



ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ,
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ



<http://www.ap.teithe.gr/>

ΣΥΡΟΠΛΗ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΘΕΜΑ: «ΤΕΧΝΗΤΗ ΣΠΕΡΜΑΤΕΓΧΥΣΗ ΜΕΛΙΣΣΑΣ»



ΕΠΙΒΛΕΠΟΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΕΛΕΥΘΕΡΙΑΔΟΥ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2017

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.	ΠΡΟΛΟΓΟΣ	4
2.1	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
2.2	ABSTRACT	7
3.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
3.1	Οι μέλισσες	8
3.2	Η μελισσοκομία στην Ελλάδα	8
4.	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΜΕΛΙΣΣΑΣ	10
4.1	Βιολογία της μέλισσας	10
4.2	Φυσιολογία της μέλισσας	12
5.	ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ	16
5.1	Η εργάτρια	16
5.2	Ο κηφήνας	16
5.3	Η βασίλισσα	16
5.4	Γενετική βελτίωση με επιλογή	17
6.	ΤΕΧΝΗΤΗ ΣΠΕΡΜΑΤΕΓΧΥΣΗ	19
6.1	Γενικά στοιχεία	19
6.2	Όργανα και εργαλεία	20
6.3	Συσκευή τεχνητής σπερματέγχυσης	21
6.4	Εκτροφή κηφήνων-Συλλογή σπέρματος	22
6.5	Η περιποίηση των βασιλισσών πριν και μετά τη σπερματέγχυση	25
6.6	Η διαδικασία της τεχνητής σπερματέγχυσης	25
6.7	Παράγοντες που επηρεάζουν τα αποτελέσματα της τεχνητής σπερματέγχυσης	28
6.8	Αίτια που προκαλούν τον θάνατο των βασιλισσών κατά την τεχνητή σπερματέγχυση ..	29
6.9	Πλεονεκτήματα της τεχνητής σπερματέγχυσης	29
6.10	Μειονεκτήματα της τεχνητής σπερματέγχυσης	30
7.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	31
8.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	32

1. ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εργασία αυτή διενεργήθηκε στο Τμήμα Ζωικής Παραγωγής της Σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης στα πλαίσια της πτυχιακής εργασίας. Το θέμα της εργασίας είναι «Τεχνητή σπερματέγχυση μέλισσας», με στόχο την περιγραφή της διαδικασίας καθώς και αναφορά στα πλεονεκτήματα και στα μειονεκτήματα αυτής.

Σ αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω τους επιβλέποντες καθηγητές μου την κ. Ελευθεριάδου Αναστασία και τον κ. Γεωργιάδη Γεώργιο για το έναυσμα που μου έδωσαν να ασχοληθώ με την έρευνα πάνω στο συγκεκριμένο θέμα και για την καθοδήγηση τους. Ευχαριστίες επίσης οφείλω στην κ. Φανή Χατζήνα και στον κ. Λεωνίδα Χαριστό του ινστιτούτου Δήμητρα, για τη βοήθειά τους και τις πολύ σημαντικές πληροφορίες που μου έδωσαν. Καθώς επίσης και την οικογένεια μου η οποία με στήριξε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας ψυχολογικά αλλά και με όποιο τρόπο μπορούσαν.

Συροπλή Αναστασία

Δεκέμβριος 2017

2. 1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Συροπλή Α., 2017. Τεχνητή σπερματέγχυση μέλισσας. Εργασία στο πλαίσιο της πτυχιακής, Τμήμα Ζωικής Παραγωγής, Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης. Θεσσαλονίκη, σελ. 1–33.

Οι μέλισσες είναι τα τέλεια έντομα που δουλεύουν στις δικές τους κοινωνίες, τα μελίσσια, προς όφελος του ανθρώπου και του περιβάλλοντος. Ένα μελίσσι αποτελείται από τρία άτομα, εργάτρια, κηφήνα και βασίλισσα. Κάθε άτομο έχει διαφορετική θέση και εργασία στην κοινωνία τους. Η εργάτρια υπάρχει για να φροντίζει τη βασίλισσα και να παράγει μέλι, ο κηφήνας για να γονιμοποιεί τη βασίλισσα και η βασίλισσα για να γεννάει τα αυγά.

Η μέλισσα είναι ένα τέλειο έντομο εσωτερικά αλλά και εξωτερικά. Ως προς την εμφάνισή της είναι όπως όλα τα πτερωτά έντομα. Αποτελούνται από κεφάλι, θώρακα και κοιλιά. Εσωτερικά τα όργανά της λειτουργούν άψογα με σκοπό την αναπαραγωγή και την μελιτοπαραγωγή.

Η κοινωνία των μελισσών και η τελειότητα αυτού του εντόμου, έδωσαν το έναυσμα σε πολλούς επιστήμονες να ερευνήσουν την εξέλιξή τους. Δηλαδή, θέλησαν να εξελίξουν τα άτομα της κοινωνίας σχετικά με τις ικανότητές τους στην αναπαραγωγή, αλλά και στην παραγωγή μελιού. Για να γίνει η εξέλιξη αυτή όμως, οι συζεύξεις της βασίλισσας πρέπει να γίνονται με κηφήνες, τους οποίους επιλέγουν οι ίδιοι οι ερευνητές. Επομένως, για να επιτευχθούν οι ελεγχόμενες συζεύξεις, ο μόνος τρόπος που βρέθηκε, αναπτύχθηκε και χρησιμοποιείται μέχρι και σήμερα είναι η τεχνητή γονιμοποίηση. Παρακάτω αναπτύσσεται η μέθοδος, τα όργανα και εργαλεία που χρειάζονται, καθώς και τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα της τεχνικής.

2.2. ABSTRACT

Syropli, Anastasia 2017. Artificial insemination of bee. Assignment of thesis conducted for the Department of Animal Production, Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki. Thessaloniki, Greece, pp. 1–33.

Honeybees are ideal insects (hymenoptera), they live and work in a beehive. Honeybees work for the benefits of the people with two different ways. They produce honey which has a lot of benefits for people's health while they help with the pollination of different species of plants. In each beehive there are three different kinds of honeybees: the drone, the worker and the queen. The queen honeybee is the only who can reproduction the species.

The importance of the species of honeybee makes the scientists to study them. Scientists study the biology and the physiology of the species while great importance has the development of them.

The only way for a certain reproduction is the artificial insemination. The aim of this study is the procedure of the artificial insemination and the research of the advantages and disadvantages of artificial insemination of queen bee.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Οι Μέλισσες

Οι μέλισσες είναι κοινωνικά έντομα του είδους *Apis mellifera* και ανήκουν στην τάξη των Υμενοπτέρων. Ζουν σε οικογένειες που αριθμούν συνήθως 50.000 άτομα και αποτελούνται από μία βασίλισσα, χιλιάδες εργάτριες και κηφίνες (αναλυτικότερα αναφέρονται παρακάτω) (melissokomia.com, 2017).

Τα έντομα αυτά απασχολούν σχεδόν από πάντα τον κόσμο και οι άνθρωποι στην Ευρώπη και ειδικότερα στην Ελλάδα, τα διαχειρίζονται εδώ και μερικές χιλιάδες χρόνια (Crane, 1999), η εκτροφή μελισσών ξεκινάει από την αρχαία Ελλάδα (Büchler, κ.α., 2013). Η συμβολή της μέλισσας στη ζωή των ανθρώπων είναι άμεση διότι συμβάλει στην ανθρώπινη διαίτα με το μέλι της, το οποίο εκτός από την ωραία του γεύση, έχει και πολλές ευεργετικές ιδιότητες για τον ανθρώπινο οργανισμό. Όμως η μέλισσα συμβάλει και έμμεσα, μέσω της επικονίασης, σε μεγάλο αριθμό καλλιεργειών αλλά και άγριων φυτών (Potts, κ.α., 2010).

Η σημαντικότητα της μέλισσας λοιπόν δημιούργησε την ανάγκη για τη διαχείρισή της και για τον σκοπό αυτό αναπτύχθηκε η επιστήμη της μελισσοκομίας. Η μελισσοκομία είναι ένας κλάδος εντομολογίας, που ασχολείται με τη μελέτη της ζωής της μέλισσας, τόσο θεωρητικά όσο και πρακτικά. Η μελέτη ξεκινά από τη βιολογία της μέλισσας μέχρι τη φροντίδα και την πλήρη εκμετάλλευση του εντόμου αυτού.

1.2. Η μελισσοκομία στην Ελλάδα

Η μελισσοκομία είναι ένας κλάδος της εντομολογίας που ασχολείται με τη μελέτη της ζωής της μέλισσας θεωρητικά αλλά και πρακτικά. Η μελέτη αυτή αρχίζει από τη βιολογία και την οικολογία της μέλισσας και καταλήγει στη φροντίδα και την πλήρη εκμετάλλευση του τέλειου αυτού εντόμου.

Από την αρχαιότητα μέχρι και σήμερα η μελισσοκομία αποτελεί για την Ελλάδα έναν παραδοσιακό κλάδο της αγροτικής οικονομίας. Οι τρόποι με τους οποίους η μελισσοκομία συμβάλει στην παραγωγή, φυτική και ζωική, της Ελλάδας είναι δύο. Ο άμεσος και ο έμμεσος τρόπος. Ο άμεσος τρόπος αφορά την ακαθάριστη αξία της παραγωγής η οποία καλύπτει το 2,45% της ζωικής παραγωγής, το 1,07% της φυτικής παραγωγής και το 0,74% της συνολικής ακαθάριστης αξίας της αγροτικής παραγωγής. Ο δεύτερος τρόπος αφορά την αύξηση της φυτικής παραγωγής με τη βοήθεια του σημαντικού ρόλου που έχει η μέλισσα στην επικονίαση των καλλιεργειών. Από αυτήν την δραστηριότητα της μέλισσας προκύπτουν γενικότερα οφέλη όπως, η παραγωγή φρούτων, καρπών

και σπόρων, η ποικιλότητα της αυτοφυούς βλάστησης, η διατήρηση της βιολογικής ισορροπίας και άλλα.

Η μελισσοκομία είναι από της λίγες ανθρώπινες οικονομικές δραστηριότητες η οποία όχι μόνο είναι φιλική προς το περιβάλλον, αλλά συντελεί και στην ορθολογική διαχείριση των φυσικών πόρων (Χαριζάνης, 2014).

Στην Ελλάδα σήμερα υπάρχουν 20.000 εγγεγραμμένοι μελισσοτρόφοι με 1.400.000 περίπου, κυψέλες. Το 39% από αυτούς έχει περισσότερα από 200 μελίσσια ο κάθε ένας, εφόσον είναι επαγγελματίας μελισσοκόμος, με αποτέλεσμα το σύνολο των κυψελών να φτάνει τις 700.000. Η Ελλάδα επίσης, βάση μιας νέας έρευνας, κατέχει την πρώτη θέση σε πυκνότητα μελισσιών ανά Km² (11,4 κυψέλες ανά Km²).

Η παραγωγή μελιού στη χώρα φτάνει τους 15.000 τόνους το χρόνο συνολικά, από τους οποίους εξάγονται οι 300 τόνοι, κυρίως στην Ευρώπη (Χατζήνα, 2017).

Λόγω της τελειότητας του εντόμου αυτού, οι επιστήμονες αλλά και οι ίδιοι οι μελισσοκόμοι θέλησαν να εξελίξουν τον τρόπο με τον οποίο αναπαράγονται οι μέλισσες ώστε να ελέγχουν τις συζεύξεις τους προς δικό τους όφελος. Ελέγχοντας τις συζεύξεις, μπορούν να διαλέξουν τα χαρακτηριστικά του κάθε κηφήνα που θα γονιμοποιήσει τη βασίλισσα, για να αναβαθμίσουν με αυτόν τον τρόπο τα μελίσσια τους. Μετά από πολλές προσπάθειες κατέληξαν στην καλύτερη μέθοδο ελέγχου, την τεχνητή γονιμοποίηση. Σκοπός της εργασίας αυτής λοιπόν, ξεκινώντας από κάποιες γενικές πληροφορίες για την βιολογία, την φυσιολογία και την αναπαραγωγή της μέλισσας, είναι να αναλύσουμε τους λόγους για τους οποίους γίνεται η διαδικασία της τεχνητής γονιμοποίησης της μέλισσας, καθώς επίσης και τον τρόπο με τον οποίο γίνεται, τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα αυτής όπως και να οδηγηθούμε σε κάποια χρήσιμα συμπεράσματα για τη διαδικασία.

2. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΜΕΛΙΣΣΑΣ

2.1. Βιολογία της μέλισσας

Η μέλισσα για να ολοκληρώσει την ανάπτυξή της και να γίνει ενήλικη περνά αρχικά από 3 στάδια: του αυγού, της προνύμφης και της νύμφης ή πλαγγόνας.

Η βασίλισσα γεννάει σε βασιλικά κελιά, σε εργάτικα κελιά ή σε κελιά κηφήνων. Τα αυγά που έχουν γονιμοποιηθεί αναπτύσσονται σε εργάτριες ή βασίλισσες ενώ τα αυγά που δεν έχουν γονιμοποιηθεί αναπτύσσονται σε κηφήνες. Όταν η μέλισσα βρίσκεται στο στάδιο της προνύμφης τρέφεται και γι' αυτό το λόγο σ' αυτό το στάδιο αναπτύσσεται πολύ γρήγορα και προσλαμβάνει μεγάλο βάρος.

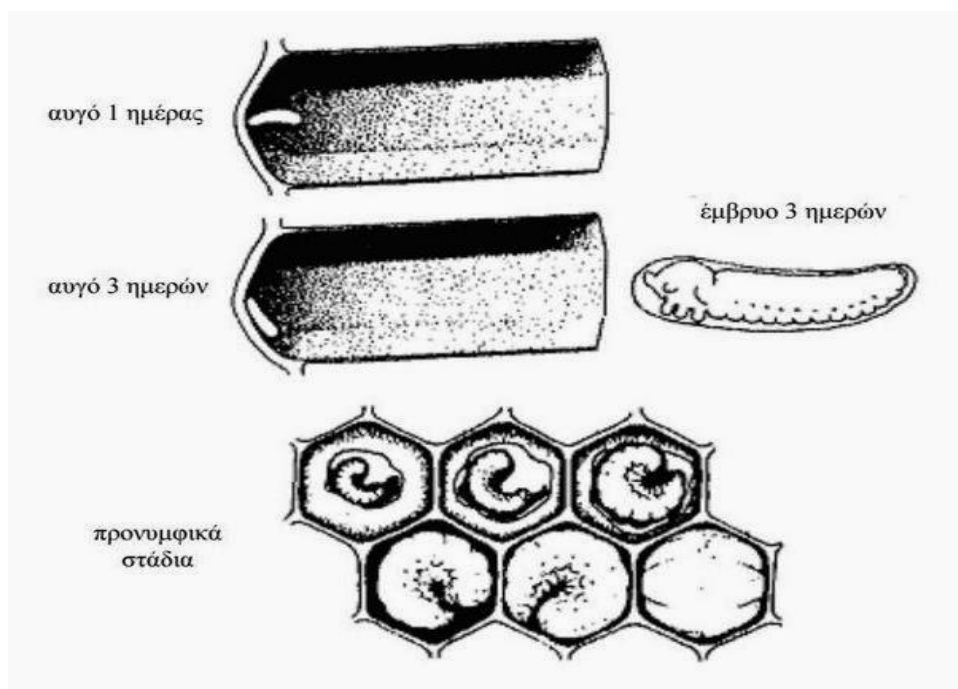
Οι αλλαγές αυτές συμβαίνουν όσο τα κελιά είναι ασφράγιστα γιατί αμέσως μετά το σφράγισμα των κελιών ακολουθεί η ανάπτυξη της προνύμφης και η μεταμόρφωση σε νύμφη. Μόλις ολοκληρωθεί η ανάπτυξη, η μέλισσα του κελιού βγάζει το σφράγισμα και βγαίνει έξω από αυτό. Για την ολοκλήρωση της ανάπτυξης της μέλισσας από το αυγό μέχρι και το στάδιο της ενηλικίωσης χρειάζονται 16 ημέρες για τη βασίλισσα, 21 ημέρες για την εργάτρια, ενώ χρειάζονται 24 μέρες για τον κηφήνα (Χαριζάνης, 2014). Ο ακριβής χρόνος που χρειάζεται για την ανάπτυξη αλλά και την ποιότητα της εκκολαπτόμενης μέλισσας εξαρτάται από την θερμοκρασία, τη θρέψη και τη φυλή της μέλισσας. Ο βιολογικός κύκλος της μέλισσας φαίνεται συνοπτικά στον πίνακα 1.(Morse και Flottum, 1985).

	Αυγό	Προνύμφη	Νύμφη	Σύνολο
Βασίλισσα	3	5,5	7,5	16
Εργάτρια	3	6	12	21
Κηφήνας	3	6,5	14,5	24

Πίνακας 2.1.. Χρόνος (σε μέρες) που απαιτείται για την ανάπτυξη κάθε ατελούς σταδίου στη μέλισσα.

Ένα αυγό το οποίο γεννάται σε βασιλικό κελί μπορεί να μεταφερθεί σε εργάτικό κελί και να αναπτυχθεί εκεί, με τις κατάλληλες συνθήκες, ως εργάτρια και το ίδιο μπορεί να συμβεί με ένα αυγό που γεννάται σε εργάτικό κελί. Το αυγό μπορεί να μεταφερθεί σε βασιλικό κελί και να αναπτυχθεί ως βασίλισσα. Παρ' όλο που ο τύπος του κελιού είναι σημαντικός παράγοντας για την παραγωγή βασιλισσών ή εργατριών, δεν είναι αυτός ο οποίος καθορίζει αν το γονιμοποιημένο αυγό θα

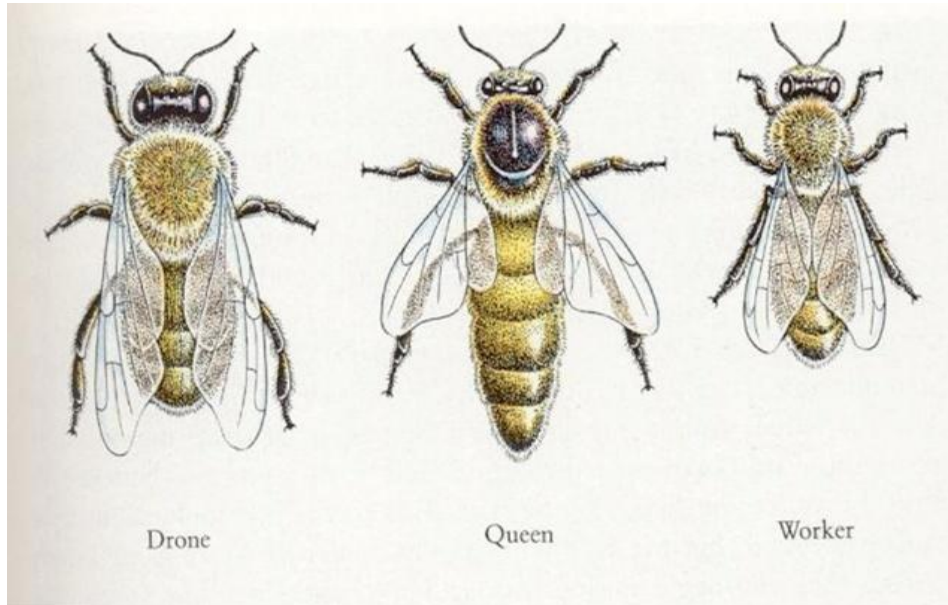
αναπτυχθεί σε βασίλισσα ή εργάτρια. Είναι πιθανό, η ποσότητα και η ποιότητα της τροφής η οποία δίδεται στην προνύμφη που αναπτύσσεται καθώς και οι παράγοντες θρέψης να ενεργούν μέσω συστήματος ορμονών της προνύμφης, ώστε να καθορίζεται η μορφή με την οποία θα εξέλθει απ' το κελί η μέλισσα. (Laidlaw,1944)



Εικόνα 1. Τα στάδια του αυγού

Ο βασιλικός πολτός διαφέρει από τον εργατικό πολτό γιατί περιέχει περισσότερες εκκρίσεις του σιαγονικού αδένου. Μετά από χημικές αναλύσεις που έγιναν διαπιστώθηκε ότι ο βασιλικός πολτός περιέχει 10 φορές περισσότερο παντοθενικό οξύ και 18 φορές περισσότερη βιοπτερίνη σε σχέση με τον εργατικό πολτό. Επομένως υπάρχουν ίδιες πιθανότητες από το ίδιο αυγό να προέλθει βασίλισσα ή εργάτρια. Ενώ η θρέψη στην οποία μεσολαβεί η νεανική ορμόνη (juvenil hormone) αποφασίζει ποια μορφή θα αναπτυχθεί (Χαριζάνης, 2014).

Τα άτομα τα οποία προορίζονται για βασίλισσες τρέφονται με άφθονο βασιλικό πολτό όλες τις ημέρες της διατροφής τους, όπου είναι πλούσιος σε προϊόντα του σιαγονικού αδένου αλλά και σε ζάχαρα. Ενώ τα άτομα που προορίζονται για εργάτριες τρέφονται τις τρεις πρώτες μέρες με λίγο βασιλικό πολτό και τις υπόλοιπες με μέλι, γύρη και βασιλικό πολτό (beeginner.eu, 2017, Χατζήνα, 2016).



Εικόνα 2. Τα 3 μέλη της κοινωνίας των μελισσών (κηφήνας, βασίλισσα, εργάτρια)

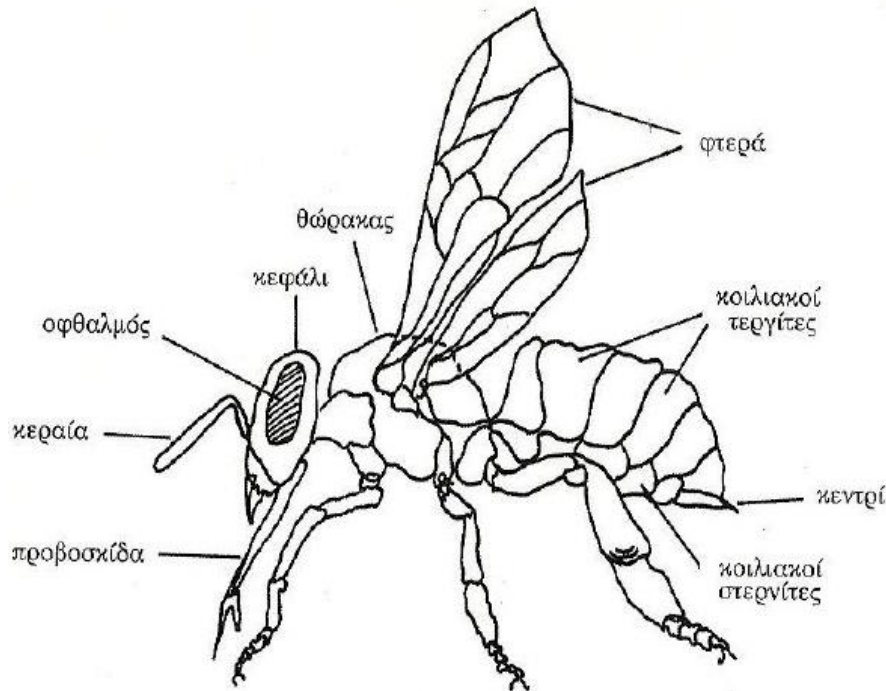
2.2. Φυσιολογία της Μέλισσας

Όπως σε κάθε έντομο έτσι και στη μέλισσα διακρίνουμε τρία διαφορετικά μέρη:

1. το κεφάλι
2. το θώρακα
3. την κοιλιά

1. Στο κεφάλι υπάρχουν:

- Δύο σύνθετα μάτια
- Τρία απλά μάτια
- Δύο κεραίες
- Το στόμα με τις δύο κεραίες και την προβοσκίδα



Εικόνα 3. Τα μέρη της μέλισσας

Τα δύο σύνθετα μάτια είναι πολύ μεγάλα και βρίσκονται δεξιά και αριστερά στο κεφάλι. Μπορούν να διακρίνουν τα χρώματα που διακρίνει και το ανθρώπινο μάτι, με τη μόνη διαφορά ότι η μέλισσα διακρίνει το υπεριώδες και όχι το κόκκινο.

Τα δύο αυτά μάτια χρησιμεύουν στο να βλέπει έξω, μακριά απ' την κυμέλη και στον προσανατολισμό της σε σχέση με τον ήλιο όταν πετάει.

Τα τρία απλά μάτια βρίσκονται στο πάνω μέρος της κεφαλής, τοποθετημένα σε σχήμα τριγώνου και την εξυπηρετούν στο να βλέπει τα κοντινά αντικείμενα.

Οι κεραίες είναι όργανα οσφρήσεως, αφής και ακοής και είναι δύο πολύ σημαντικά όργανα για τη μέλισσα γιατί αν, για κάποιο λόγο, τα χάσει χάνει κάθε αίσθησή της και είναι ανίκανη να εργαστεί.

Το στόμα με τις δύο σιαγόνες και την προβοσκίδα.

- Οι σιαγόνες είναι δύο, τοποθετημένες δεξιά και αριστερά και κινούνται οριζοντίως.

Είναι ένα σπουδαίο όργανο, το οποίο δεν βοηθάει στο μάσημα διότι η τροφή της μέλισσας δεν είναι στερεά, αλλά χρησιμεύει ως εργαλείο που εξυπηρετεί τη μέλισσα σε πολλές εργασίες της. Όπως η κατεργασία του κεριού και το ζύμωμα της γύρης.

- Η προβοσκίδα είναι η γλώσσα της μέλισσας αλλά και η "σύριγγα" με την οποία ρουφάει το νέκταρ από τα άνθη. Είναι με τέτοιο τρόπο κατασκευασμένη ώστε να ρουφάει και την ελάχιστη

ποσότητα νέκταρος από τα άνθη. Επομένως όσο πιο μακριά είναι η προβοσκίδα της μέλισσας τόσο πιο καλή συλλέκτρια είναι. (Winston, 1987)

2. Ο θώρακας αποτελείται από τρεις ενωμένους δακτυλίους όπου κάθε δακτύλιος έχει ένα ζευγάρι πόδια, στο δεύτερο και στο τρίτο όμως, έχει δύο ζευγάρια φτερά.

Τα πόδια της μέλισσας, εκτός από το να κάθεται και να περπατάει, χρησιμεύουν και στο μάζεμα της γύρης από τα άνθη. Μόλις η μέλισσα βυθιστεί στο άνθος η γύρη γεμίζει το σώμα της και με γρήγορες κινήσεις των ποδιών και των σιαγόνων σχηματίζει μπαλάκια γύρης, τα οποία στερεώνει στα πιασινά της πόδια.

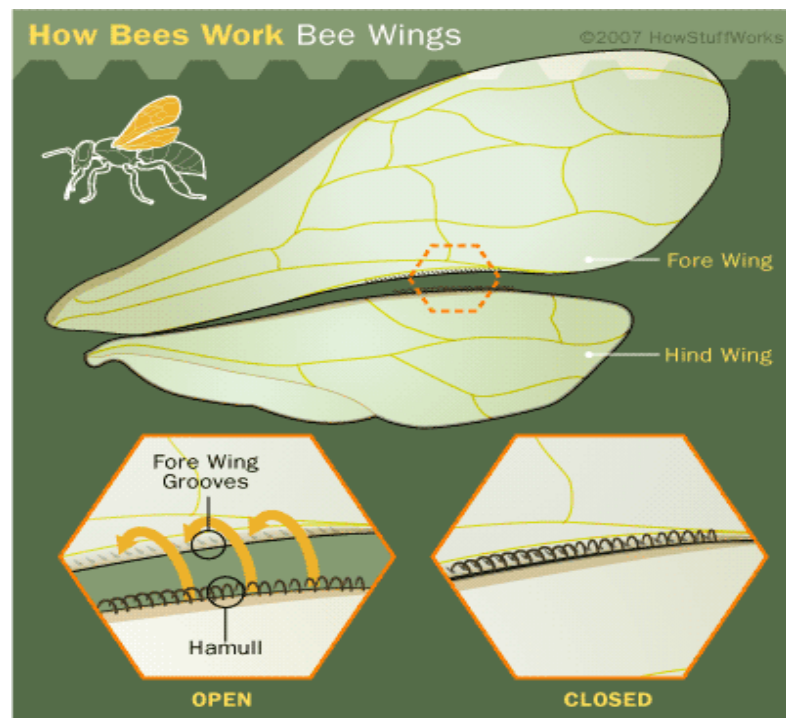
- Το πρώτο ζευγάρι ποδιών χρησιμεύει στον καθαρισμό των κεραιών.
- Το δεύτερο ζευγάρι χωρίζει τις μπάλες της γύρης.
- Το τρίτο ζευγάρι είναι φτιαγμένο με τέτοιο τρόπο ώστε, να τοποθετείται η γύρη που μαζεύει από τα άνθη, να την πλάθει ενώ πετάει και να την μεταφέρει στην κυψέλη.

Τα φτερά της μέλισσας είναι τέσσερα

- Δύο μεγάλα εμπρός
- Δύο μικρότερα πίσω

Όταν η μέλισσα πετάει, τα δύο ζευγάρια των φτερών ενώνονται μεταξύ τους, με πολύ μικρά γαντζάκια που έχουν στις άκρες και σχηματίζουν ένα μεγάλο φτερό, το οποίο διευκολύνει το πέταγμα. Ενώ όταν η μέλισσα κάθεται ή εργάζεται στην κυψέλη, τα φτερά ξανά χωρίζονται το ένα από το άλλο και η μέλισσα με αυτόν τον τρόπο μπορεί και τρυπώνει μέσα στα στενά κελιά.

3. Η κοιλιά αποτελείται από επτά δακτυλίους. Μέσα στην κοιλιά βρίσκονται τα όργανα της αναπνοής, οι κηρογόνοι αδένες, ο ασκός του μέλιτος, το στομάχι και ο υπόλοιπος εντερικός σωλήνας, το κεντρί και το δηλητήριο και οι ωθήκες, οι οποίες στις εργάτριες είναι ατελείς, ενώ στη βασίλισσα τέλειες.



Εικόνα 4. Τα φτερά της μέλισσας

3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

3.1. Η εργάτρια

Το αναπαραγωγικό σύστημα της εργάτριας δεν είναι ολοκληρωμένο, είναι ατελές, γι' αυτό και η εργάτρια δεν μπορεί να γονιμοποιηθεί και να γεννήσει αυγά (Χατζήνα, 2017).

Η μία και μοναδική περίπτωση που η εργάτρια μπορεί να γεννήσει αυγά, είναι στην περίπτωση της ορφάνιας του μελισσιού. Όταν το μελίτσι μείνει ορφανό από βασίλισσα, για τον οποιονδήποτε λόγο, και δεν υπάρχει γόνος, τότε οι εργάτριες μπορούν να αρχίσουν να γεννούν αυγά.

Μόλις οι εργάτριες αντιληφθούν την απώλεια της βασίλισσας παρατηρείται το "κλάμα" των μελισσών που δημιουργείται από το βουητό των χιλιάδων μελισσών. Αμέσως μετά σταματάει το κτίσιμο της κηρήθρας, η συλλογή της γύρης και η απομάκρυνση των μελισσών από το μελίτσι. Αρχίζουν να αναπτύσσονται οι ωοθήκες μερικών εργατριών και 10 μέρες μετά σχηματίζονται τα πρώτα αυγά στις ωοθήκες. Από τα αυγά βγαίνουν κυρίως, μόνο κηφήνες ενώ, πολύ σπάνια εργάτριες και βασίλισσες.

3.2. Ο κηφήνας

Ο κηφήνας είναι το αρσενικό άτομο του μελισσιού και ο κύριος προορισμός του είναι η αναζήτηση της βασίλισσας και η αναπαραγωγή του είδους. Η πρώτη πτήση του γίνεται περίπου την 6^η-8^η μέρα της ηλικίας του, όμως είναι αναπαραγωγικά ώριμος και ικανός για σύζευξη 10 μέρες μετά την έξοδο του από το κελί. Παράγει κατά μέσω όρο 10.000.000 σπερματοζώαρια. Όλοι οι κηφήνες συγκεντρώνονται σε συγκεκριμένες περιοχές, τις "περιοχές συγκέντρωσης κηφήνων". Για να γίνει η σύζευξη, απαιτείται μεγάλος και ανοιχτός χώρος. Κατά τη σύζευξη τα γεννητικά όργανα του κηφήνα αναστρέφονται, βγαίνουν από το σώμα του και με τη σύσπαση των μυών της κοιλιάς του γίνεται η εκσπερμάτωση. Αμέσως μετά, τα γεννητικά του όργανα αποκόπτονται από το σώμα του και μένει ένα μέρος τους στον κόλπο της βασίλισσας. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, το θάνατό του (Χατζήνα, 2017).

3.3. Η βασίλισσα

Η βασίλισσα είναι το μόνο θηλυκό άτομο στην κοινωνία των μελισσών το οποίο έχει αναπτυγμένο αναπαραγωγικό σύστημα. Περίπου 6-7 ημέρες μετά την εκκόλαψή της, η βασίλισσα βγαίνει έξω από την κυψέλη για να πραγματοποιήσει το λεγόμενο "γαμήλιο ταξίδι", το οποίο κάνει μια φορά στη ζωή της για να γονιμοποιηθεί από τους κηφήνες. Εάν δε γονιμοποιηθεί η βασίλισσα σε αυτό της το ταξίδι, οι εργάτριες δεν επιτρέπουν την είσοδό της στην κυψέλη μέχρις ότου γονιμοποιηθεί. Η βασίλισσα πετάει στους χώρους συγκέντρωσης των κηφήνων. Εκεί ζευγαρώνει με

8-10 κηφήνες στον αέρα, σε ύψος 25 μέτρων, περίπου, με θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 20° C, ταχύτητα ανέμου μικρότερη των 28 Km/h και κατά τις απογευματινές ώρες. Συνήθως, την 8^η με 9^η ημέρα του ταξιδιού της παρατηρείται ο μεγαλύτερος αριθμός συζεύξεων. Το ζευγάρι διαρκεί περίπου 5-18 λεπτά και κατά τη απομάκρυνση του κηφήνα από την βασίλισσα ένα μέρος των γενετικών του οργάνων παραμένει στον κόλπο της. Αυτό είναι σημάδι ότι η βασίλισσα έχει γονιμοποιηθεί ήδη από κάποιον άλλο κηφήνα και το απομακρύνει ο επόμενος κηφήνας. Στη σπερματοθήκη της, η βασίλισσα αποθηκεύει όλο το σπέρμα (87.000.000) και ο αδένας της εκκρίνει θρεπτικά συστατικά για την επιβίωση των 7.000.000 σπερματοζωαρίων περίπου. Αριθμός ο οποίος είναι κατάλληλος για όλη τη διάρκεια της ζωής της, ώστε να γονιμοποιεί, για μεγάλο χρονικό διάστημα, τα αυγά από τα οποία προέρχονται εργάτριες. Η βασίλισσα αρχίζει να ωοτοκεί, γονιμοποιημένα και αγονιμοποίητα αυγά, 2-3 ημέρες μετά το τελευταίο ζευγάρι. Στην περίπτωση όμως της τεχνητής σπερματέγχυσης, η ωοτοκία ξεκινάει 25 περίπου, μέρες μετά την τεχνική. Βέβαια διαπιστώθηκε ό,τι όταν η μέλισσα υποστεί και δεύτερη νάρκωση για 5 λεπτά με CO₂ μια μέρα πριν ή μετά την τεχνική, αρχίζει την ωοτοκία σε 3 περίπου μέρες. Ο αριθμός των αυγών που θα γεννήσει εξαρτάται από την ποσότητα τροφής που θα πάρει από τις εργάτριες, από την ηλικία, τις καιρικές συνθήκες, τον διαθέσιμο αριθμό κηρήθρων, την ανθοφορία, την κληρονομικότητα, την ποιότητα του βασιλικού πολτού και από την εποχή του έτους. Το βάρος της ημερήσιας γέννας της σε αυγά μπορεί να φθάσει μέχρι και δύο φορές το βάρος του σώματός της, δεν υπερβαίνει όμως τα 2000 αυγά, αριθμός που εξαρτάται από τον πληθυσμό του μελισσιού. Γεννά από ένα αυγό μέσα σε κάθε κελί (Χατζήνα, 2017).

3.4. Γενετική βελτίωση με επιλογή

Με σκοπό την αναβάθμιση του ποιοτικού επιπέδου των μελισσών γίνεται η γενετική βελτίωση με επιλογή η οποία για να είναι επιτυχής περιλαμβάνει 4 στοιχεία:

1. Επιλογή
2. Γενετική παραλλακτικότητα
3. Ελεγχόμενες συζεύξεις
4. Διατήρηση γενετικού υλικού

Για να φτάσουμε στη γενετική βελτίωση όμως υπάρχουν κάποια κριτήρια τα οποία μας οδηγούν σε αυτήν και πρέπει να τα λάβουμε υπόψη:

- A. Ο πληθυσμός του μελισσιού
- B. Η παραγωγή μελιού
- Γ. Η επιθετικότητα των μελισσών
- Δ. Η ποσότητα του γόνου
- E. Η εμφάνιση του γόνου
- ΣΤ. Η ανθεκτικότητα στις αρρώστιες
- Z. Η σμηουργία
- H. Η συλλογή γύρης
- Θ. Η συλλογή πρόπολης

Οι μελισσοκόμοι, πριν τα καταφέρουν, προσπαθούσαν για πολλά χρόνια να πραγματοποιήσουν ελεγχόμενες συζεύξεις. Η απομόνωση των παρθένων βασιλισσών σε νησιά, σε μεγάλα λιβάδια ή υψόμετρα ήταν, εξακολουθεί να είναι, μια επιτυχημένη λύση, αλλά όχι πρακτική. Εύκολη λύση επίσης, ήταν η τοποθέτηση των κηφώνων και των βασιλισσών σε κλωβούς για τη σύζευξη, όμως δεν έγινε ποτέ. Επομένως, ο μόνος τρόπος για τον πλήρη έλεγχο των συζεύξεων είναι η τεχνητή σπερματέγχυση.

4. ΤΕΧΝΗΤΗ ΣΠΕΡΜΑΤΕΓΧΥΣΗ

4.1. Γενικά στοιχεία

Η τεχνητή σπερματέγχυση είναι ένα βασικό εργαλείο που παρέχει τον πλήρη έλεγχο του ζευγαρώματος για έρευνα και αναπαραγωγή (Laidlaw, 1977).

Η πρώτη επιτυχής τεχνητή σπερματέγχυση έγινε το 1927 από τον Watson. Οι Nolan, Laidlaw και Mackensen όμως το 1939 έδωσαν τις τεχνικές λεπτομέρειες και τις βελτιώσεις. Το 1948 δημοσιεύθηκε ένα εγχειρίδιο (Mackensen και Roberts 1948) το οποίο περιγράφει μια μέθοδο της οποίας τα αποτελέσματα αναμένονται και σε κάποιες μεταγενέστερες εργασίες (Mackensen 1948, 1954) περιγράφηκαν κάποιες βελτιώσεις σε αυτές. Σύμφωνα όμως με τον McLain ήδη από το 1885 υπήρχαν μέλισσες που υπέστησαν τεχνητή σπερματέγχυση (Laidlaw, 1949).

Το ελεγχόμενο ζευγάρι που επιτυγχάνεται με την τεχνητή σπερματέγχυση, δίνει τη δυνατότητα δημιουργίας άλλων διασταυρώσεων εκτός από αυτές που προκύπτουν με φυσικό τρόπο. Δημιουργούνται νέοι σταυροί που βοηθούν τις ερευνητικές και αναπαραγωγικές προσπάθειες.

Υπάρχουν όμως κάποιες αμφιβολίες για το αν πρέπει να γίνεται μαζική παραγωγή γονιμοποιημένων βασιλισσών, με τεχνητή σπερματέγχυση και αμέσως αυτές να βγαίνουν στο εμπόριο. Βέβαια αυτές δημιουργούν δυνατά μελίσσια και γεννούν για αρκετό καιρό, αλλά συχνά μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα γίνεται η αντικατάστασή τους.

Κάποιοι από τους λόγους που εφαρμόζουμε την τεχνητή σπερματέγχυση γενικότερα είναι:

- Κάθε κηφήνας μπορεί να γονιμοποιήσει μία ή πολλές βασίλισσες για να απομονώσει, να ενισχύσει και να επιλέξει ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό, το οποίο μπορεί και να μην εκφραστεί επειδή η βασίλισσα ζευγαρώνει με πολλούς κηφήνες.
- Μπορεί να συγκεντρωθεί το σπέρμα από εκατοντάδες κηφήνες και να γονιμοποιήσει μια ομάδα βασιλισσών, η οποία αυξάνει την ομοιομορφία και το μέγεθος του αποτελεσματικά αναπαραγωγικού πληθυσμού, για λόγους συντήρησης και βελτίωσης των αποθεμάτων.
- Μπορούν να δημιουργηθούν ποικίλες βαθμίδες συγγένειας, συμπεριλαμβανομένης της "αυτοδιάθεσης", δηλαδή το ζευγάρι μιας παρθένου βασίλισσας με τους γιους της.
- Παρέχει τη δυνατότητα αποθήκευσης του σπέρματος των κηφήνων. Η βιωσιμότητα του οποίου μπορεί να διατηρηθεί σε θερμοκρασία δωματίου για μερικές εβδομάδες, για λόγους ευκολίας στον προγραμματισμό της σπερματέγχυσης και στη μεταφορά σπέρματος.

Ενώ, τα βήματα που χρειάζονται για την επιτυχημένη διεξαγωγή της τεχνητής σπερματέγχυσης στις μέλισσες είναι:

- Εφαρμογή των γνώσεων πάνω στις αρχές αναπαραγωγής
- Κατανόηση των προκλήσεων της εργασίας με ένα απλοειδές- διπλοειδές σούπερ οργανισμό
- Επιλογή των, πρακτικά, κατάλληλων μεθόδων και τήρηση αρχείων
- Πρόσβαση σε ένα μεγάλο και γενετικά διαφοροποιημένο αναπαραγωγικό πληθυσμό και διατήρηση αυτού
- Απόκτηση πόρων, εργασίας και μακροπρόθεσμης δέσμευσης για ένα πρόγραμμα αναπαραγωγής
- Εκμάθηση προηγμένων δεξιοτήτων μελισσοκομίας, όπως εκτροφή βασίλισσας και παραγωγή κηφήνων

4.2. Όργανα και εργαλεία

Η εκμάθηση της τεχνικής δεν είναι πολύ δύσκολη, όμως είναι απαραίτητη κάποια ειδική εκπαίδευση, σταθερά χέρια και υπομονή. Ενώ, η πρακτική ακρίβεια και οι υγειονομικές συνθήκες είναι σύμμαχοι της επιτυχίας στην τεχνητή σπερματέγχυση.

Ο εξοπλισμός που απαιτείται είναι:

1. Ένα πλήρες όργανο σπερματέγχυσης που αποτελείται από μια βάση, ένα σετ αγκίστρων, τον συγκρατητήρα της βασίλισσας, τη σύριγγα και τις άκρες της σύριγγας
2. Ένα στερεοσκόπιο με μεγέθυνση περίπου 10-20 φορές, ώστε ο σπερματεγχύτης να κατευθύνει με ακρίβεια τις κινήσεις των πολύ μικρών εργαλείων
3. Μία πηγή φωτός με φίλτρο για να συγκρατείται η θερμότητα
4. Μία πηγή διοξειδίου του άνθρακα με ρυθμιστή ροής και εύκαμπτες σωληνώσεις
5. Αλατούχο διάλυμα
6. Αποστειρωμένα φιαλίδια
7. Πιπέτες και σύριγγες
8. Αποσταγμένο νερό
9. 95% αιθανόλη
10. Υποχλωριώδες νάτριο
11. Αποστειρωμένους ιστούς και βαμβακερά επιχρίσματα
12. χαρτοπετσέτες
13. Αυτόκαυστο ή χύτρα υψηλής πίεσης (για αποστείρωση)

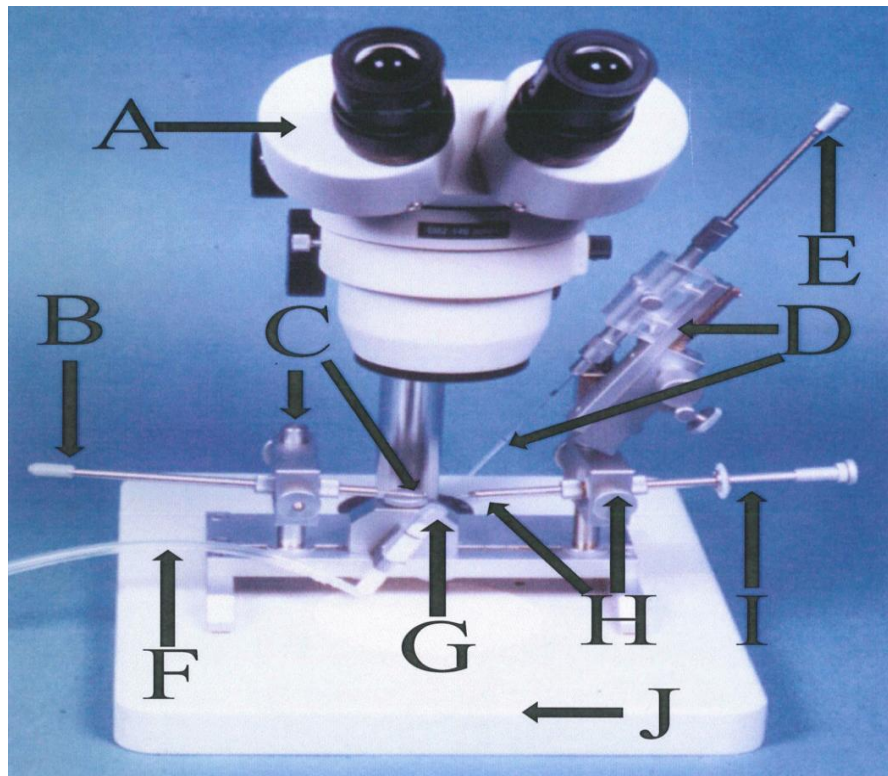
14. κλουβιά βασίλισσας

15. κλουβιά κηφήνων και κιβώτιο πτήσης με τροχούς

4.3. Συσκευή τεχνητής σπερματέγχυσης

Διάφοροι τύποι από συσκευές τεχνητής σπερματέγχυσης έχουν κατασκευαστεί μέχρι τώρα. Είναι συσκευές οι οποίες είναι κατασκευασμένες από ανθρώπους που ασχολούνται με την τεχνική αυτή με τέτοιο τρόπο ώστε να βοηθάνε στην καλύτερη διεξαγωγή της διαδικασίας. Οι πρώτες συσκευές ήταν: α) των Mackensen-Roberts, β) του Laidlaw και γ) του Mackensen. Ενώ κάποιοι άλλοι τύποι που κατασκευάστηκαν αργότερα είναι των: α) Ruttner-Schneider-Fresnaye, β) Tryasko, γ) Vesely και δ) Schley.

Όλοι οι τύποι συσκευής τεχνητής σπερματέγχυσης είναι σχεδόν ίδιοι, η ποιότητα όμως του οργάνου και η ακρίβεια είναι που καθορίζουν την επιτυχία της τεχνικής. Τα περισσότερα όργανα έχουν μικρά χειριστήρια, που παρέχουν ακρίβεια στην κίνηση και λεπτή ρύθμιση. Επίσης οι σύριγγες μεγάλης χωρητικότητας είναι οι πιο αποτελεσματικές. Οπότε ο κάθε σπερματεγχύτης επιλέγει το όργανο και τα μέσα που τον εξυπηρετούν καλύτερα ώστε να κάνει με επιτυχία την τεχνική. Κάθε συσκευή αποτελείται από: μία βάση, ένα σετ αγκίστρων, ένα συγκρατητήρα βασίλισσας, τη σύριγγα και τις άκρες τις σύριγγας, ένα στερεοσκόπιο και μια πηγή ψυχρού φωτός για να αποφευχθεί η θέρμανση και η ξήρανση. Επίσης, πρέπει να υπάρχει και μια πηγή διοξειδίου του άνθρακα με ρυθμιστή ροής και εύκαμπτες σωληνώσεις.



Εικόνα 5. Βασικός εξοπλισμός συσκευής τεχνητής σπερματέγχυσης. Α) μικροσκόπιο διάτμησης-στερεοσκόπιο, Β) λαβή άγκιστρου, C) βάση άγκιστρου, D) βάση της σύριγγας και σύριγγα, E) έμβολο σύριγγας, F) πλαστικές σωληνώσεις που οδηγούν στην πηγή CO₂(διοξειδίου του άνθρακα), G) θάλαμος στον οποίο τοποθετείται η βασίλισσα, H) άγκιστρο (γάντζος) και η βάση του, I) λαβή του γάντζου, J) βάση του μικροσκοπίου

4.4. Εκτροφή κηφήνων – Συλλογή σπέρματος

Για να υπάρχει επαρκή ποσότητα σπέρματος, πρέπει να χρησιμοποιείται μεγάλος αριθμός ώριμων κηφήνων, περίπου 30-50, κατάλληλης ηλικίας και επιθυμητής προέλευσης.

Το σπέρμα συλλέγεται απευθείας από τους κηφήνες μόλις αυτοί ωριμάσουν σε ηλικία 12 ημερών και πάνω. Για να μην υπάρξει ανάμιξη με άλλους κηφήνες που δεν επιθυμούμε, εκτός από το μαρκάρισμα, οι κηφήνες περιορίζονται σε κάποιο χώρο. Στο χώρο αυτό οι κηφήνες πρέπει να μπορούν να πετούν κανονικά γιατί με την πτήση λίγων λεπτών επιτυγχάνεται πιο εύκολα η αναστροφή των γεννητικών οργάνων. Ακόμη, πρέπει να διατηρούνται ζεστοί, ίσως με κάποια λάμπα που εκπέμπει θερμότητα και καλά τροφοδοτούμενοι. Μια καλή λύση για ενεργητικότητα των κηφήνων είναι η παροχή μελιού.

Από τους ώριμους κηφήνες το σπέρμα μπορούμε να το συλλέξουμε την ίδια ή την προηγούμενη ημέρα από την σπερματέγχυση. Για να μπορέσουν τα γεννητικά όργανα του κηφήνα να αναστραφούν και να επιφέρουμε μερική εκσπερμάτωση πρέπει να πιέσουμε με τον αριστερό αντίχειρα και δείκτη, το μπροστινό μέρος του θώρακα. Ενώ, αμέσως μετά, για να επιφέρουμε την πλήρη αναστροφή των γεννητικών οργάνων και την εμφάνιση του σπέρματος στην άκρη του φαλού, πρέπει να πιέσουμε πλευρικά την κοιλιά του κηφήνα.

Το σπέρμα συλλέγεται από τον κηφήνα με σύριγγα, αμέσως μετά τοποθετούμε μια μικρή ποσότητα ορού στην άκρη της σύριγγας για να μην στεγνώσει το σπέρμα. Συνήθως κάθε κηφήνας δίνει περίπου 1ml σπέρματος, ο όγκος όμως του σπέρματος που γονιμοποιεί μια βασίλισσα είναι 8-12 μl.

Είναι πολύ σημαντικό να διατηρούνται οι κανόνες υγιεινής και τα δάχτυλά μας, αλλά και το σώμα του κηφήνα, να μην έρχονται σε επαφή με το σπέρμα. Για αυτόν το λόγο πρέπει η άκρη της σύριγγας να καθαρίζεται με βαμβάκι ποτισμένο με αποστειρωμένο ορό αλλά να υπάρχει και μία χαρτοπετσέτα, με την οποία θα σκουπίσουμε τα περιττώματα του κηφήνα, αν χρειαστεί, για να μην έρθουν σε επαφή με το σπέρμα.

Όταν τελειώσει η συλλογή του σπέρματος, το σπέρμα πρέπει να δεχτεί κάποια μικρή επεξεργασία ανάλογα με το πότε θα χρησιμοποιηθεί. Το σπέρμα που θα χρησιμοποιηθεί την ίδια μέρα θα αναμειχθεί με απλό τύπο αλατούχου διαλύτη. Ένα πολύ βασικό διάλυμα φυσιολογικού ορού είναι αρκετό. (0,9% NaCl, 0,1% γλυκόζη και αντιβιοτικό). Ενώ από την άλλη πλευρά, το σπέρμα που θα αποθηκευθεί και δε θα χρησιμοποιηθεί αμέσως χρειάζεται άλλους χειρισμούς. Η αποθήκευσή του γίνεται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες από την κατάψυξη και σε υγρό άζωτο, οπότε συνιστάται πιο σύνθετος τύπος αλατούχου διαλύτη. Ο τύπος του διαλύματος που συνιστάται είναι HHBSE.

Σύμφωνα με το άρθρο των Bolten και Harbo (1982), οι πολλαπλές σπερματεγχύσεις της βασίλισσας με μικρούς όγκους αραιωμένου σπέρματος είχε σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα απ' ό,τι οι ενιαίες σπερματεγχύσεις των ίδιων συνολικά όγκων. Συγκεκριμένα σε τρία πειράματα που πραγματοποιήθηκαν, η δεύτερη σπερματέγχυση άφησε περισσότερα σπερματοζωάρια στη σπερματοθήκη απ' ό,τι η πρώτη. Δηλαδή η χρήση σπέρματος, που είχε αποθηκευθεί σε υγρό άζωτο (-196 °C), πρόσφερε 77% και 68% σε διαφορετικά πειράματα, ενώ με φρέσκο σπέρμα, σε δεύτερη σπερματέγχυση πάλι, πρόσφερε 61%.



Εικόνα 6. Πίεση του κηφήνα για να γίνει πλήρη αναστροφή των γεννητικών οργάνων μαζί με το σπέρμα. (Δρ. Λεωνίδα Χαριστό)



Εικόνα 7. Συλλογή σπέρματος από τον κηφήνα με σύριγγα (Δρ. Λεωνίδα Χαριστό)

4.5. Η Περιποίηση των βασιλισσών πριν και μετά τη σπερματέγχυση

Για να είναι αποδοτικές οι βασίλισσες και να έχουμε τα επιθυμητά αποτελέσματα πρέπει να δεχτούν τη κατάλληλη φροντίδα πριν και μετά την σπερματέγχυση. Αρχικά, οι βασίλισσες που επιλέγονται πρέπει να προέρχονται από δυνατά μελίσσια και ο αριθμός των εργατριών που θα τις περιποιείται να είναι μεγάλος. Καλό είναι να διατηρούνται οι φυσικές συνθήκες εκτροφής γιατί αυτές είναι που επηρεάζουν τον αριθμό των ωαρίων και την ικανότητα γονιμοποίησης τους. Κάθε βασίλισσα πρέπει να κρατείται για 5-14 ημέρες πριν από τη σπερματέγχυση μέσα στα βασιλικά κελιά, για να μην υπάρξει κίνδυνος τραυματισμού. Εκεί οι εργάτριες που τις φροντίζουν, τις τρέφουν σωστά. Η ηλικία που είναι καταλληλότερη για την σπερματέγχυση είναι 6-13 ημέρες από την εκκόλασή τους από το κελί. Αμέσως μετά την σπερματέγχυση η βασίλισσα μπορεί να αφεθεί ελεύθερη στην αποικία της ή να κρατηθεί σε κλουβάκι με θερμοκρασία 34 °C, στο οποίο θα μείνει για 3-4 ημέρες. Στο κλουβάκι αυτό όμως, πρέπει να υπάρχουν και 5-6 νεαρές εργάτριες οι οποίες θα περιποιούνται την βασίλισσα, γιατί με αυτόν τον τρόπο αποθηκεύονται περισσότερα σπερματοζώαρια στην σπερματοθήκη της, οπότε ωοτοκεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Τέλος, στην περίπτωση που η βασίλισσα αφεθεί αμέσως ελεύθερη, πρέπει να παρατηρηθεί η συμπεριφορά των εργατριών. Αν οι εργάτριες είναι επιθετικές προς την βασίλισσα τότε καλό είναι αυτή να απομακρυνθεί και πάλι για λίγο, σε δικό της κλουβί, ώστε να μην την τραυματίσουν και έχουμε ανεπιθύμητα αποτελέσματα.

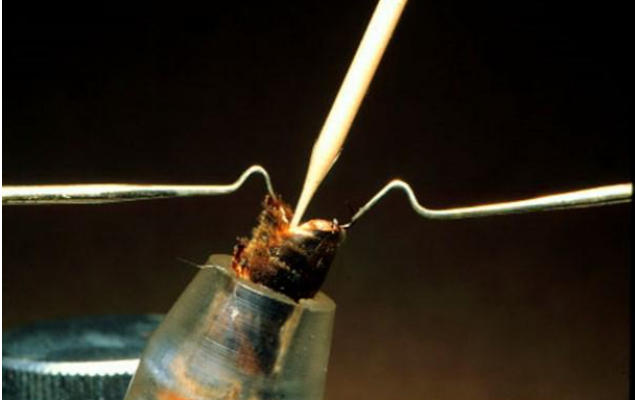
4.6. Η Διαδικασία της τεχνητής σπερματέγχυσης

Η προετοιμασία της σπερματέγχυσης ξεκινάει περίπου 1 με 2 ημέρες πριν, όπου η βασίλισσα εκτίθεται στο CO₂ για 1 με 4 λεπτά. Ο χώρος στον οποίο γίνεται η τεχνική πρέπει να έχει θερμοκρασία περίπου στους 25 °C και σχετικά υψηλή υγρασία για να μην στεγνώνουν οι ιστοί της βασίλισσας και να γίνεται εύκολα η είσοδος της σύριγγας στον κόλπο. Αφού εξασφαλίσουμε τις κατάλληλες συνθήκες στο χώρο και αφού τοποθετήσουμε τα εξαρτήματα της συσκευής στη θέση τους και τα ρυθμίσουμε, γεμίζουμε τη σύριγγα με αποστειρωμένο φυσιολογικό ορό και αφήνουμε μεταξύ του σπέρματος και του φυσιολογικού ορού φυσαλίδα αέρος διαμέτρου περίπου 2 mm για να ξεχωρίζει το σπέρμα από τον ορό. Ρυθμίζουμε τη σύριγγα και τον συγκρατητήρα της βασίλισσας στη βάση του οργάνου σε γωνία 30° έως 45° (ανάλογα με τη συσκευή) για να είναι πιο εύκολη η παράκαμψη της βαλβίδας. Τοποθετούμε την βασίλισσα στο σωλήνα του συγκρατητήρα με την κοιλιά της προς τα επάνω και να προεξέχει αρκετά, ώστε να γίνει η δεύτερη χορηγία του CO₂ με

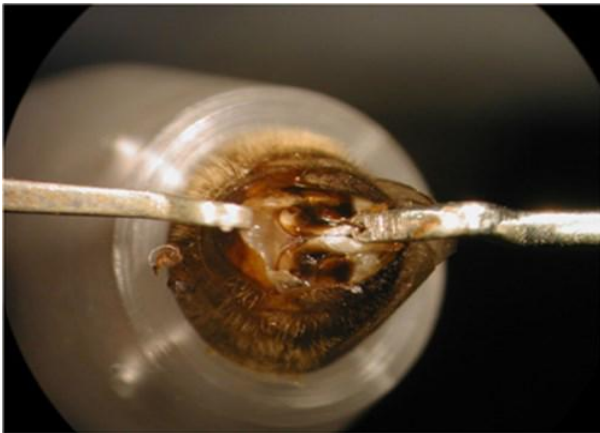
αργή συνεχή ροή μέσω του σωλήνα από την πηγή CO₂. Με τη βοήθεια των αγκίστρων, διαχωρίζουμε τις κοιλιακές πλάκες για να εμφανίσουμε το στόμιο του κόλπου και στη συνέχεια σηκώνουμε τη δομή του κεντριού προς τα πίσω για να εμφανίσουμε η κολπική κοιλότητα. Την ίδια στιγμή, κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας τοποθετούμε μόνο τον κοιλιακό γάντζο για να σταθεροποιήσουμε την βασίλισσα. Στη συνέχεια, τοποθετούμε την άκρη της σύριγγας μέσα και ελαφρώς μπροστά στην κορυφή του "V" που σχηματίζεται και καθορίζει το κολπικό στόμιο, για περίπου 0,5 έως 1,0 mm. Αμέσως μετά βάζουμε τη σύριγγα άλλα 0.5 έως 1,0 mm ενώ παράλληλα, με την άκρη της σύριγγας, σηκώνουμε την κοιλιακή βαλβίδα και με μια κίνηση "ζιγκ-ζαγκ" την παρακάμπτουμε. Η βαλβίδα είναι ένα εύκαμπτο πτερύγιο ιστού που καλύπτει το διάμεσο ωάριο το οποίο πρέπει να παρακάμπτεται, αν τοποθετήσουμε σωστά το άκρο η βαλβίδα παρακάμπτεται εύκολα χωρίς αντίσταση. Ακόμη, η μικρή φυσαλίδα που αναφέραμε πιο πάνω, ότι αφήνουμε μεταξύ φυσιολογικού ορού και σπέρματος, βοηθάει ως ουσία λίπανσης πριν την εισαγωγή της σύριγγας στην κολπική κοιλότητα. Έπειτα, μεταφέρουμε μια δόση των 8 με 12 μl σπέρματος κατευθείαν στον ωαγωγό. Όταν δίνονται στη βασίλισσα και τα 12 μl σπέρματος, αυτή απελευθερώνεται αμέσως στην αποικία της, αντιθέτως όταν δίνονται 6ml πρέπει να χορηγηθούν άλλα 6ml μετά από 48 ώρες. Όταν υπάρχει εμπειρία στην πρακτική, η εισαγωγή του σπέρματος και γενικά η τεχνική αυτή γίνεται με μεγάλη ακρίβεια και ευκολία με αποτέλεσμα για κάθε βασίλισσα να χρειάζονται μόνο λίγα δευτερόλεπτα. Μόλις τελειώσουμε με την εισαγωγή του σπέρματος, αφαιρούμε την άκρη της σύριγγας από τον ωαγωγό και τοποθετούμε στη σύριγγα μια μικρή ποσότητα αέρα και μια μικρή σταγόνα αλατούχου διαλύματος ως προετοιμασία για την επόμενη σπερματέγχυση. Σε περίπτωση που ο κηφήνας που θέλουμε να χρησιμοποιήσουμε στην επόμενη σπερματέγχυση είναι διαφορετικός από τον προηγούμενο και τα χαρακτηριστικά του είναι υψίστης σημασίας, ξεπλένουμε την άκρη της σύριγγας με αποσταγμένο νερό και στη συνέχεια με αλατούχο διάλυμα, για να καθαριστεί πλήρως η σύριγγα από το σπέρμα του προηγούμενου κηφήνα. Τέλος, αφήνουμε τη βασίλισσα από το συγκρατητήρα και την τοποθετούμε σε ένα κλουβί το οποίο τοποθετούμε στην αποικία της.

Στο άρθρο του Baer (κ.α., 2000), περιγράφεται μια άλλη τεχνική τεχνητής σπερματέγχυσης. Τεμαχίστηκαν τα αρσενικά και απομακρύνθηκαν οι όρχεις τους. Στη συνέχεια ανοίχτηκαν και παραλήφθηκε το σπέρμα με ένα γυάλινο τριχοειδές δοχείο τοποθετημένο σε μια σύριγγα. Για να μεταφερθεί το σπέρμα στη βασίλισσα, προσαρμόστηκε μια συσκευή που χρησιμοποιείται για τεχνητή γονιμοποίηση των μελισσών. Η βασίλισσα τοποθετήθηκε στο συγκρατητήρα, αναισθητοποιήθηκε με CO₂ και η δομή του κεντριού ανοίχτηκε με τη βοήθεια των δύο αγκίστρων. Το τριχοειδές γυάλινο δοχείο που είχε το σπέρμα τοποθετήθηκε στη σεξουαλική οδό της βασίλισσας και το σπερματοζώαριο απελευθερώθηκε κοντά στο σπερματογενή πόρο της βασίλισσας. Οι

βασίλισσες που γονιμοποιήθηκαν με την τεχνική αυτή υποβλήθηκαν σε αδρανοποίηση για 2 εβδομάδες και παράγαγαν μια κανονική αποικία, σε κανονικές συνθήκες εκτροφής.



Εικόνες 8, 9 . Η βασίλισσα είναι τοποθετημένη στο σωλήνα. Διαχωρισμός των κοιλιακών πλακών συγκράτησης.



Εικόνες 10, 11. Το κεντρί τοποθετείται δεξιά από το γάντζο χρησιμοποιώντας το γάντζο δεξιά, ενώ αριστερά βρίσκεται ο άλλος γάντζος μόνο για να ανυψώνεται η δομή του κεντριού και να εμφανίζεται η κοιλιακή κοιλότητα.



Εικόνα 12. Τοποθέτηση του σπέρματος στη σάλπιγγα.

4.7. Παράγοντες που επηρεάζουν τα αποτελέσματα της τεχνητής σπερματέγχυσης

1. Η καλύτερη ηλικία της βασίλισσας για τεχνητή σπερματέγχυση είναι από 5 έως 14 ημερών. Στην περίπτωση που η βασίλισσα γονιμοποιηθεί, με αυτόν τον τρόπο, σε ηλικία μεγαλύτερη των 2 εβδομάδων τείνει να αποθηκεύει λιγότερο σπέρμα στη σπερματοθήκη της. Παράλληλα, οι βασίλισσες που γονιμοποιούνται σε ηλικία κάτω των 4 ημερών εμφανίζουν υψηλή θνησιμότητα (Woyke και Jasinski, 1976).
2. Η βασική δοσολογία σπέρματος που δίδεται σε μια βασίλισσα είναι από 8 έως 12 μl . Αν για κάποιο λόγο δοθεί μια ανεπαρκής δόση σπέρματος, η βασίλισσα μπορεί να οδηγηθεί σε πρόωρη υπερπλασία ή πρόωρη αποτυχία.
3. Η φροντίδα των βασιλισσών μετά τη σπερματέγχυση επηρεάζει την αποθήκευση των σπερματοζωαρίων (Woyke, 1979). Η ενεργή βασίλισσα, οι κατάλληλες θερμοκρασίες των νεογνών και η παρουσία των εργατριών προάγουν το σπέρμα στη σπερματοθήκη της βασίλισσας. Ακόμη, οι βασίλισσες που περιορίζονται σε κλουβιά μετά τη σπερματέγχυση τείνουν να αποθηκεύουν λιγότερα σπερματοζωάρια και να διατηρούν το σπέρμα στους ωαγωγούς τους.

4.8. Αίτια που προκαλούν το θάνατο των βασιλισσών κατά την τεχνητή σπερματέγχυση

1. Κάποιος τραυματισμός της βασίλισσας κατά τη διαδικασία της τεχνητής σπερματέγχυσης.
2. Κάποια μόλυνση που μπορεί να προκληθεί από μη αποστειρωμένα εργαλεία.
3. Όταν δεν έχει γίνει σωστή νάρκωση
4. Όταν δεν γίνεται σωστή διατήρηση και φροντίδα των βασιλισσών
5. Όταν για παρά πάνω από 2 ημέρες μένουν υπολείμματα σπέρματος στον κοινό ωαγωγό.
6. Όταν κατά την είσοδό τους στα μελίτσια, οι βασίλισσες δέχονται επίθεση από τις εργάτριες.
7. Όταν χρησιμοποιούνται οι βασίλισσες, για τεχνική σπερματέγχυση, σε λάθος ηλικία. Όπως αναφέραμε και πιο πάνω.

4.9. Πλεονεκτήματα της τεχνητής σπερματέγχυσης

1. Η τεχνητή σπερματέγχυση είναι η μόνη διαδικασία γονιμοποίησης που εξασφαλίζει τον πλήρη έλεγχο των συζεύξεων.
2. Μπορεί να γίνει οποιαδήποτε ώρα, μέρα, εποχή του χρόνου επιθυμούμε. Υπάρχουν κάποιες μέθοδοι με τις οποίες μπορούν αν παραχθούν βασίλισσες και κηφήνες ακόμη και τον χειμώνα, με κάποιους ειδικούς χειρισμούς.
3. Για την τεχνητή σπερματέγχυση μιας βασίλισσας μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε όσους κηφήνες θέλουμε, 2 ή ακόμη και 20.
4. Ο βασικός λόγος που χρησιμοποιούμε την τεχνητή σπερματέγχυση είναι για την έρευνα όπου η δυνατότητα διαφόρων διασταυρώσεων είναι απεριόριστη.
5. Η βασίλισσα μπορεί να γονιμοποιηθεί με ένα μέρος σπέρματος το οποίο έχει δημιουργηθεί από τη μίξη σπέρματος 50 ή 100 κηφήνων.
6. Εφόσον υπάρχουν κηφήνες σε μεγάλο αριθμό, μπορεί να συλλεχθεί το σπέρμα τους, να διατηρηθεί σε υγρό άζωτο (-196 °C) και να χρησιμοποιηθεί σε εποχή που δεν υπάρχουν κηφήνες. Το σπέρμα διατηρείται ακόμη και για ένα χρόνο.
7. Το σπέρμα μπορεί να συλλεχθεί σε μια περιοχή και να μεταφερθεί σε κάποια άλλη (ακόμη και από μια χώρα σε μια άλλη), χωρίς να υπάρχει κίνδυνος μεταφοράς ασθενειών.

4.10. Μειονεκτήματα της τεχνητής σπερματέγχυσης

1. Χρειάζεται κάποιος χρόνος για τη σωστή εκπαίδευση στην τεχνητή σπερματέγχυση.
2. Απαιτούνται ειδικές γνώσεις στη γενετική για την καλύτερη χρήση και εφαρμογή της τεχνικής.
3. Η συσκευή που χρειάζεται για την τεχνητή σπερματέγχυση καθώς και όλα τα εργαλεία και υλικά, κοστίζουν κάποια χρήματα.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω η σημασία και η συμβολή της μέλισσας για τον άνθρωπο είναι μεγάλη. Συνεπώς και η γενετική βελτίωση του είδους προς όφελος του ανθρώπου κρίνεται απαραίτητη. Η διαδικασία της τεχνητής σπερματέγχυσης είναι ο μόνος αποτελεσματικός τρόπος με τον οποίο μπορεί να γίνει ελεγχόμενη σύζευξη των μελισσών και είναι μια διαδικασία βοηθητική και πολύ αποτελεσματική για τους μελισσοκόμους και τους ερευνητές.

Όπως προκύπτει και βιβλιογραφικά τα πλεονεκτήματα της διαδικασίας είναι περισσότερα από τα μειονεκτήματα για αυτό και είναι ευρέως διαδεδομένη. Παρ' όλο όμως που η τεχνική αυτή έχει αναπτυχθεί πολύ στις μέρες μας και όλο και περισσότεροι ασχολούνται με αυτήν, χρειάζεται πολύ καλή εκπαίδευση και πολύ συγκεκριμένος χειρισμός των εργαλείων και της συσκευής ώστε να πετύχει η τεχνητή σπερματέγχυση. Επομένως, δεν μπορεί να κάνει ο οποιοσδήποτε τεχνητή σπερματέγχυση με θετικά αποτελέσματα.

Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της εφαρμογής της τεχνικής πρέπει να τηρούνται τα πρωτόκολλα για την άμεση επιτυχία της διαδικασίας. Σημαντικό ρόλο επίσης έχει ο χειρισμός και η περιποίηση των κηφήνων και των βασιλισσών για να υπάρχουν τα επιθυμητά αποτελέσματα. Σε περίπτωση που δεν γίνει ο σωστός χειρισμός της βασίλισσας κατά τη διάρκεια της τεχνικής και στην κατάλληλη ηλικία, τα αποτελέσματα όχι μόνο θα είναι αρνητικά, αλλά μπορεί να επιφέρουν και το θάνατο της βασίλισσας.

Τέλος, η τεχνική της τεχνητής σπερματέγχυσης είναι απλή, το σπέρμα μπορεί να συληθεί και να μεταφερθεί από μια περιοχή σε μια άλλη και να διατηρηθεί για καιρό. Ενώ τα μειονεκτήματα είναι λίγα και μπορούν εύκολα να ξεπεραστούν, εκτός από το κόστος της διαδικασίας. Ελπίζουμε στο μέλλον τα όργανα και τα υλικά να κοστίζουν λιγότερο ώστε η τεχνητή σπερματέγχυση να γίνει μια διαδικασία μόνο με πλεονεκτήματα για τους ερευνητές, τους μελισσοκόμους και τις μέλισσες με ολόένα και μεγαλύτερη γενετική βελτίωση του είδους.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bolten A., and Harbo J. R. (1982), Numbers of Spermatozoa in the Spermatheca of the Queen Honeybee after Multiple Inseminations with Small Volumes of Semen, *Journal of Apicultural Research*, Vol. 21 (1), p. 7-10.
- Laidlaw H.H. (1944), Artificial insemination of the queen bee (*Apis mellifera L.*): Morphological basis and results, *Journal of Morphology*, Vol. 74 (3), p. 429-465.
- Laidlaw H.H. (1949), Development of precision Instruments for Artificial Insemination of Queen Bees, *Journal of Economic Entomology*, Vol. 42 (2), p. 254- 261.
- Woyke J. (1956), The mating of the honeybee F. Ruttner, *Bee World*, Vol.37 (1).
- Mackensen O. (1955), Experiments in the Technique of Artificial Insemination of Queen Bees 1, *Journal of Economic Entomology*, Vol. 48 (4), p. 418–421.
- Baer B. and Schmid-Hempel P (2000), The artificial insemination of bumblebee queens, *Springer Link*, Vol. 47 (2), p. 183-187
- Cobey S. W., Tarpay D. R., Woyke J. (2013), Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens, *Journal of Apicultural Research*, Vol. 52(4), p. 1-18.
- Büchler R., Andonov Sr., Bienefeld K., Costa C., Hatjina F., Kezic N., Kryger P., Spivak M., Uzunov A., Wilde J. (2013), Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens, *Journal of Apicultural Research* Vol. 52(1).
- Χαριζάνης Π. (2014). ΜΕΛΙΣΣΑ ΚΑΙ ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ, Γ΄ ΕΚΔΟΣΗ ΒΙΒΛΙΟΣΥΝΕΡΓΑΤΙΚΗ, ΑΘΗΝΑ, ISBN 978-960-93-5861-3.

- Χατζήνα Φ. (2017), ΜΕΘΟΔΟΙ ΒΑΣΙΛΟΤΡΟΦΙΑΣ, Ινστιτούτο Δήμητρα, Τμήμα Μελισσοκομίας, Ινστιτούτο Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής Νέα Μουδανιά.
- Potts S.G., Roberts S. P.M., Dean R., Marris G., Brown M. A., Jones R., Neumann P., Settele J. (2010), Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe, *Journal of Apicultural Research*, Vol. 49 (1), p. 15-22.
- Χαριζάνης Π. (1996), Μέλισσα και Μελισσοκομική Τεχνική. Θεσσαλονίκη, σελ. 263.

Διαδίκτυο

- Βιολογία μέλισσας, Χατζήνα Φ.,
<http://beeginner.eu/wpcontent/uploads/2013/03/biologiamelissas.pdf>
- Melissokomia.com, www.melissokomia.com
- Χατζήνα Φ. (2017), Η γενετική βελτίωση των ντόπιων μελισσών στην Ελλάδα του 21ου αιώνα, *publications, Demeter magazine*, σελ. 12-15, <http://www.elgo.gr>
- Η παραγωγή βασιλισσών, Χαριζάνης Π., <http://efp.aua.gr/sites/efp.aua.gr>