεφεύγει από αυτό τον κανόνα. Η διατήρηση κηρηθρών σε χώρους που αερίζονται και φωτίζονται επαρκώς δεν αποτελεί πρόληψη ,διότι δεν μπορούμε να γνωρίζουμε αν υπάρχουν ωά από τα οποία όταν η θερμοκρασία φτάσει στα επιθυμητά επίπεδα θα εκκολαφθούν προνύμφες. Συνεπώς για ασφαλή πρόληψη στην αποθήκη κυρίως, πρέπει να έχει προηγηθεί εφαρμογή της ασφαλέστερης μεθόδου καταπολέμησης για 100% επιτυχία. Η διατήρηση ισχυρών αποικιών μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης προβλημάτων, συνεπώς χρέος του μελισσοκόμου είναι να διατηρεί δυνατά μελίσσια ώστε να εντοπίζουν τον κηρόσκορο και να τον απομακρύνουν εμποδίζοντας την εξάπλωση της προσβολής στα υπόλοιπα μελίσσια.

Σχετικά με τη **βιολογική καταπολέμηση** καταλαβαίνουμε πως οι φυσικοί εχθροί διαφέρουν σημαντικά στη βιολογία και συμπεριφορά τους ,ως εκ τούτου και στην ικανότητα να ελέγξουν τον πληθυσμό του κηρόσκορου σε κάθε ιδιαίτερο περιβάλλον. Με τα τωρινά δεδομένα ακόμη μοιάζει πρακτικά ανέφικτη παρουσιάζοντας μεγάλη δυσκολία να καταστεί οικονομικά συμφέρουσα και εύκολα διαθέσιμη στον ερασιτέχνη ή επαγγελματία

μελισσοκόμο. Για παράδειγμα η χρήση βακίλου είναι κατά ένα ποσοστό αποτελεσματική που όμως δεν εγγυάται επίτευξη 100% θνησιμότητας και παράλληλα είναι αρκετά ακριβή για ευρεία εφαρμογή (Hood et.al., 2003). Επίσης βρέθηκε ότι είναι σταθερά αποτελεσματική μόνο σε υπερβολικές πυκνότητες αποικιών όταν αποθηκεύεται ο εξοπλισμός με τρόπο που προάγει αυξημένες συνθήκες φωτισμού και εξαερισμού αλλιώς δεν δείχνει εμπορικά χρήσιμη τεχνική. Ουσιαστικά το σκεύασμα έχει διαμορφωθεί για να θανατώσει νεαρές προνύμφες, καθώς προσπαθούν να τραφούν αφού υπάρχει ανάγκη κατάποσης όπως γνωρίζουμε ,για να είναι δραστικό. Άρα η δράση του είναι μόνο προληπτική για μελισσοκομική χρήση στην καταπολέμηση του κηρόσκορου. Σε όλες τις διαθέσιμες μελέτες υπάρχουν ασάφειες σχετικά με τα ποσοστά θνησιμότητας και η μέθοδος είναι υπό διερεύνηση (Hood et.al., 2003, Bollhalder 1999). Αν έστω και ένα μικρό ποσοστό προνυμφών μείνουν ζωντανές διότι δεν κατανάλωσαν τα σπόρια του βακτηρίου ,αρκούν για να δημιουργηθεί σοβαρό πρόβλημα. Επιπρόσθετα υπάρχει σημαντική διαφορά τρόπου δράσης σε σχέση με τις άλλες μεθόδους και η επιτυχής εφαρμογή εξαρτάται από την επιμέλεια του μελισσοκόμου. Συνεπώς συνιστάται κυρίως για κατόχους μικρού αριθμού κυψελών γιατί απαιτεί συνεχή επιτήρηση πιθανής επιβίωσης προνυμφών που δεν κατανάλωσαν τα σπόρια και συνεχίζουν να ζημιώνουν την κηρήθρα.

Σύμφωνα με εργασίες των (Ellis et. al. 2013, Kumari et. al., 2013, Sanford 2003) προκύπτει πως οι **βιοτεχνικές** μέθοδοι παρουσιάζουν ενδιαφέρον αλλά αυτή τη στιγμή δεν υπάρχει κάποιο προϊόν παγκοσμίως που να επιλύει επαρκώς το πρόβλημα. Οι παγίδες μπορούν να διαδραματίσουν συμπληρωματικό ρόλο, στα πλαίσια ολοκληρωμένης καταπολέμησης ,χωρίς κίνδυνο για μόλυνση των προϊόντων της κυψέλης. Παράδειγμα η περαιτέρω μείωση του μεγέθους της εισόδου πρέπει να δοκιμαστεί για να διαπιστωθεί αν μπορεί να επιτευχθεί ολική αποτροπή προσβολής καθώς βρίσκεται σε πρώιμο πειραματικό στάδιο. Ακόμη η μέθοδος εξαπόλυσης στείρων εντόμων απαιτεί υψηλές δόσεις **ακτινοβολίας** για την επίτευξη πλήρως στειρωμένων ακμαίων και η απελευθέρωση στο πεδίο έχει αμφίβολα αποτελέσματα τα οποία εξαρτώνται από τις συνθήκες εκτροφής. Δεν είναι μέθοδος που μπορεί να εφαρμοστεί από το μελισσοκόμο ,αλλά μόνο ως βοηθητική από ερευνητικούς φορείς, επομένως δεν θα σχολιαστεί περαιτέρω.

Η εφαρμογή **χημικής** αντιμετώπισης στις αποθηκευμένες κηρήθρες όλα αυτά τα χρόνια γίνεται κυρίως με παραδιχλωροβενζόλιο, διβρωμιούχο αιθυλένιο, διοξείδιο του θείου και ναφθαλίνη. Σχετικά με το EDB εκτός από την συνεχή ανάγκη επανεισαγωγής, δεν υπάρχει υπολειμματική προστασία από την επανεμφάνιση, όμως δείχνει να είναι αποτελεσματικό σε όλα τα στάδια του κηρόσκορου (Dominguez et al 1992). Το διβρωμιούχο αιθυλένιο καταργήθηκε λόγω τοξικότητας και πιθανών καρκινογενέσεων και η υψηλή διαλυτότητα της

ουσίας στο νερό την καθιστά ικανή να μολύνει τα επιφανειακά και τα υπόγεια ύδατα (EPA 2010).

Στο έδαφος επίσης παραμένει ενεργή για αρκετό χρονικό διάστημα και στον αέρα μεταφέρεται με μεγάλη ταχύτητα (EPA 2010). Το **βρωμιούχο μεθύλιο** είναι εξαιρετικά επικίνδυνο κατά την εφαρμογή και αποδείχθηκε πως μπορεί να μειώσει το προστατευτικό στρώμα όζοντος της ατμόσφαιρας της Γης. Η απαγόρευση του έχει διεγείρει τις έρευνες για εναλλακτικές ουσίες και η εφαρμογή από τον μελισσοκόμο είναι επικίνδυνη και απαγορευμένη.

Το **παραδιχλωροβενζόλιο** ήταν πολύ δημοφιλές λόγω χαμηλής τιμής, μεγάλης διαθεσιμότητας, ευκολίας εφαρμογής και μακροχρόνιας προστασίας. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα ερευνών, θανατώνει όλα τα στάδια εκτός των ωών (Bogdanov 2006). Η χρήση σε κηρήθρες που περιέχουν μέλι λόγω παρουσίας υπολειμμάτων είναι απαγορευτική καθιστώντας το ακατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση όπως και στο κερί λόγω λιπόφιλου χαρακτήρα της ουσίας. Φυσικά δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο του κηρόσκορου σε ενεργές αδύναμες αποικίες μελισσών λόγω τοξικότητας στις μέλισσες, ούτε εγκρίθηκε ποτέ για την προστασία των αποθηκευμένων κηρηθρών.

Η φωσφίνη είναι εύφλεκτη και κατατάσσεται ως χημικό προϊόν περιορισμένης χρήσης το οποίο μπορούν να χρησιμοποιούν νόμιμα μόνο οι απεντομωτές που διαθέτουν ειδική άδεια. Φαίνεται πως είναι δραστική αλλά απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή στη χρησιμοποίησή της γιατί ενέχει κινδύνους για την υγεία του μελισσοκόμου αλλά και των μελισσών, συνεπώς δεν συνιστάται σε καμία περίπτωση (Goodman et al 1990).

Τα οξέα που αναφέραμε παραπάνω χρησιμοποιούνται ευρέως και οι σκόνες όπως το **θειό**. Όμως δεν έχουν επαρκή δράση στην θανάτωση των ωών και των προνυμφών (Ahmed 1993). Δεν χρησιμοποιούνται σε ζωντανή αποικία μελισσών διότι θανατώνουν το γόννο. Άμεση επαφή με το δέρμα ή τα μάτια είναι καυστική, ενώ ακόμη και οι ατμοί μπορούν να επηρεάσουν το αναπνευστικό και τους οφθαλμούς. Είναι διαβρωτικά και συνεπώς τα μεταλλικά μέρη των κηρηθρών όπως τα σύρματα συγκράτησης του κεριού οξειδώνονται. Επιπρόσθετα οι κηρήθρες πρέπει να μείνουν έξω να αεριστούν για την απομάκρυνση οσμών πριν τοποθετηθούν στην κυψέλη, που συνεπάγεται μεγαλύτερη απώλεια χρόνου, εκτός της επανάληψης που απαιτείται μεταξύ εφαρμογών. Η χρήση τους όμως επιτρέπεται στη βιολογική μελισσοκομία.

Συμπεραίνουμε πως κανένα από τα χημικά μέσα δε θανατώνει όλα τα στάδια του κηρόσκορου, όλα αφήνουν οσμή στο μέλι και στο κερί και είναι επικίνδυνα για τον άνθρωπο, εάν τα εισπνεύσει για μεγάλο χρονικό διάστημα. Έχουν βρεθεί δείγματα επιμολύνσεων στο κερί και το μέλι τα οποία παρέμειναν αμετάβλητα μετά και από τρία χρόνια. Όμως θεσπίστηκε ανώτατο όριο

συγκέντρωσης **0,05 mg** μόνο στο πόσιμο νερό (Bogdanov 2006, EPA 2011). Ο μέσος όρος χημικών ουσιών που εντοπίστηκαν σε διαθέσιμες έρευνες στο διαδίκτυο ήταν 2,4 mg/kg διβρωμοαιθανίου και 0,5 mg/kg παραδιχλωροβενζολίου παγκοσμίως για το μέλι. Ενδεικτικά στην Ελλάδα αναφέρεται πως σε 25 δείγματα μελιού διάφορων περιοχών, στο 8% ανιχνεύθηκε διβρωμοαιθάνιο, στο 92% παραδιχλωροβενζόλιο και στο 88% ναφθαλίνη. Συγκεντρώσεις ναφθαλίνης, παραδιχλωροβενζολίου και διβρωμοαιθανίου ανώτερες από 10mg/kg μετρήθηκαν σε αντίστοιχα ποσοστά 6,7%, 32% και 8% στα λοιπά προϊόντα. Η EPA έχει καταχωρήσει ως απολύτως καρκινογόνα για τον άνθρωπο το (p-DCB) και το (EDB) όπως και την ναφθαλίνη ως υπεύθυνη για πιθανές καρκινογενέσεις και ανεπανόρθωτες βλάβες στα μάτια. Σημειώνεται πως ειδικά **τα ωά** των τελείων του κηρόσκορου γενικά δεν φαίνεται να επηρεάζονται από τη χημική αντιμετώπιση. Συνεπώς η αναγκαία επαναλαμβανόμενη εφαρμογή των χημικών ώστε τελικά να καταστούν αποτελεσματικά, είναι η αιτία που ευθύνεται για τη σημαντική ρύπανση στα μελισσοκομικά προϊόντα και δυσάρεστα αποτελέσματα για το χρήστη και το περιβάλλον. Για ευνόητους λόγους η χημική καταπολέμηση πρέπει να περιοριστεί ,αν όχι να διακοπεί πλήρως. (Hood et al 2010, Charriere et al 1999, Bogdanov 2006).

Οι **Φυσικές** μέθοδοι δείχνουν οι ασφαλέστερες γενικά σε όλες τις πτυχές τους, όμως παρουσιάζουν σοβαρά μειονεκτήματα.

Η **κατάψυξη** πλαισίων που περιέχουν προνύμφες ή ωά παρουσιάζει σημαντικά σημεία αδυναμίας ,όπως η ανάγκη για μεγάλου όγκου καταψύκτες μεγάλου κόστους, σημαντική δαπάνη ενέργειας ,δυσκολία ευελιξίας και μετακίνησης. Ακόμη τα αποτελέσματα κυρίως που αφορούν τα ωά είναι υπό συζήτηση σχετικά με το χρόνο που χρειάζεται τελικά για τη θανάτωση του 100% (Goodman et al., 1990). Επίσης στη συνέχεια η διατήρηση των κηρήθρων που καταψύχθηκαν σε εντομοστεγανούς χώρους δεν είναι πάντοτε δυνατή από το μελισσοκόμο.

Η **θέρμανση** συνεπάγεται μεγάλη δαπάνη ενέργειας επίσης και οι κηρήθρες δεν πρέπει να θερμαίνονται πάνω από (49°C), διότι το κερί αλλοιώνεται πάνω από αυτή τη θερμοκρασία και λιώνει στους (64°C). Ακόμη τα πλαίσια θα πρέπει να υποβάλλονται σε θερμική επεξεργασία μόνο σε όρθια θέση και πρέπει να αφεθούν να κρυώσουν σε προστατευμένο χώρο. Η θερμική επεξεργασία θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο για κηρήθρες που δεν περιέχουν μέλι λόγω υποβάθμισης θρεπτικής αξίας του προϊόντος. (Joythi et al 1994, Roversi 2008). Η υποβάθμιση αφορά είτε τη θρεπτικότητα για τον άνθρωπο όταν προορίζεται για πώληση, ή για τη μέλισσα αν προορίζεται για τροφοδοσία λόγω πιθανής αύξησης της HMF. Για τους παραπάνω λόγους είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται η θερμοκρασία των 46°C και οι κηρήθρες να χειρίζονται με προσοχή (Ellis 2013). Συνεπώς προφανείς είναι οι

κίνδυνοι που συνδέονται με υπερθέρμανση και εμπόδισαν να γίνει ευρέως διαδεδομένη τεχνική ελέγχου.

Η χρήση συνθηκών **ελεγχόμενης ατμόσφαιρας** ως εναλλακτική καταπολέμηση παρουσιάζεται εξαιρετικά θετική σε ορισμένες περιπτώσεις σύμφωνα με όσα εξετάσαμε. Σε σχέση με την αποτελεσματικότητα αναζητούμε την εξασφάλιση δόσεων αερίων που να θανατώνουν όλα τα στάδια που εντοπίζονται πριν τη στιγμή της εφαρμογής. Αυτό συμβαίνει κυρίως για τον αποκλεισμό της ανάπτυξης ανθεκτικών απογόνων αλλά και για οικονομικούς λόγους. Η άλλη οπτική της αποτελεσματικότητας σχετίζεται με το κόστος και χρειαζόμαστε μεθόδους με όσο το δυνατόν χαμηλότερο. (Ellis 2013)

Η χρήση **όζοντος** εξετάστηκε πρόσφατα αλλά η προμήθειά του είναι ακριβότερη σε σχέση με το CO₂ και επίσης είναι ισχυρά οξειδωτικό, χωρίς ακόμη επαρκή στοιχεία για τα ωά ή τα ακμαία (Falah et al. 2017).

Η δημιουργία ατμόσφαιρας με υψηλό ποσοστό **αζώτου** και **μειωμένου οξυγόνου** δοκιμάζεται επίσης. Το άζωτο είναι και αυτό βαρύτερο από τον αέρα. Σύμφωνα όμως με ανεπίσημες μαρτυρίες διαρρέει πολύ εύκολα το πολυαιθυλένιο σε σχέση με το CO₂ και αναμιγνύεται ευκολότερα με τον ατμοσφαιρικό αέρα. Επίσης είναι κατά πολύ ακριβότερη η προμήθεια και η πιθανή προσπάθεια μέτρησής του.

Η χρήση της μεθόδου **μείωσης των επιπέδων οξυγόνου** με απλή αφαίρεση του αέρα διαφαίνεται πως σύμφωνα με όσα διαπιστώσαμε, έχει πολύ αργή δράση. Επίσης με χρήση σάκου πολυαιθυλενίου, που είναι και μια μικρογραφία των πιθανών μεγαλύτερων μελλοντικών εφαρμογών, πρακτικά μειώνεται ο διαθέσιμος όγκος και συνεπώς ο χώρος εφαρμογής, άρα στη συνέχεια και αποθήκευσης των κηρηθρών. Επίσης όπως σημειώθηκε και στο προηγούμενο κεφάλαιο παρατηρήθηκε ανάπτυξη μυκήτων που αχρήστευσαν τις κηρήθρες.

Τονίζεται πως η χρήση **διοξειδίου του άνθρακα** έχει εγκριθεί παγκοσμίως για την πρόληψη και τη θεραπεία προσβεβλημένων κηρηθρών και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο του κηρόσκορου σε αποθηκευμένες κηρήθρες **που περιέχουν και μέλι.**

Η εφαρμογή θεωρείται σχετικά ασφαλής για τους εφαρμοστές, τους παρευρισκόμενους, το περιβάλλον και τα προϊόντα. Η κύρια οδός έκθεσης για το διοξείδιο του άνθρακα είναι μέσω της εισπνοής, συνεπώς οι εκθέσεις μέσω της στοματικής και δερματικής οδού δεν απασχολούν το χρήστη. Βέβαια ο επαρκής εξαερισμός κρίνεται απολύτως απαραίτητος καθιστώντας όμως τη μέθοδο πιθανώς πολύ λιγότερο επικίνδυνη από την απελευθέρωση χημικών. Με τα σημερινά δεδομένα για τον κορεσμό ενός κτιρίου με CO₂ διαφαίνεται απαγορευτικό το κόστος. Οι υψηλές συγκεντρώσεις CO₂ και παράλληλα οι

χαμηλές O_2 θα απαιτούσαν σίγουρα αεροστεγείς κατασκευές για αποτελεσματική αντιμετώπιση. Τέτοιες δομές, αν και δυνητικά πολύ ακριβές, θα μπορούσαν να είναι αποδοτικές σε σχέση με το κόστος, ειδικά σε προϊόντα υψηλότερης αξίας όπως οι κηρήθρες που περιέχουν μέλι. Δυστυχώς η αποθήκευση των κηρηθρών στην αποθήκη είναι προβληματική έως σήμερα, δεδομένου ότι οι δομές δεν είναι επαρκώς στεγανές για αποτελεσματική σύνθεση αερίου CO_2 , προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης έλεγχος και να αποφευχθεί η επανεμφάνιση. Η εφαρμογή με μειωμένη συγκέντρωση O_2 και αυξημένη CO_2 μπορεί να γίνει σε σύντομες περιόδους, παρόμοιες με εκείνες που απαιτούνται για τον χημικό έλεγχο, συνεπώς θέμα απώλειας χρόνου δεν τίθεται.

Συγκεντρωτικά εφόσον είναι η μέθοδος που ασχοληθήκαμε εκτενώς στην παρούσα ερευνητική εργασία είναι αναγκαίο να αναφέρουμε τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα που διαπιστώσαμε ώστε να γίνουν εύκολα οι απαραίτητες συγκρίσεις από κάθε ενδιαφερόμενο:

Πλεονεκτήματα χρήσης CO_2 : **1)** Ασφαλής μέθοδος για τα υλικά κατασκευής της κηρήθρας και της κυψέλης. **2)** Η εφαρμογή, καθώς αποτελεί φυσικό συστατικό της ήδη υπάρχουσας ατμόσφαιρας της αποθήκης, δεν παρουσιάζει υπολείμματα στα μελισσοκομικά προϊόντα. **3)** Η χρήση του ως εντομοκτόνο δεν προκαλεί αύξηση των συγκεντρώσεων εκτός φυσικού εύρους στο νερό (συμπεριλαμβανομένων των υπόγειων υδάτων) ή στο έδαφος. **4)** Εξαιρετικά αποτελεσματική μέθοδος στη θανάτωση όλων των σταδίων του βιολογικού κύκλου του κηρόσκορου. **5)** Το κόστος υλικών και συντήρησης τελικά δείχνει να είναι ανεκτό μετά την επιτυχή αρχική εγκατάσταση του συστήματος. **6)** Μπορούν να δημιουργηθούν διάφορα μεγέθη και τύποι περιβλημάτων για μεγαλύτερου ή μικρότερου όγκου εφαρμογές αναλόγως των αναγκών των μελισσοσμηνών και τη δυναμικότητα του μελισσοκομείου. **7)** Μπορεί να κατασκευαστεί και να εφαρμοστεί σε εξωτερικό και εσωτερικό χώρο, σε μικρό χρόνο, προσδίδοντας σημαντική ευελιξία και εξοικονόμηση. **8)** Η μέθοδος, έχει την ικανότητα όχι μόνο να θανατώνει τον κηρόσκορο αλλά και να μειώνει τη βιολογική δραστηριότητα μυκήτων και βακτηρίων ιδιότητα που προστατεύει και το μέλι ως τρόφιμο. **9)** Η υψηλή συγκέντρωση στον ατμοσφαιρικό αέρα δρα επίσης και τοξικά για τα έντομα όπως αναφέραμε και παραπάνω. **10)** Ανθεκτικότητα είναι απίθανο να συμβεί επειδή, όταν χρησιμοποιείται ως βιοκτόνο, θα είναι θανατηφόρο για τα έντομα στόχους σε μία δόση. Συνεπώς δεν υπάρχει μηχανισμός για την ανάπτυξη αντοχής επειδή οι στόχοι δεν εκτίθενται ποτέ σε υποθανατηφόρες συγκεντρώσεις. Ωστόσο ο μελισσοκόμος μπορεί να επιλέξει και **δύο διαδοχικές εφαρμογές** σε επιλεγμένες δόσεις αν υπάρχει πρόβλημα χρόνου ή μεταφοράς των κηρηθρών αναλόγως των αναγκών του. **11)** Είναι αποτελεσματικό στον κηρόσκορο σε σχετικά μικρότερες ή παρόμοιες περιόδους εκθέσεως συγκρινόμενο με όλες τις άλλες μεθόδους. **12)** Το αέριο διαχέεται σε όλο το πεδίο εφαρμογής χωρίς να

παραμένουν σημεία που δεν έδρασε ισομερώς στον εχθρό αναλόγως της θέσης που καταλαμβάνει, όπως συμβαίνει με άλλες μεθόδους, συνεπώς κατά κανόνα **δεν χρειάζεται δεύτερη επέμβαση.** **13)**Εύκολη προμήθεια χωρίς ανάγκη ιδιαίτερων χειρισμών. **14)**Χρησιμοποιώντας ένα σύστημα πολλαπλών σωληνώσεων επιτρέπει να επιταχυνθεί η διαδικασία εφαρμογής για μεγάλο αριθμό κηρήθρων, χωρίς απαραίτητα δημιουργία αεροστεγούς αποθήκης. **15)**Σε εφαρμογές που χρησιμοποιούνται σάκοι πολυαιθυλενίου, μετά την εφαρμογή οι κηρήθρες μπορούν να παραμείνουν εντός τους και να αποθηκευτούν σε οποιοδήποτε σημείο χωρίς τον κίνδυνο επαναπροσβολής ή μόλυνσης.

Μειονεκτήματα χρήσης CO₂. **1)** Απαιτούνται σχετικά μεγάλοι χρόνοι παραμονής στην περίπτωση κυρίως των προνυμφών συγκριτικά με τις άλλες διαθέσιμες μεθόδους. **2)** Εξελιγμένα ογκώδη αεροστεγή συστήματα μπορεί να είναι δαπανηρά για την αγορά ή την κατασκευή για μεγάλες μονάδες. **3)**Μπορεί να απαιτηθεί στο μέλλον ειδική άδεια χρήσης ή άδεια κατασκευής γεγονός που ίσως καθυστερήσει τη διαδικασία. **4)** Απαιτείται αγορά πρόσθετου ειδικού εξοπλισμού για εξασφάλιση ασφαλούς λειτουργίας και παρακολούθησης συγκέντρωσης του αερίου. **6)** Η εξέλιξη της εφαρμογής πρέπει να παρακολουθείται απαιτώντας φυσική παρουσία του μελισσοκόμου για τυχόν διαρροές και πιθανές δυσλειτουργίες του εξοπλισμού. **7)** Ενώ τα αποτελέσματα έδειξαν πολύ θετικά αποτελέσματα για τη δυνατότητα χρήσης και του ξηρού πάγου στην καταπολέμηση του κηρόσκορου, το πρόβλημα της έγκαιρης προμήθειας, μεταφοράς και χειρισμού του παραμένει από την πλευρά του μελισσοκόμου. **8)** Σε μεγάλες εγκαταστάσεις ίσως χρειαστεί δοκιμή πίεσης χώρου ώστε να διασφαλιστεί ότι συγκρατούνται συγκεντρώσεις αερίων επαρκείς για να θανατώσουν τα έντομα σε όλα τα στάδια. **9)** Αν χρησιμοποιηθεί σε κλειστό χώρο είναι επικίνδυνο για τον άνθρωπο και μπορεί να οδηγήσει στο θάνατο αν δεν υπάρχει επαρκής αερισμός. **10)** Η απρόσεκτη επανάληψη σε μη αεροστεγείς χώρους προφανώς αυξάνει την πιθανότητα δημιουργίας ανθεκτικών εντόμων στο αέριο.

Συμπερασματικά θα λέγαμε πως για αποτελεσματικό έλεγχο του κηρόσκορου με χρήση CO₂ πρέπει να δοθεί προσοχή σε ορισμένα **κρίσιμα σημεία:**

1)Ανεπαρκής συγκέντρωση εφαρμοζόμενου αερίου. **2)**Παρουσία υπερβολικής διαρροής που οδηγεί σε αραίωση με τον αέρα, λόγω αστοχίας χρησιμοποιούμενου υλικού ή λανθασμένων χειρισμών. **3)**Κακή διανομή αερίου λόγω ακατάλληλου υλικού ή συνδεσμολογίας. **4)**Ανεπιτυχής έλεγχος της πίεσης που αλλοιώνει τα αποτελέσματα. **5)**Μη συμπλήρωση του απαιτούμενου χρόνου εφαρμογής για βέλτιστα αποτελέσματα. **6)**Συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας που καθυστερούν την επίτευξη της επιθυμητής συγκέντρωσης.

Πρέπει να τονίσουμε πως η παγκόσμια μελισσοκομία δεν μπορεί πλέον να αντέξει οικονομικά ,την παρουσία περιστατικών με επιβαρυνμένο μέλι. Επίσης οποιαδήποτε προσπάθεια πώλησης νοθευμένων κεριών με παραφίνη ή φυτικών αμφιβόλου προελεύσεως, αποτελεί νοθεία ενός φυσικού προϊόντος. Η νοθεία οδηγεί σε απώλεια εισοδήματος του ευσυνειδητού μελισσοκόμου και προσπάθεια παραπλάνησης του καταναλωτικού κοινού που επιζητά αγνά μελισσοκομικά προϊόντα.

Σύμφωνα με όσα αναλύσαμε διαφαίνεται πως ο μελισσοκόμος βρίσκεται ουσιαστικά μπροστά σε ένα πλαστό δίλλημα ,αν θα επιλέξει να παρανομήσει παράλληλα θέτοντας σε κίνδυνο την αξιοπιστία του ,την ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων και την υγεία του ,εφαρμόζοντας χημική καταπολέμηση ή θα επιλέξει τη φυσική αντιμετώπιση. Γενικά οι ευρέως εφαρμοζόμενες μέθοδοι σήμερα είναι το θείο, η ψύξη, η θέρμανση και ο βάκιλος της Θουριγγίας, εξετάζοντας το πρόβλημα καθαρά από τη ματιά του μελισσοκόμου.

Λόγω της σοβαρότητας του προβλήματος με βάση τις διαθέσιμες πληροφορίες, πρέπει να τεθούν στόχοι για τη διαχείριση κατά τρόπο κατάλληλο ,αναλόγως τις εκάστοτε τοπικές κλιματολογικές συνθήκες. Επομένως η μέθοδος που προτείνουμε μπορεί να συγκριθεί και να αποφασιστεί αν είναι συμφέρουσα να εφαρμοστεί ή ίσως χρειάζεται περισσότερη διερεύνηση για συνδυαστικές μεθόδους ολοκληρωμένης καταπολέμησης, αναλόγως των ειδικών αναγκών του κάθε μελισσοκόμου.

Αναφέρουμε επίσης ορισμένες **προτάσεις** στο πεδίο της διεξαγωγής περαιτέρω έρευνας στη βιολογία του εντόμου και των επιδράσεων του CO₂ στη θνησιμότητά του. Για παράδειγμα εκτενείς αναφορές γίνονται το τελευταίο διάστημα για την κατανάλωση πολυαιθυλενίου από τις προνύμφες. Κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν προφανές πως καταναλώνουν το πλαστικό για να διαφύγουν από τις συνθήκες έλλειψης οξυγόνου όπως συνέβη και στην περίπτωση που χρησιμοποιήσαμε τους σάκκους με μειωμένο οξυγόνο. Άρα χρειάζεται να γίνει περισσότερη έρευνα για να καθοριστεί εάν είναι αποτέλεσμα του κηρόσκορου ή της χλωρίδας του εντέρου του ώστε να απομονωθεί ίσως κάποιο ένζυμο που είναι υπεύθυνο για την αποσύνθεση ώστε να μπορεί παραχθεί σε βιομηχανική κλίμακα.

Επιπλέον, η εφαρμογή του CO₂ υπό υψηλή πίεση μπορεί να είναι πολύ αποτελεσματικότερη και να μειώσει τον απαραίτητο χρόνο έκθεσης πολύ χαμηλότερα συνεπώς θα πρέπει να διαφανεί αν είναι οικονομικά συμφέρουσα σε μεγάλες εφαρμογές.

Ακόμη συνιστάται στο μέλλον να μετρηθεί η πρόσληψη διοξειδίου του άνθρακος από τα έντομα εντός του χώρου εφαρμογής για τον εντοπισμό τυχόν διαφορετικών απορροφήσεων αερίου αναλόγως σταδίου ανάπτυξης.

Επιπροσθέτως τα ενήλικα και οι προνύμφες αποδείξαμε πως αναισθητοποιούνται ταχέως, ωστόσο οι συγκεκριμένοι μηχανισμοί δεν έχουν εντοπιστεί πως ακριβώς δρουν, σύμφωνα με όσα στοιχεία εντοπίσαμε στη βιβλιογραφία.

Τονίζεται ακόμη πως μια επαρκώς ελεγχόμενη ατμόσφαιρα με μειωμένο οξυγόνο και αυξημένο CO₂, δημιουργείται επίσης μέσω μιας φυσικής μεταβολικής διαδικασίας που βασίζεται στην αναπνοή των εντόμων, εντός των αεροστεγανών δοχείων που χρησιμοποιήθηκαν και θα είχε ενδιαφέρον να εξεταστεί.

Τελικά, ελπίζουμε ότι το παρόν έγγραφο θα αναζωογονήσει την έρευνα για τη φυσική αντιμετώπιση αυτού του σημαντικού εχθρού της παγκόσμιας μελισσοκομίας. Επίσης δίνεται η δυνατότητα να αναπτυχθούν νέες κατασκευές για να συμπληρώσουν τις υπάρχουσες πρακτικές διαχείρισης εχθρών στο γενικότερο πεδίο της εντομολογικής έρευνας. Η προσπάθεια για μεγαλύτερη μείωση ή και πλήρη απουσία υπολειμμάτων χημικών ουσιών με χρήση εναλλακτικών μεθόδων καταπολέμησης όπως η συγκεκριμένη που ασχολούμαστε, είναι συνεχής.

Μέχρι τώρα υπήρξαν μόνο ελάχιστες πληροφορίες σχετικά με την επίδραση της περιόδου έκθεσης και των συγκεντρώσεων CO₂ στη θνησιμότητα του κηρόσκορου, που δεν οδήγησαν τη μέθοδο να τύχει ευρύτερης αποδοχής. Κατά τη διεξαγωγή της παραπάνω μελέτης πιστεύουμε πως με ορισμένους χειρισμούς απλοποιήσαμε όσο ήταν δυνατό την εξεταζόμενη μέθοδο, καθιστώντας τη προσβάσιμη στο μέσο ερασιτέχνη και επαγγελματία μελισσοκόμο.

ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.

Abbott, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.

Bailey, S.W. and H. J. Banks 1975. The use of controlled atmospheres for the storage of grain. *Proceedings of First International Working Conference on Stored Product Entomology*. Georgia. 370-374.

Banks, H.J and A.,K.,Sharp,1979. Insect control with CO₂ in a small stack of bagged grain in a plastic film enclosure. *Australian Journal of Experimental Agricultural Animal Husbandry*.19:105-107

Banks, H.J. and P.,C.,Annis,.1990. Comparative advantages of high CO₂ and low O₂ types of controlled atmospheres for grain storage.115–122.

Bogdanov, S. , V., Kichenmann, K.,Seiler, H.,Pfefferli, T., Frey, B., Roux, P., Wenk, J. and Noser, 2004. Residues of p-dichlorobenzene in honey and beeswax.*Journal of Apicultural Research* 43 (1) :14–16.

Bollhalder, F. 1999. Trichogramma for wax moth control. *American Bee Journal*.139:710–712.

Bolonhezi, S., S.R., Valentini and F.,M., de Castro, 1998. Effects of carbon dioxide and phosphine mixtures on resistant populations of stored-grain insects. *Journal of stored products research*. Elsevier science, 34 (1):29-32.

Bombelli, P., J.H. Christopher and B. Federica 2017. Polyethylene biodegradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. *Current Biology* 27(8): 292-293.

Burges, H.D.1978. Control of wax moth: Physical, chemical and biological methods. *Bee World* 59 (4):135-139.

Burges, H.D. and L. Bailey 1968. Control of greater wax moth and lesser wax moths with *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Invertebrate. Pathology* 11:192-195.

Cantwell, G. E. and L., J., Smith 1970 .Control of the greater wax moth *Galleria mellonella* in honey comb. *American Bee Journal* 115-118.

Cantwell, G.E., G. Jr. Pearman and J.V. Thompson 1972. Control of the greater wax moth *Galleria rnellonella* in comb honey with carbon dioxide. *American Bee Journal* 112 (9): 302-303, 343-344.

Cantwell, G. E.,1980. Control of the greater wax moth, an update. *American Bee Journal* 120: 585–583.

Cantwell, G. E. and T. R. Shieh 1981. Certan, a new bacterial insecticide against the greater wax moth, *Galleria mellonella*. American Bee Journal 121: 424-426, 429-431.

Caron, D.M.1992. Wax moth. American Bee Journal 132 (10): 647-649.

Charriere, J.D. and A .Imdorf 1999. Protection of honey combs from wax moth damage. American Bee Journal 139: 627–630.

Cook, S. M. and J.D. McArthur 2013. Developing *Galleria mellonella* as a model host for human pathogens. Virulence 4:350-351.

Coskun M, T. Kayis, M. Sulanc and P. Ozalp 2006. Effects of different honeycomb and sucrose levels on the development of greater wax moth *Galleria mellonella* larvae. International Journal of Agriculture and Biology 8(6):855-858.

Charriere, J. D. and A. Imdorf 1999. Protection of honey combs from wax moth damage. American Bee Journal 139(8):629-630.

Calderon M., and J.G. Leesch 1983. Effect of reduced pressure and CO₂ on the toxicity of methyl bromide on two species of stored-product insects. Journal of Economic Entomology 76:1127–1128.

Debach, P. and D. Rosen. 1991. Biological control by natural enemies. Cambridge University Press, Cambridge.

Delate, K. M., J. K. Grace and J. W. Armstrong. Tome.1995. Carbon dioxide as a potential fumigant for termite control. Pest Management 44.

Dominguez, D.A. and J.M.Bande 1992. Cuban Research in Beekeeping Technology: Conservation of Combs by Chemical Methods. Actualidad Apicola 61:15-17.

Donahaye, E. 1992. Physiological differences between strains of *Tribolium castaneum* selected for resistance to hypoxia and hypercarbia, and the unselected strain. Physiological Entomology 17: 228–229.

Earp, E.A. 1925. The wax moth and its control. New Zealand Journal of Agriculture 3(1):26-28.

Eischen., F. A. and A. Dietz 1987. Growth and survival of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae fed diets containing honey bee-collected plant resins. Annals of the Entomological Society of America 80 :76-77.

Ellis, J. D., J. R.Graham and A. N. Mortensen 2013. Standard methods for wax moth research. Journal of Apicultural Research 52 (1):14–17.

Ellis, A. M. and G.W. Hayes 2009. Assessing the efficacy of a product containing *Bacillus thuringiensis* applied to honey bee (Hymenoptera: Apidae)

foundation as a control for *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Entomological Science* 44(2):158-163.

Falah, A.S. ,S.M. Mohammed and H.Majeed 2017. Evaluate The Efficiency of Ozone Gas to control adult and larvae of the Greater wax moth,*Galleria Mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Agriculture and Veterinary Science* 12 :48-50.

Fries, I. 2010. *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology* 103: 578-580.

Gannon, B. , G. Le Patourel and R. Young 2001. Effect of carbon dioxide on the Oriental cockroach, *Blatta orientalis*. *Medical Veterinary. Entomology* 15: 67-68

Gillespie, J. P., M.R.Kanost and T. Trenczek 1997. Biological mediators of insect immunity. *Annual Review of Entomology* 42:642-643.

Godfray, H.C.J. 1994. *Parasitoids–Behavioural and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press, Princeton, 488-489.

Goodman, R. D., P. Williams, B. P. Oldroyd and J. Hoffman 1990. Studies on the use of phosphine gas for the control of greater wax moth (*Galleria mellonella*) in stored honey bee comb. *American Bee Journal* 130: 474–478.

Greatti, M. and M. D' Agaro 1992. Control of *Galleria mellonella* and *Achroia grisella* with carbon dioxide. *Apicalture Moderno* 83(4):126-128.

Gunashekar, N. and S. Rajendran 2005. Toxicity of carbon dioxide to drug store beetle *Stegobium paniceum* and cigarette beetle *Lasioderma serricorne*. *Journal of Stored Product Research* 41(3):283-294.

Hadley, N.R. 1994. Ventilatory patterns and respiratory transpiration in adult terrestrial insects. *Physiological Zoology* 67:187–188.

Han, S. and J. Konieczny 2000. Responses of whitefly and poinsettias to insecticidal controlled atmospheres. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125:516–517.

Hanumanthaswamy, B.C., H. M. Venkatesh and V. Nagaraja 2009. Influence of different species of honey bee combs on the life stages and biological parameters of greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Journal of Agricultural Science* 22:670-671.

Hanumanthaswamy, B.C. 2000. Natural Enemies of Honey Bees with Special Reference to Bio Ecology and Management of Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*, Pyralidae: Lepidoptera. Ph.D Thesis. India:82-85.

- Hanumanthaswamy, B.C. 2008. Effect of colony strengths and weather factors on the incidence of greater wax moth (*Galleria mellonella* L.). *Asian Journal of Biological Sciences*.3(1):81-83.
- Hood, M. 2010. Wax moth IPM. *Bee Culture magazine* 138:10-11.
- Hood, W. M., P.M. Horton and W. Mccreadie 2003. Field evaluation of the red imported fire ant Hymenoptera: Formicidae for the control of wax moths (Lepidoptera: Pyralidae) in stored honey bee comb. *Journal of Agricultural and Urban Entomology* 20(2):99-103.
- Hovenden, M.J. and A.L. Williams 2010. The impacts of rising CO₂ concentrations on Australian terrestrial species and ecosystems. *Australian Ecology* 35:665-684.
- Huda, E., E.Tarek, E.Abd and N. Zakri 2008. Management of the greater wax moth *Galleria mellonella* with neem azal, in the laboratory and under semi-field conditions.
- Izhar, U., M. Saleem and M. Ahmed, 2008. Effect of neem (*Azadirachta indica*) seed extracts against greater wax moth (*Galleria mellonella*) larvae. *Pakistan Entomologist* 30:137-140.
- Jafari, R., S., Goldasteh and S. Afrogheh 2010. Control of the wax moth *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) by the male sterile technique (MST). *Archives of Biological Sciences* 62 (2) : 311-313
- James, R. 2011. Potential of ozone as a fumigant to control pests in honey bee (Hymenoptera: Apidae) hives. *Journal of Economic Entomology*104: 356-359.
- Jindra, M. and F. Sehnal 1990. Linkage between diet humidity, metabolic water production and heat dissipation in the larvae of *Galleria mellonella*. *Insect Biochemistry* 20(2):389–395.
- Jones, G., A., Barabas, W. Elliot and S. Parsons 2002. Female greater wax moths reduce sexual display behaviour in relation to the potential risk of predation by echolocating bats. *Behavioural Ecology* 13(3):379-380.
- Karise, R., A. Kuusik and M. Mand 2010. Gas exchange patterns of bumble bee foragers before and after exposing to lowered temperature. *Journal of insect Physiology* 56(2):529–535.
- Kestler, P. 1991. Cyclic CO₂ release as a physiological stress indicator in insects. *Comparative Biochemistry and Physiology*100 209–211.
- Killiup, D. and G. Brown 1991. Evaluation of formulation of *Bacillus thuringiensis* against greater wax moth in stored honey combs. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 31(5):709-711.

Kopacek, P., C. Weise and P. Gotz 1995. The prophenoloxidase from the wax moth *Galleria mellonella*: Purification and characterization of the proenzyme. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 25:1090-1091.

Krishnamurthy, T.S. , E.C. Spratt and C.H. Bell 1986. The toxicity of carbon dioxide to adult beetles in low oxygen atmospheres. *Journal of Stored Products Research* 22:149–151.

Kristensen, N.P. 1999. Lepidoptera: moths and butterflies. *Evolution, Systematics and Biogeography. Arthropoda: Insecta* 1:491-492.

Kumari, S. and M. Jha 2013. Efficacy of non-chemical method in management of wax moth infestation of *Apis mellifera*. *Bulletin of Pure and Applied Sciences* 32(1):37- 44.

Kumar, Y. and S. Yadav 2018. Effectiveness of different plant extracts against *Galleria mellonella* larvae in laboratory. *Archives of Agriculture and Environmental Science* 3(1) 66-67.

Kuusik, A., L. Metspalu, K. Hiiesaar, A.Kogerman and U. Tartes 1993. Changes in muscular and respiratory activity patterns in yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) and greater wax moth (*Galleria mellonella*) pupae caused by some plant extracts, juvenile hormone analogues and pyrethroid. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences* 42(2):94–107.

Kuusik, A., M. Harak, K. Hiiesaar, L.Metspalu and U.Tartes 1996. Different types of external gas exchange found in pupae of greater wax moth *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *European Journal of Entomology* 93:23–35.

Kwadha, C.A., O. George, N. Paul, K. Suresh, A. Ayuka and T. Fombong 2017. Bionomics and biometrics of Greater wax moth *Galleria mellonella* Linnaeus. *Asian Journal of Bio Science*. 3 (1) : 45-51.

Lewis, E.E., J. Campbell, C. Griffin, H. Kaya and A. Peters 2006. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biological Control* 38:78–79.

Mahmoud, R. S. 2008. Effect of Gamma Radiation and Entomopathogenic Nematodes on Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*. Msc thesis. Ain Shams University.

Marston, N.L., B. Cambell and P. Boldt 1975. Mass producing eggs of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Agricultural Research Service, US Department of Agriculture Technical Bulletin*:15-18.

Mueller, D.K. 1994. A new method of using low levels of phosphine in combination with heat and carbon dioxide. *Fumigants and pheromones* 33:4-15.

- Navarro, S. A. and Friedlander 1975. The effect of carbon dioxide anesthesia on the lactate and pyruvate levels in the hemolymph of *Epehestia cautella* pupae. *Comparative Biochemistry and Physiology* 50:187–189.
- Nelson, R.A. and C.D. Brister 1977. The Greater wax moth behavior of larvae. *Annals of the Entomological Society of America* 72: 811-813.
- Ofuya, T.I. and C. Reichmuth 2002. Effect of relative humidity on susceptibility of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) to two modified atmospheres. *Journal of Stored Products Research* 38:143–146.
- Omar, E. E., M.Y. Hashem and I. Ismail 1995. Effect of carbon dioxide in air on different stages & of the rice weevil *Sitophilus oryzae* (Curculionidae: Coleoptera). *Egyptian Journal of Agricultural Research* 73:125-126.
- Ozgor, E., I. Celebier and M. Ulusoy 2017. First detection of *Nosema ceranae* and *Nosema Apis* in greater wax moth *Galleria mellonella*. Cyprus International University.
- Popolizio, E.R. and L.A. Pailhe 1973. Storing combs in wax-moth-safe storage rooms. *Proceedings of the 24th International Apicultural Congress* 382-383.
- Pauli, G.A. 1932. Heat kills wax-moth larvae. *Gleanings in Bee Culture* 60(2):97-98.
- Ramarao, N. C. Nielsen-Leroux and D. Lereclus 2012. The Insect *Galleria mellonella* as a Powerful Infection Model to Investigate Bacterial Pathogenesis. *Journal of Visualized Experiments* 70.
- Roth, S., E. P. McDonald and R.L. Lindroth 1997. Atmospheric CO₂ and soil water availability: Consequences for tree-insect interactions. *Canadian Journal of Forest Research* 27.
- Sanford, M.T. 2003. Controlling Wax moth. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Shimanuki, H. 1981. Controlling the greater wax moth, a pest of honey combs. United States Department of Agriculture Farmers' Bulletin 2217, Washington, 12.
- Shimanuki, H. and D. A. Knox 1997. Summary of Control Methods. In *Honey Bee Pests, Predators, & Disease*, 3rd Edition. 505-507.
- Soderstrom, E.L., D.,G., Brandl and B. Mackey 1991. Responses of *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) adults and eggs to oxygen deficient or carbon dioxide enriched atmospheres. *Journal of Stored Products Research* 27:95–101.

Stange, G.S. and Stowe 1999. Carbon dioxide sensing structures in terrestrial arthropods. *Microscopy Research and Technique* 47(3): 416–427.

Stoelting, R.K, and R.D. Miller 1987. Μετάφραση Σ. Καμβύση-Δέα: Αναισθησιολογικός εξοπλισμός και κυκλώματα αναισθησίας, Βασικές Αρχές Αναισθησιολογίας, Αθήνα: Εκδόσεις Λίτσας 165-168.

Stone, G.C. and H. Koopowitz 1974. Mechanisms of action of CO₂ on the visual response of *Galleria mellonella*, *Journal of insect Physiology* 20:493-496.

Spangler, H.G. 1985. Sound production and communication by the greater wax moth (Lepidoptera: Pyralidae). *Annals of the Entomological Society of America* 78(1):54-61.

Suss, L. and D.P. Locatelli 1994. Effectiveness of carbon dioxide under reduced pressure against some insects infesting dried fruit. In: *Stored Product Protection: Proceeding of the 6th International Working Conference on Stored-Product Protection*. Australia.199–200.

Taredahalli, N., N. S. Bhat, V. Kumar and M.S. Jahkar 2013. A biological approach for management of greater wax moth, *Galleria mellonella* using *Bacillus thuringiensis* Department of Entomology, University of Agricultural Sciences, India. *Journal of Biological Control* 27 (4):331-333.

Tartes, U., A. Kuusik and A. Vanatoa 1999. Heartbeat and body movement: roles in gas exchange in *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) pupae. *International Journal of Insect Morphology* 28:145–149.

UNEP. 1992. Methyl Bromide, Its Atmospheric Science, Technology and Economics. Montreal Protocol Assessment Supplement. Nairobi 41.

U.S. Environmental Protection Agency 1999. Alternative disinfectants and oxidants guidance manual.

Van engelsdorp, D. and M.D. Meixner 2010. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology* 103:93-95.

Vandenberg, J. and H. Shimanuki 1990. Application methods for *Bacillus thuringiensis* used to control larvae of the greater wax moth (Lepidoptera: Pyralidae) on stored beeswax combs. *Journal of Economic Entomology* 83: 766-771.

Verma, S. K.1995. Studies on the control of greater wax moth, *G. mellonella* in *Apis cerana* colonies with biological insecticide, Dipel. *Indian bee Journal* 57:121-123.

Viraktamath, S. 2005. Efficacy of commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* against the larvae of the greater wax moth, *Galleria mellonella* Indian Bee Journal 67: 72-77.

Woodman, J. V., Haritos and P. Cooper 2008. Effects of phosphine on the nervous regulation of gas exchange in *Periplaneta americana*. Comparative Biochemistry and physiology 147: 275–277.

White, N.D. and D.S.Jayas 1991. Control of insects and mites with carbon dioxide in wheat stored at cool temperatures in non airtight bins. Journal of Economic Entomology 84:1940-1942.

Wilson, W. T. 1965. Wax moth and its control, American Bee Journal 105(10): 372-373.

Wilson, R.S. and P.T. Starks 2008. The ontogeny of immunity: Development of innate immune strength in the honey bee (*Apis mellifera*). Journal of Insect Physiology 54:15-16.

Yacobson, B., Y. Slavezky, S. Navarro and E. Donahaye 1990. Application of carbon dioxide in portable fumigation chambers to control bee wax moths. International Federation of Beekeepers Association 192-193.

Yacobson, B., S Navarro, E. Donahaye, J. Azrielli, Y. Sloyevsky and H. Ephrati 1997. Control of Beeswax moths using carbon dioxide in flexible plastic and metal structure. International Conference. Controlled atmosphere and fumigation in grain storages. Cyprus. 169-174.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.

Καραζαφείρης Ε., Τανανάκη Χ., Θρασυβούλου Α. (2003). Υπολείμματα παρασιτοκτόνων στα ελληνικά μέλια. 10ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο.

Καραζαφείρης Ε., Τανανάκη Χ., Μενκίσογλου Ο., Θρασυβούλου Α. (2004). Υπολείμματα παρασιτοκτόνων ουσιών στο μέλι, Πρακτικά 3ου Πανελληνίου Συμποσίου Υγιεινής & Τεχνολογίας Τροφίμων. 366 –368.

Σταμόπουλος, Κ. Δ., 1999. Έντομα αποθηκών και μεγάλων καλλιεργειών και λαχανικών. Εκδόσεις ΖΗΤΗ, Θεσσαλονίκη 1999.

Τανανάκη, Χ., Α. Θρασυβούλου, Σ.Γούναρη, 2004. Επιβάρυνση του μελιού με ουσίες που χρησιμοποιούνται στην αποθήκη για προστασία από το *Galleria*

Τανανάκη Χ., Θρασυβούλου Α. (2007) Το πρόβλημα των υπολειμμάτων π-διχλωρο-βενζολίου στο ελληνικό μέλι κατά τα έτη 2003-2006. 3ο Επιστημονικό Συνέδριο Μελισσοκομίας – Σηροτροφίας Θεσσαλονίκη.

Χαριζάνης Π. 2017. Μέλισσα και Μελισσοκομική Τεχνική. Εκδόσεις Μελισσοκομική επιθεώρηση, Θεσσαλονίκη. 275 σελ.

ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ.

<http://www.epa.gov/pesticides/factsheets.US> Environmental Protection Agency 2007. Integrated Pest Management (IPM) and Food production.

<http://www.fao.com>. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

<http://www.ibra.org.uk>. International Bee Research association.

<http://www.plosone/Demographics> of the European apicultural industry. Dennis van engeldorp 2013.

<http://www.parc.gov.pk/NARC/narc.html>

<http://www.fao.org/docrep/x5042e/x5042E00.htm>. FAO plant production and protection, Vol. 54.

<http://www.agric.wa.gov.au/agency/pubns/farmnote/2000/f00697.htm>. Wax Moth and its Control. Department of Agriculture Western Australia.

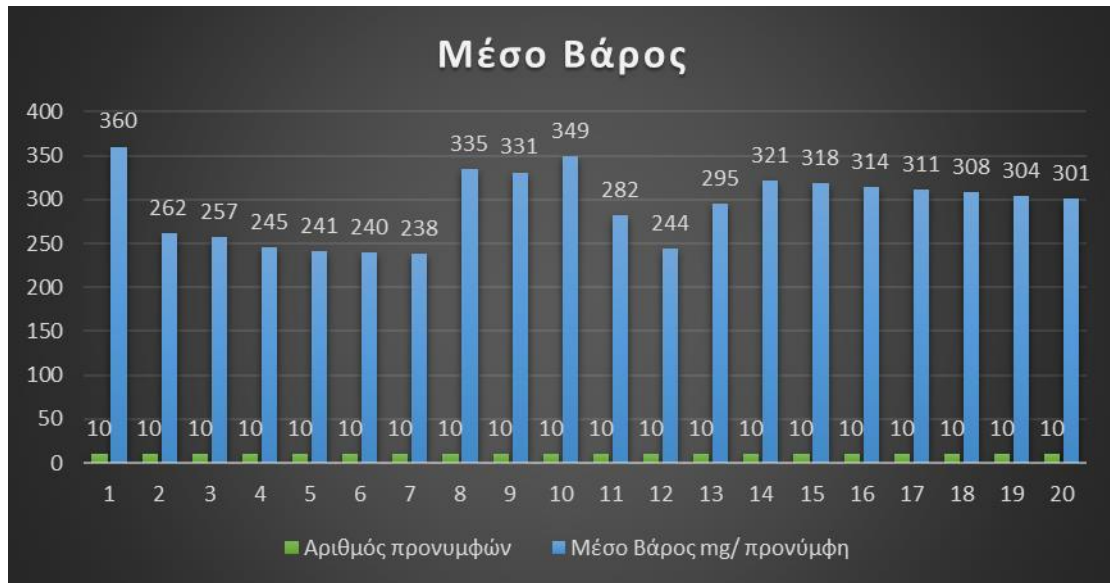
<http://www.europa.com>. Eu Food Fraud Network Coordinated Case. Adulteration of beeswax intended for honey production with stearin and paraffin.

<http://www> Directive 98/8/EC concerning the placing biocidal products on the market Inclusion of active substances 98/8/Carbon Dioxide.

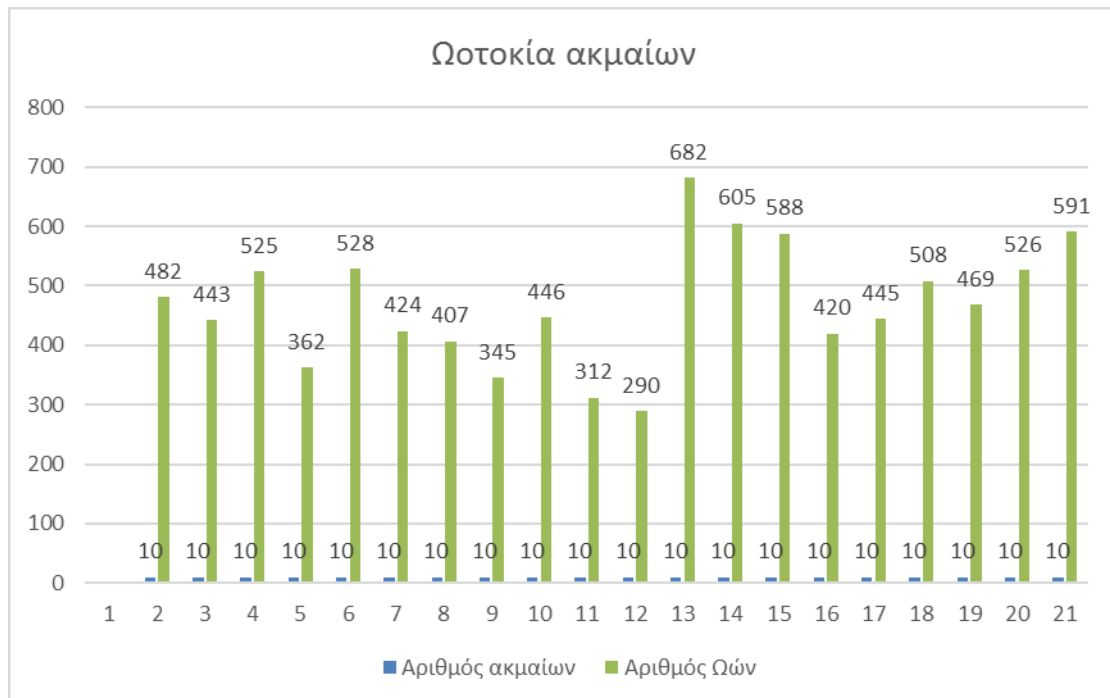
<http://www.maheu-maheu.com/Products/Fumigation-Bubble>

http://www.melinet.gr/item/Karazafeiris_ypoleimmata2.pdf. Καραζαφείρης Ε. Τανανάκη Χ. Υπολείμματα στο μέλι και σε άλλα προϊόντα κυψέλης.

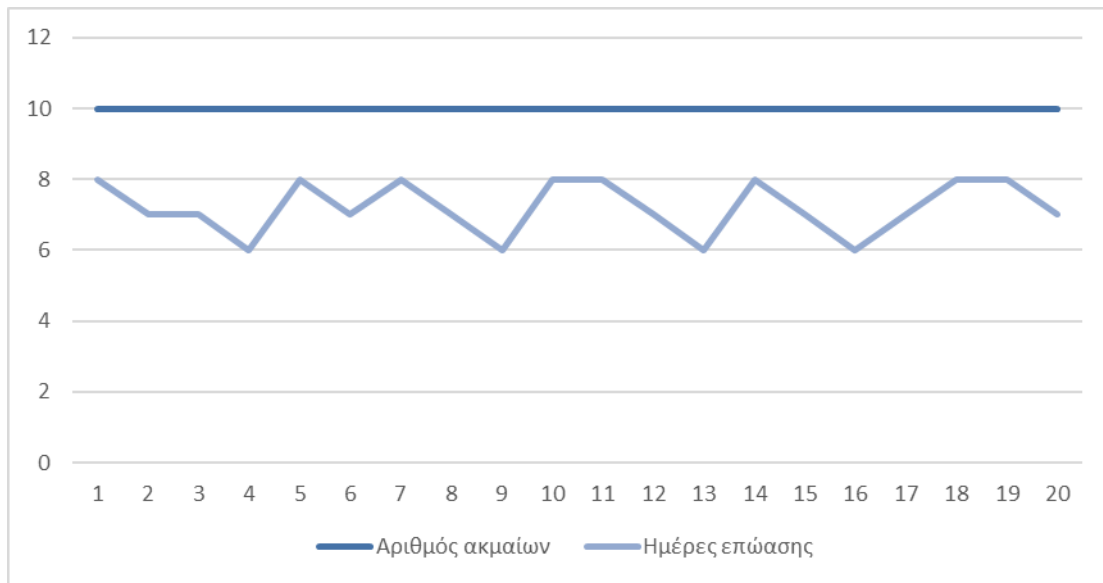
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.



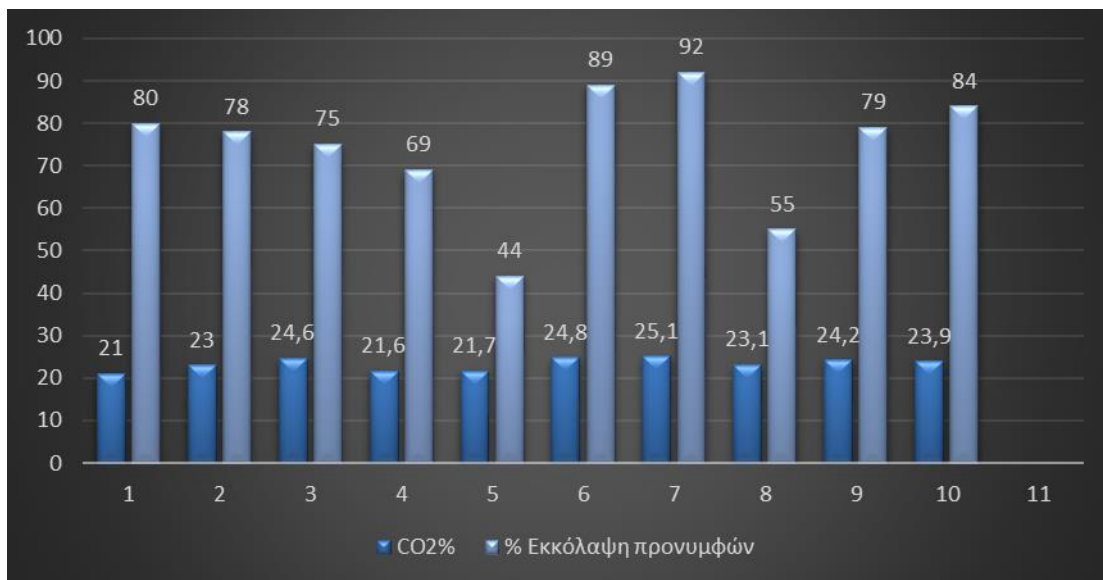
1. Πεπτικότητα και αντίστοιχο μέσο βάρος προνυμφών στην τελευταία ηλικία.



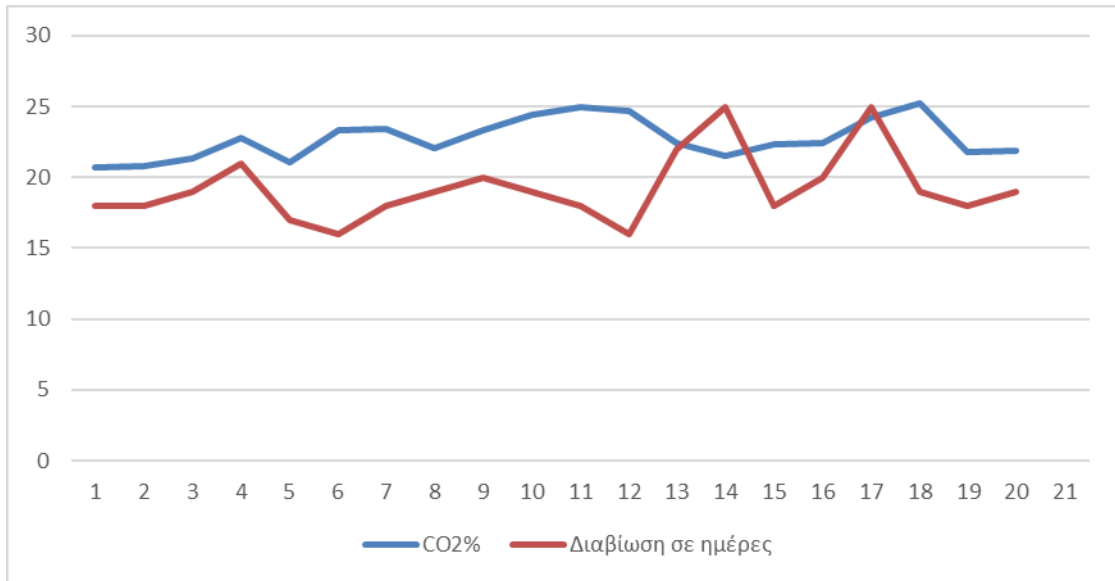
2. Ωοτοκία ακμαίων.



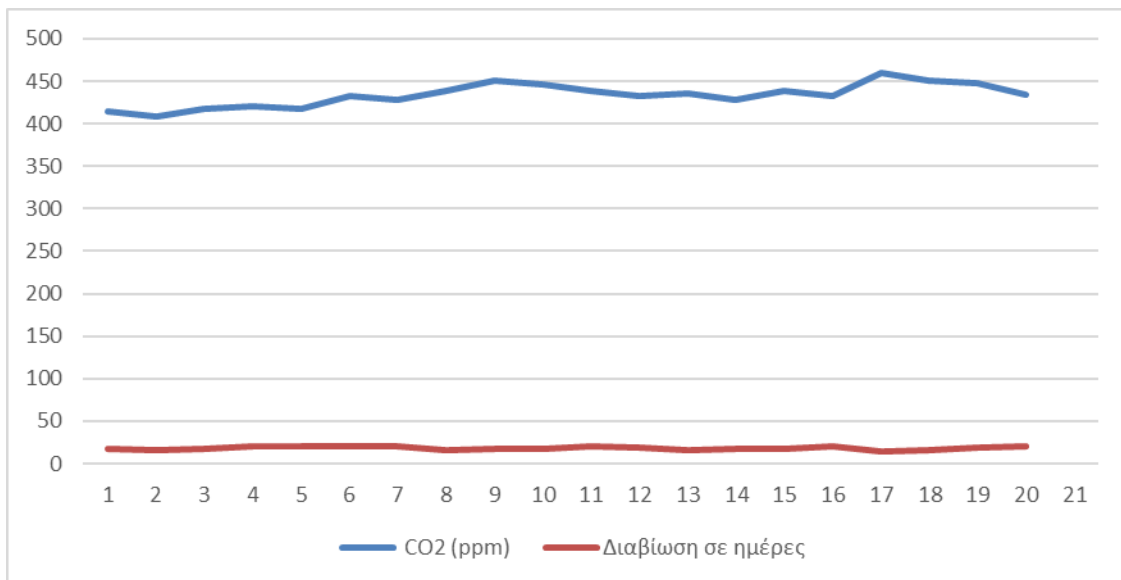
3. Χρόνος επώασης αυγών.



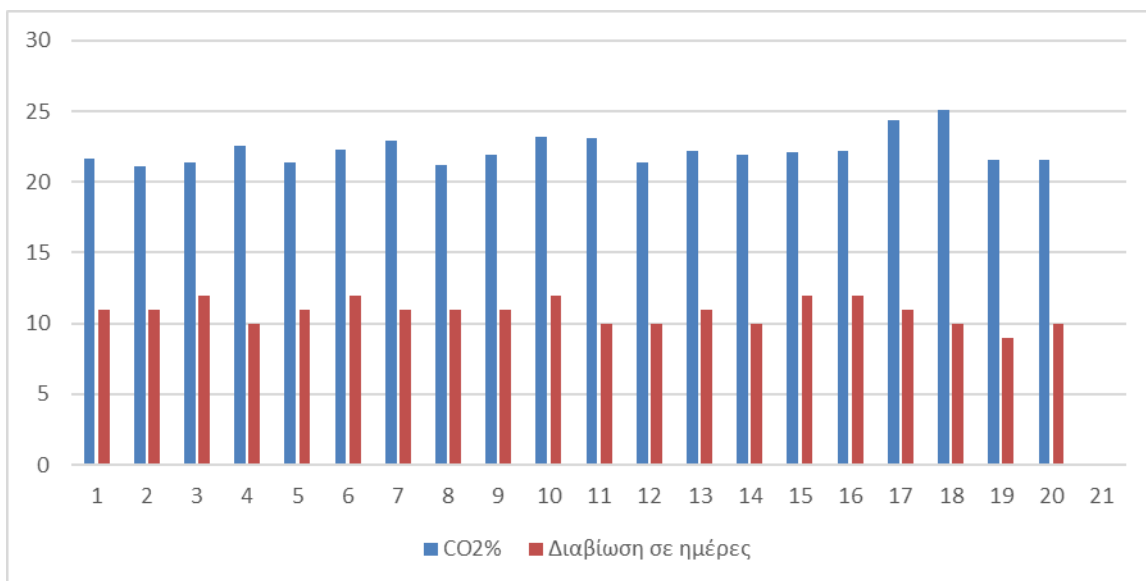
4. Βιωσιμότητα ωών στο μάρτυρα, σε φυσιολογικές συνθήκες.



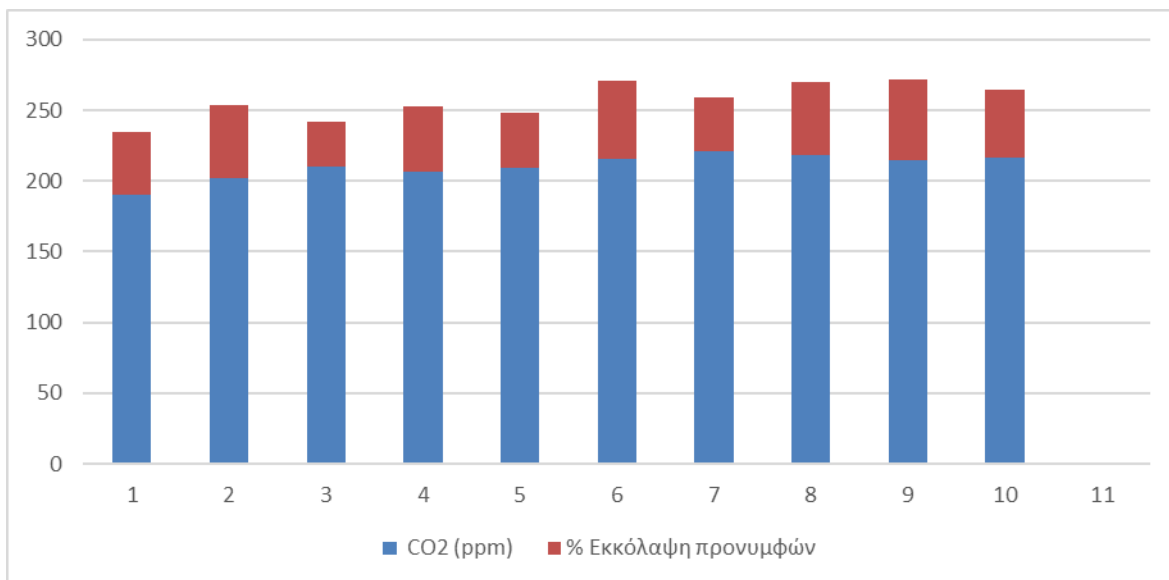
5. Βιωσιμότητα προνυμφών διαφόρων ηλικιών σε φυσιολογικές συνθήκες, παρουσία τροφής.



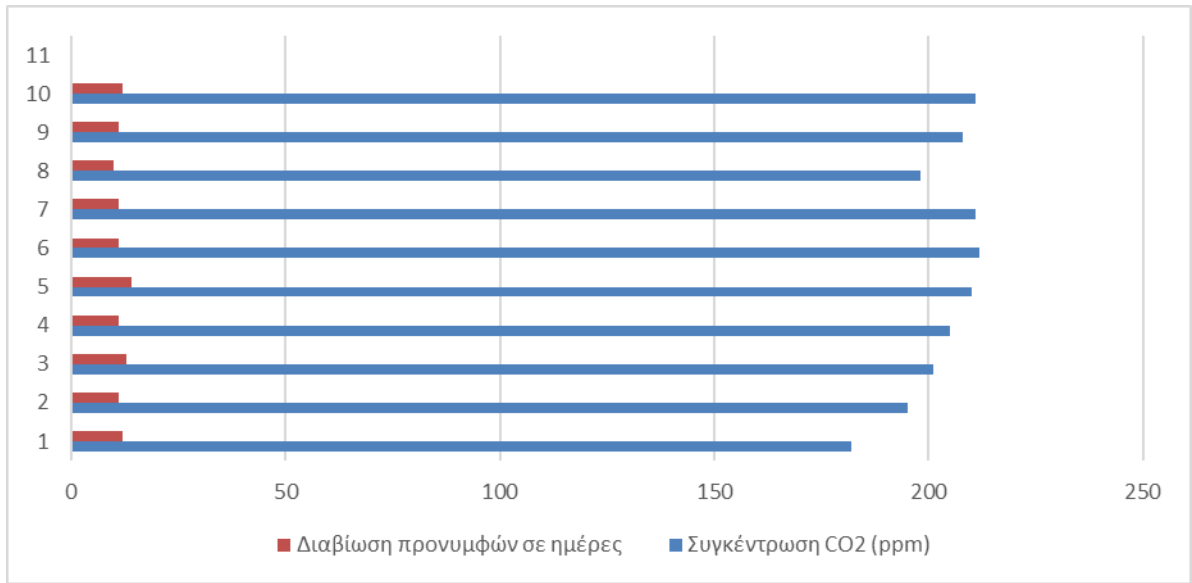
6 . Βιωσιμότητα νυμφών σε φυσιολογικές συνθήκες.



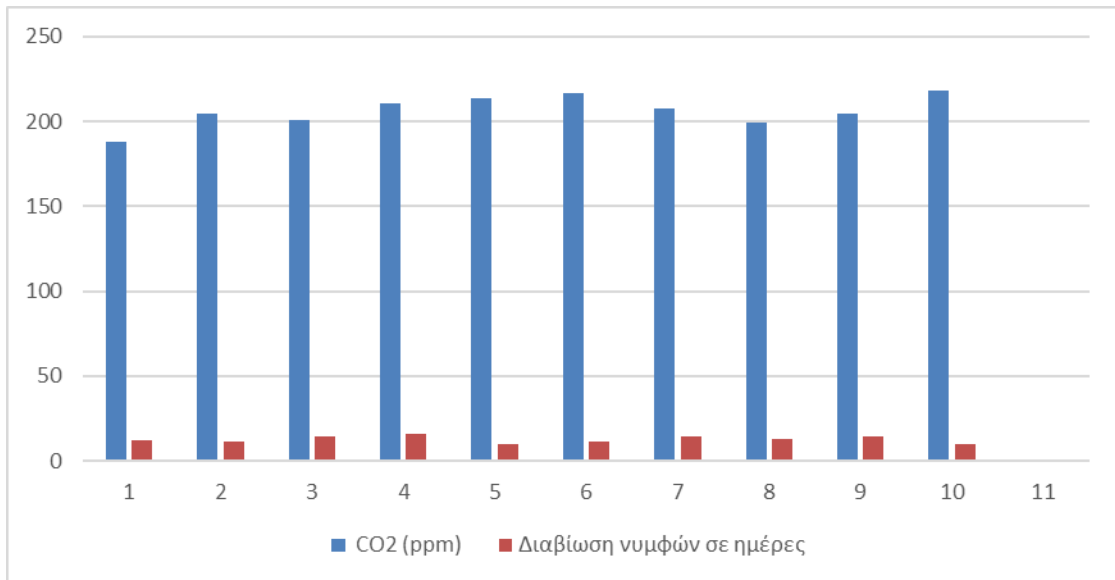
7. Βιωσιμότητα ακμαίων σε φυσιολογικές συνθήκες.



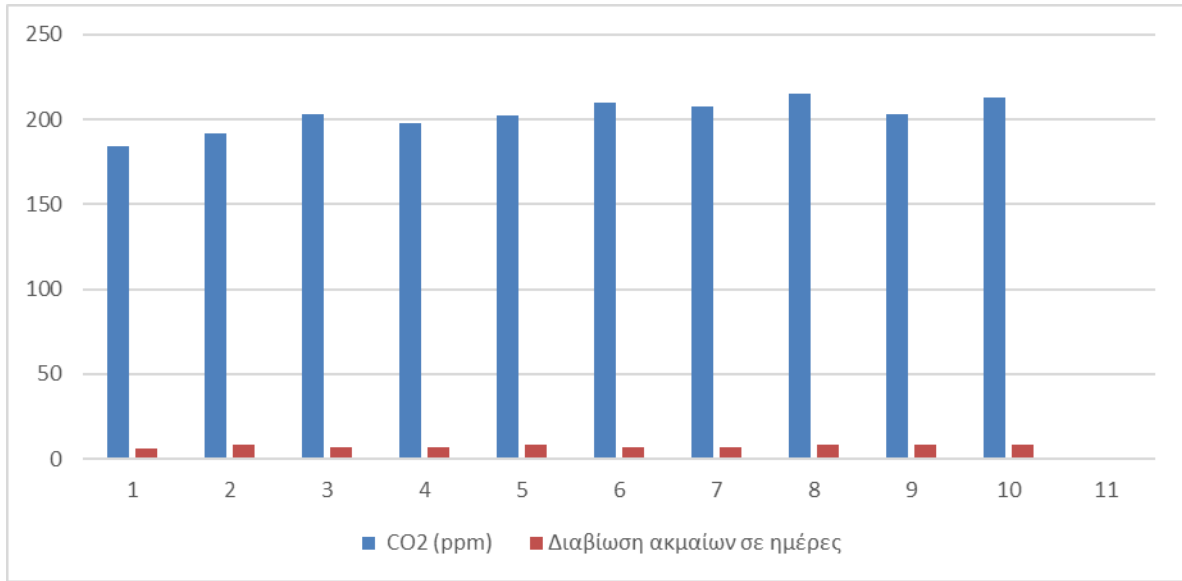
8. Βιωσιμότητα ωών σε υποξικές συνθήκες.



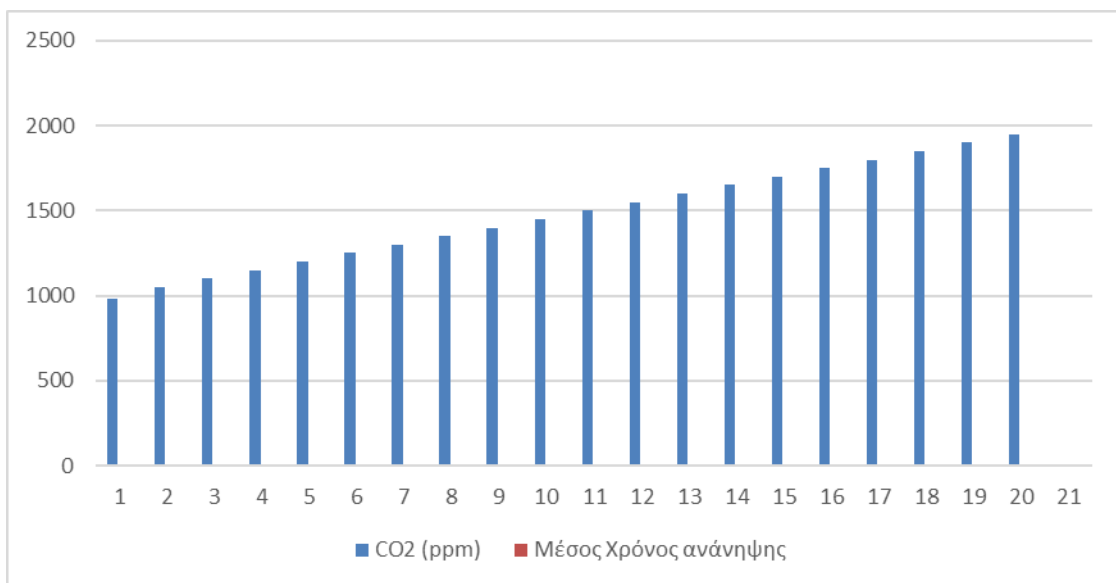
9. Βιωσιμότητα προνυμφών σε υποξικές συνθήκες.



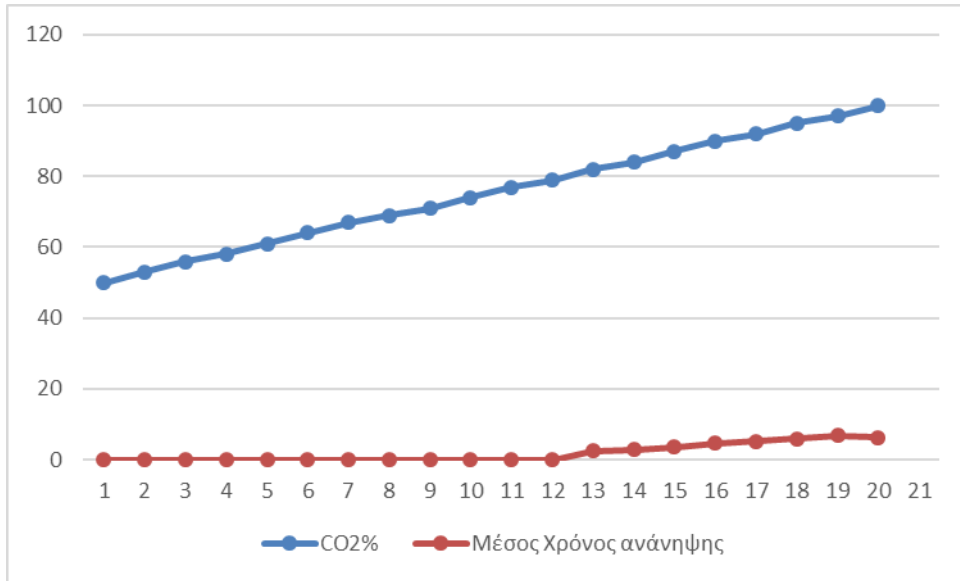
10. Βιωσιμότητα νυμφών σε υποξικές συνθήκες.



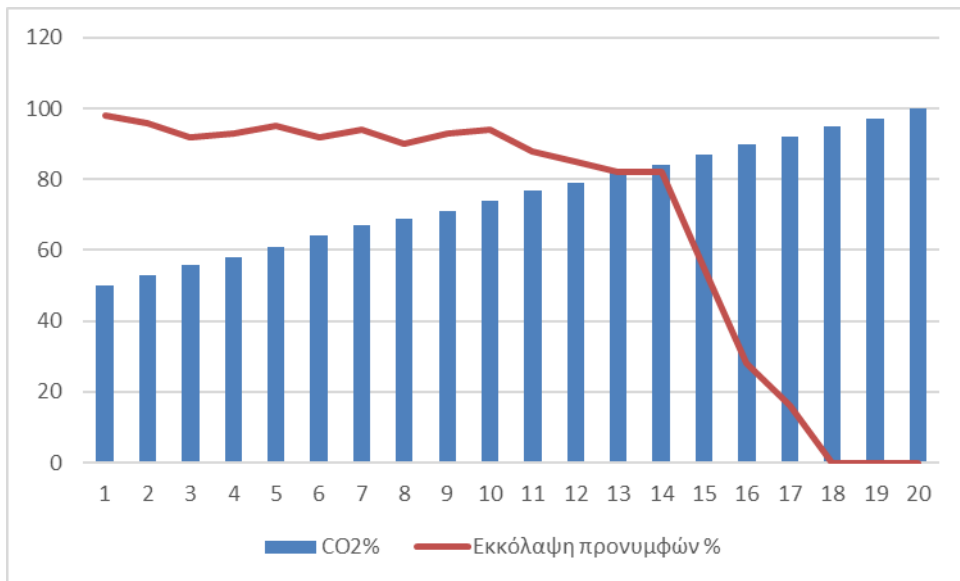
11. Βιωσιμότητα ακμαίων σε υποξικές συνθήκες.



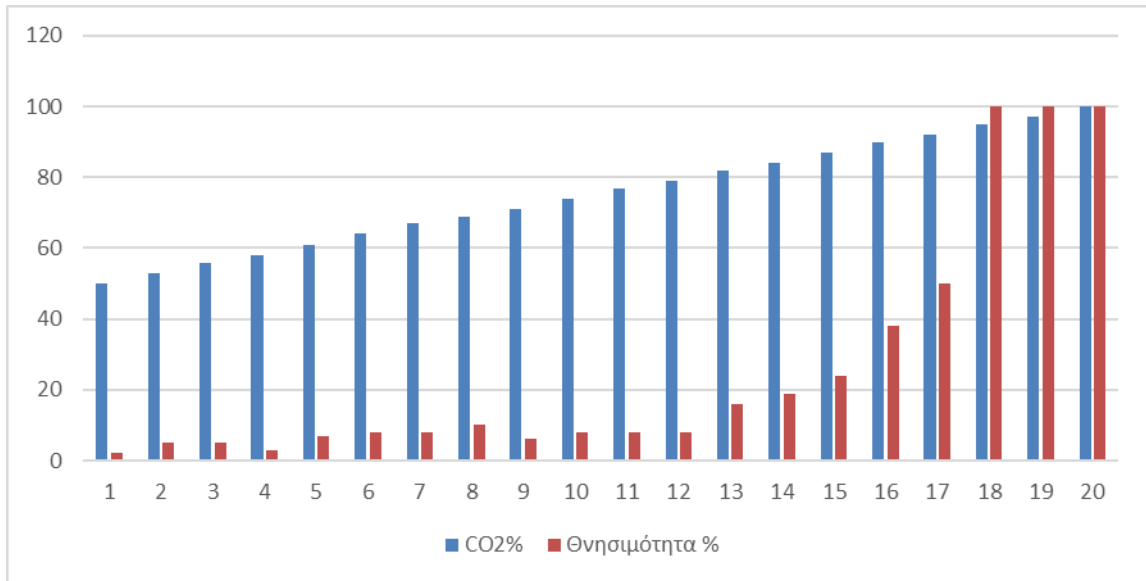
12. Αναισθησία προνυμφών με προσθήκη CO₂.



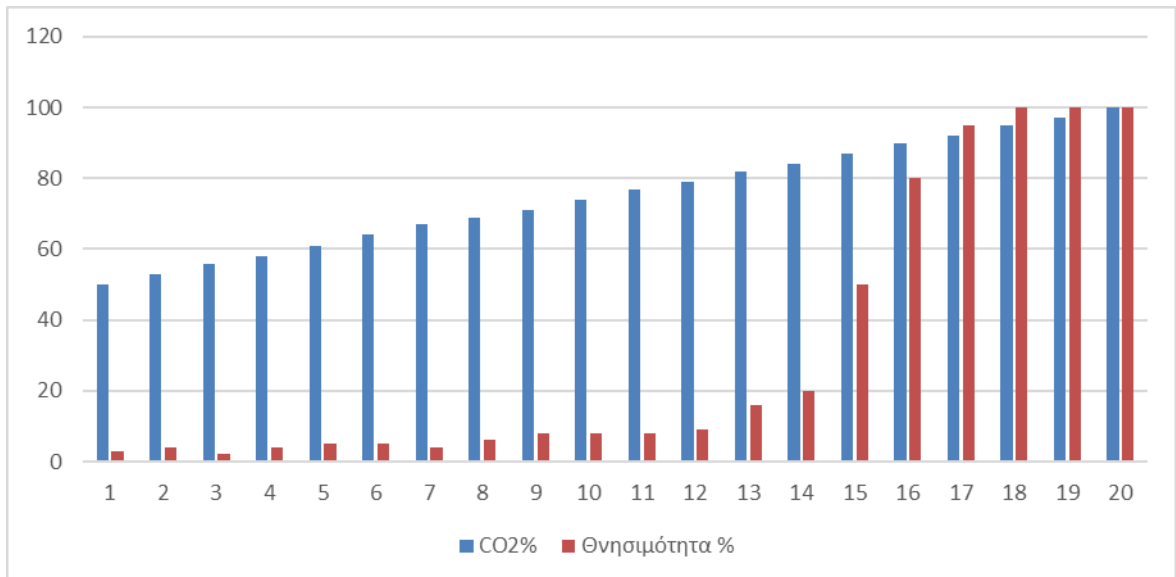
13. Αναισθησία ακμαίων με προσθήκη CO₂.



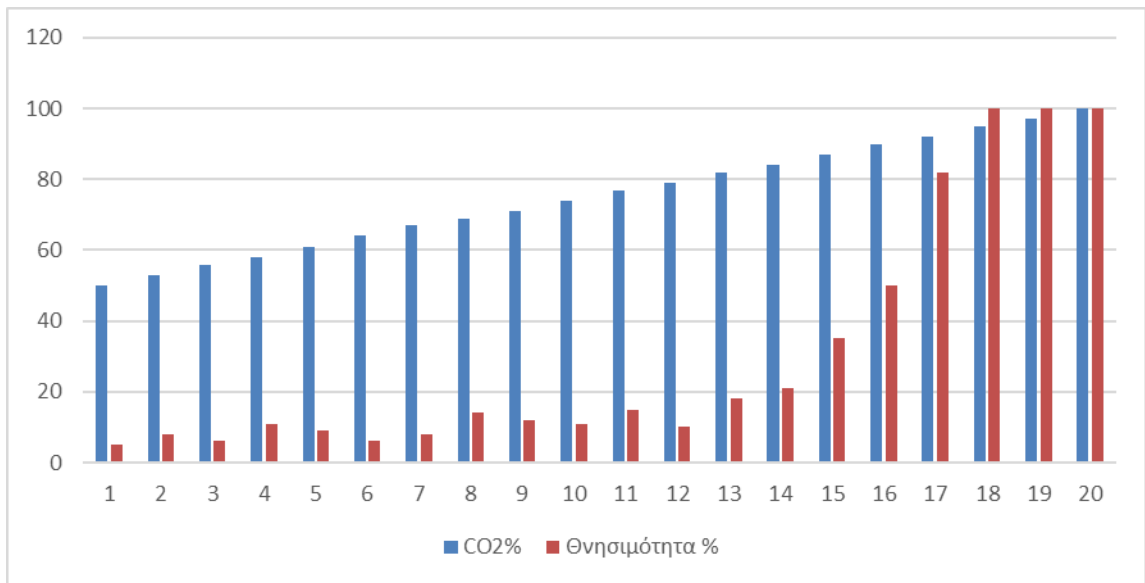
14. Βιωσιμότητα ωών με προσθήκη CO₂.



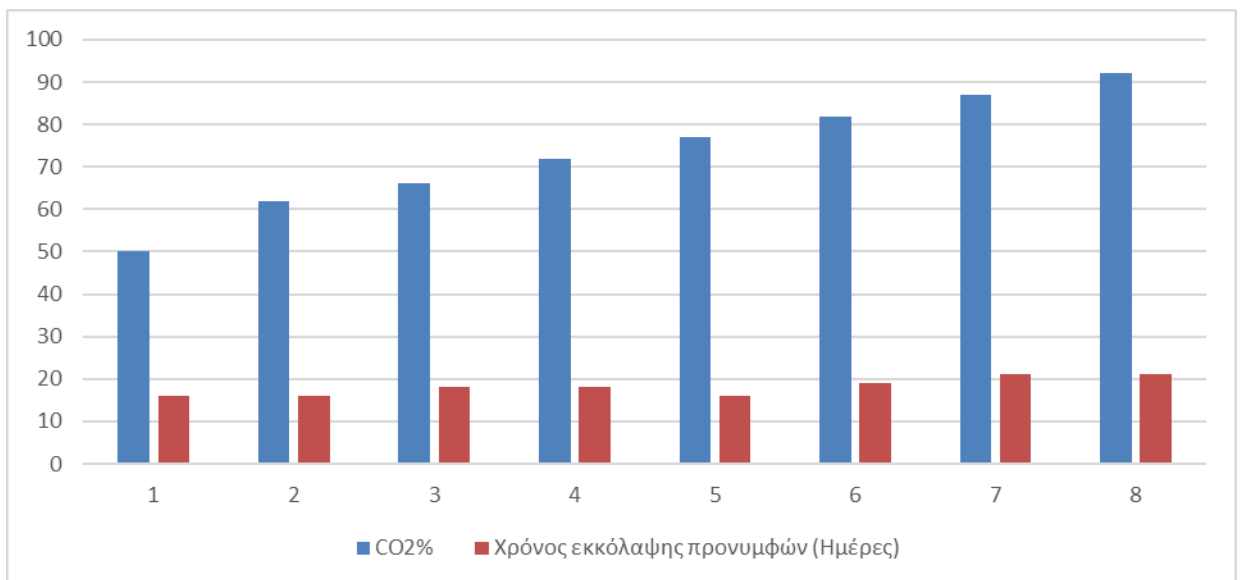
15. Θνησιμότητα προνυμφών με προσθήκη CO₂.



16. Θνησιμότητα νυμφών με προσθήκη CO₂.



17. Θνησιμότητα ακμαίων με προσθήκη CO₂.



18. Χρόνος επώασης αυγών μετά την επέμβαση αναλόγως συγκέντρωσης CO₂.