

# Učinkovitost primjene inovativnog sredstva ApiBonum ib na vitalnost pčelinjih zajednica

---

**Petek, Stjepan**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2025**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:122888>

*Rights / Prava:* [In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-14**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI  
STUDIJ *VETERINARSKA MEDICINA*

DIPLOMSKI RAD

Stjepan Petek

Učinkovitost primjene inovativnog sredstva ApiBonum ib  
na vitalnost pčelinjih zajednica

Zagreb, 2025.

Stjepan Petek

Odjel za animalnu proizvodnju i biotehnologiju

Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela

PREDSTOJNIK:

Izv. prof. dr. sc. Krešimir Matanović

MENTORICA:

Prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Prof. dr. sc. Andreja Prevendar Crnić
2. Prof. dr. sc. Srebrenka Nejedli
3. Prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger
4. Izv. prof. dr. sc. Krešimir Matanović (zamjena)

Rad sadržava 39 stranica, 21 sliku, 48 literaturna navoda.

## ZAHVALE

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Ivani Tlak Gajger na pomoći, strpljenju i podršci tijekom pisanja ovog rada. Također zahvaljujem djelatnicima Zavoda za biologiju i patologiju pčela na tehničkoj podršci.

Hvala obitelji na podršci i uzdržavanju tijekom školovanja.

Hvala prijateljima na pomoći tijekom studiranja.

## POPIS PRILOGA

Slika 1. Odrasla ženka grinje <i>Varroa destructor</i> (Izvor: <a href="https://meridianbeekeepers.com/2020/10/23/varroa-an-overview/">https://meridianbeekeepers.com/2020/10/23/varroa-an-overview/</a> ). .....	4
Slika 2. Životni ciklus grinje <i>Varroa destructor</i> (Izvor: <a href="https://www.ars.usda.gov/pacific-west-area/tucson-az/carl-hayden-bee-research-center/research/varroa/varroa-mite-life-cycle-and-reproduction/">https://www.ars.usda.gov/pacific-west-area/tucson-az/carl-hayden-bee-research-center/research/varroa/varroa-mite-life-cycle-and-reproduction/</a> ). .....	7
Slika 3. Kukuljica invadirana grinjom <i>Varroa destructor</i> (Izvor: <a href="https://www.blog-veto-pharma.com/en/field-bioassay-to-detect-varroa-mite-resistance-in-the-apiary/">https://www.blog-veto-pharma.com/en/field-bioassay-to-detect-varroa-mite-resistance-in-the-apiary/</a> ). .....	9
Slika 4. Primjena mravlje kiseline (Izvor: <a href="https://carolinahoneybees.com/formic-acid-treatment-for-bees/">https://carolinahoneybees.com/formic-acid-treatment-for-bees/</a> ). .....	15
Slika 5. Izgled pčelinjaka na kojem je proveden terenski dio istraživanja.....	17
Slika 6. Vizualno procjenjivanje jačine pčelinjih zajednica. ....	18
Slika 7. Uzorci odraslih pčela. ....	19
Slika 8. ApiBonum ib u košnici. ....	19
Slika 9. Postavljanje VMP-a CheckMite+ u košnicu nastanjenu pčelinjom zajednicom. ....	20
Slika 10. Pomoćno sredstvo za higijenu pčelinje zajednice - ApiBonum ib (Izvor: <a href="https://www.medopip.hr/apibonum-ib-1-10.html">https://www.medopip.hr/apibonum-ib-1-10.html</a> ). .....	21
Slika 11. Podloška antivaroozne podnice. ....	21
Slika 12. Grinja <i>V. destructor</i> na podlošci antivarooze podnice. ....	21
Slika 13. Tretiranje pčelinje zajednice otopinom oksalne kiseline (Izvor: <a href="https://receptiasmir.wordpress.com/2016/11/11/tretiranje-pcela-oksalnom-kiselinom/">https://receptiasmir.wordpress.com/2016/11/11/tretiranje-pcela-oksalnom-kiselinom/</a> ). .....	22

Slika 14. Uzorci odraslih pčela namijenjeni za laboratorijsko pretraživanje. ....	24
Slika 15. Pripremljeni uzorci odraslih pčela na magnetskoj miješalici. ....	24
Slika 16. Cjedilo s filter papirom. ....	24
Slika 17. Grinja <i>V. destructor</i> na filter papiru. ....	24
Slika 18. Prikaz procijenjene jačine pčelinjih zajednica za pokusne i kontrolne skupine na početku pokusa (A – ApiBonum ib; B – CheckMite+; C – kontrola bez tretmana). ....	25
Slika 19. Prikaz procijenjene jačine pčelinjih zajednica za pokusne i kontrolne skupine na kraju pokusa (A – ApiBonum ib; B – CheckMite+; C – kontrola bez tretmana). ....	26
Slika 20. Prikaz broja otpalih grinja <i>V. destructor</i> nakon tretiranja pčelinjih zajednica ((A – ApiBonum ib; B – CheckMite+; C – kontrola bez tretmana).....	27
Slika 21. Prikaz broja otpalih grinja <i>V. destructor</i> nakon jednokratnog tretmana oksalnom kiselinom (A – ApiBonum ib; B – CheckMite+; C – kontrola bez tretmana). ....	28

## KRATICE

AV podnica- antivaroorna podnica

VMP- veterinarsko medicinski proizvod

VSH- naglašena higijenska osjetljivost prema invadiranim stanicama saća (engl. varroa sensitive hygiene)

WOAH- Svjetska organizacija za zdravlje životinja (engl. World organisation for animal health)

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA .....	3
2.1. Varooza.....	3
2.2. Morfologija grinje <i>V. destructor</i> .....	3
2.3. Životni ciklus.....	5
2.4. Načini širenja varooze.....	7
2.5. Štete nastale parazitiranjem grinje <i>V. destructor</i> .....	8
2.6. Dijagnostika i kontroliranje varooze.....	10
2.7. Rezistencija grinja <i>V. destructor</i> .....	11
2.8. Grinja <i>V. destructor</i> kao prijenosnik virusa.....	12
2.9. Alternativni načini liječenja varooze .....	13
3. MATERIJAL I METODE.....	17
3.1. Lokacija i izgled pčelinjaka.....	17
3.2. Određivanje jačine pčelinjih zajednica .....	18
3.3. Postavljanje ApiBonum ib i CheckMite+ u košnice.....	19
3.4. ApiBonum ib .....	20
3.5. Praćenje opadanja grinje <i>V. destructor</i> .....	21
3.6. Tretiranje pčelinjih zajednica oksalnom kiselinom .....	22
3.7. Laboratorijsko određivanje jačine invadiranosti grinjama <i>V. destructor</i> .....	22
4. REZULTATI.....	25
4.1. Jačina pčelinjih zajednica.....	25
4.2. Učinkovitost otpadanja grinja <i>V. destructor</i> .....	27
4.3. Učinak tretmana oksalnom kiselinom.....	28
5. RASPRAVA .....	29



6. ZAKLJUČCI.....	31
7. LITERATURA.....	32
8. SAŽETAK .....	37
9. SUMMARY .....	38
10. ŽIVOTOPIS.....	39

## 1. UVOD

Medonosna pčela (*Apis mellifera*) je eusocijalni kukac najpoznatiji po svojoj ulozi u oprašivanju i održavanju biološke raznolikosti biljaka (PAPA i sur., 2022.). Zbog svoje važne uloge u oprašivanju, kao i u proizvodnji meda i ostalih pčelinjih proizvoda, pčela je postala jedna od ključnih životinja u poljoprivrednom gospodarstvu zbog čega je oduvijek imala posebno mjesto u životima ljudi (VIDAL-NAQUET i sur., 2014.). U poljoprivrednoj proizvodnji zajednice medonosne pčele zasigurno su najvrjednije među kukcima oprašivačima zbog mogućnosti uzgoja u košnicama i mogućnosti njihove selidbe. Kako je uloga pčela iznimno važna u ekosustavu, javlja se zabrinutost zbog izvješća da su gubici pčelinjih zajednica u stalnom rastu (GENERSCH, 2010.).

Posljednjih desetljeća zabilježeno je smanjenje vrsta pčela na različitim područjima i kontinentima iz razloga što su pčele izložene različitim stresorima (GREGORC i sur., 2022.). Dokazano je da istodobni utjecaj kombinacije nepovoljnih čimbenika uzrokuje slabljenje i posljedično smanjenje broja pčelinjih zajednica, a u prvom redu to su pesticidi, bolesti, gubitak i fragmentacija staništa, smanjenje raznolikosti i dostatnosti cvijeća, kao i povećanje monokulturne proizvodnje u poljoprivredi (GOULSON i sur., 2015.; GREGORC i sur., 2022.). Kako su sve više izražene, klimatske promjene uvelike će utjecati na populaciju i bioraznolikost pčela u budućnosti, kao što je već primijećen utjecaj na druge korisne kukce (PARMESAN i sur., 1999.; BROWN i PAXTON, 2009.). Vrlo je teško predvidjeti utjecaj raznih čimbenika na pčelinje populacije jer oni uglavnom ne djeluju nezavisno već imaju međusobno djelovanje (BROWN i PAXTON, 2009.).

Globalna slika pokazuje kako su glavni uzročnici gubitaka pčelinjih zajednica u svijetu jake invazije ektoparazitskom grinjom *Varroa destructor*. Različite vrste grinja povezane su s medonosnom pčelom, no ekonomski značajni nametnici su: *V. destructor*, *Acarapis woodi*, *Tropilaelaps* spp. koji velikim brojem u mnogim slučajevima mogu dovesti do propadanja pčelinjih zajednica. Kako je *V. destructor* obvezatni nametnik koji ima sposobnost parazitiranja na različitim razvojnim stadijima pčela, smatra se da je upravo on, najopasniji štetnik pčelinjih zajednica diljem svijeta (HRISTOV i sur., 2020.). Polovicom prošlog stoljeća došlo je do širenja varooze Europom, te se od tada pa sve do danas, pčelarstvo suočava s velikim izazovom (LE CONTE i sur., 2020.). Azijska medonosna pčela (*Apis cerana*) izvorni je nosioc uzročnika varooze, dok se prijelaz na novog nosioca odvio između 1940. i 1960., a 1950. godine na području Koreje prvi put je uzročnik zamijećen u radiličkom leglu *A. mellifera*. Širenju varooze najviše je

pogodovala globalizacija pčelarstva pri čemu je azijska medonosna pčela došla u kontakt s europskom pčelom (ELIASH i MIKHEYEV, 2020.). Zbog činjenice da su štete koje grinja uzrokuje ključne u smanjenju broja pčelinjih zajednica diljem svijeta, neophodno je provoditi redovite antivarozne tretmane protiv bolesti. Stoga su istraživanja izuzetno važna, ne samo kako bi objasnila kompleksan odnos između domaćina i nametnika, već i kako bi se pronašlo održivo rješenje za pčelarstvo (ROSENKRANZ i sur., 2010.). Tri su stupa na kojima se oslanja borba protiv varooze u posljednjih nekoliko desetljeća i koja su se pokazala ključnim za održivo gospodarenje: biotehnološke i fizikalne metode, kemijski tretmani i uzgoj pčela otpornih na varoozu. Zadnja metoda, dugoročno gledano je najodrživija jer predstavlja korak prema samoodrživim populacijama pčela. Vidljiv je značajan napredak u poznavanju ovih metoda kao i upotreba istih u skladu s lokalnim i globalnim uvjetima i mogućnostima (BUBNIČ i sur., 2021.). No, kako bi se izbjegla stalna i dugotrajna uporaba sintetskih akaricida predlaže se upotreba različitih alternativnih akaricida. Pretjeranom uporabom sintetskih akaricida mogući je razvoj rezistencije kod nametnika, te dolazi do nakupljanja aktivnih sastojaka i njihovih metabolita u pčelinjim proizvodima (rezidua), s naknadnim rizikom za potrošače. Alternativa sintetskim akaricidima su prirodni metaboliti kao što su npr. esencijalna ulja i organske kiseline koje također djeluju akaricidno, te su pobudili veliki interes tijekom godina jer su ekološki prihvatljiviji, učinkoviti u smanjenju razine broja grinja i sigurni za medonosne pčele (NARCISO i sur., 2024.).

U ovom radu su ispitivana akaricidna svojstva inovativnog sredstva ApiBonum ib u pčelinjim zajednicama različite jačine. ApiBonum ib postavljen je na okvire unutar košnice, a njihov antivaroozni učinak je praćen pregledom podložaka na podnici košnice i brojenjem otpalih grinja tijekom 30 dana. Prije tretmana određena je jačina svake pojedine zajednice, a paralelno je praćena i kontrolna skupina pčelinjih zajednica tretirana registriranom i za uporabu u pčelarstvu odobrenom veterinarsko-medicinskom proizvodom Checkmite+.

Cilj rada bio je odrediti akaricidnu učinkovitost inovativnog sredstva ApiBonum ib kao sredstva za održavanje higijene košnice i odrediti njegov utjecaj na vitalnost pčelinjih zajednica.

## 2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

### 2.1. Varooza

Nametnička grinja *V. destructor* uzrokuje varoozu zapadne (europske) medonosne pčele. Grinja je izvorni nametnik azijske medonosne pčele (*Apis cerana*), no globalizacija pčelarstva omogućila je grinji prijelaz na novog neadaptiranog domaćina (BEAUREPAIRE i sur., 2015.). Kod pčelinjih zajednica azijske medonosne pčele uočava se uravnotežen odnos između nametnika i domaćina, dok kod europske medonosne pčele, za koje je *V. destructor* novi nametnik, još uvijek nije došlo do uspostavljanja te ravnoteže zbog činjenice da one još uvijek nisu razvile učinkovite obrambene mehanizme (TLAK GAJGER, 2019.). U zajednicama azijske medonosne pčele *V. destructor* uzrokuje samo ograničenu štetu zbog obrambenih mehanizama koje su te pčele razvile, a utječu na razmnožavanje grinje. Najučinkovitiji mehanizmi su nemogućnost razmnožavanja u radiličkom leglu, uništavanje trutovskog legla invadiranog s više grinja i izraženo higijensko ponašanje. Grinja ima dobro razvijenu prilagodbeni sposobnost, pa je tako višestruko proširila svoj raspon nosioca, ima razvijenu sposobnost kemoosjetljivosti, lako se širi unutar i između pčelinjih zajednica, te brzo razvija rezistenciju na akaricide (TRAYNOR i sur., 2020.).

Kao ekonomski važna bolest pčelinjih zajednica, varooza se nalazi na listi Svjetske organizacije za zdravlje životinja (WOAH), a njezino kontroliranje je dodatno regulirano posebnim nacionalnim zakonskim propisima u nekim europskim zemljama. Određivanje stupnja invadiranosti grinjom u pčelinjim zajednicama, kao i primjena pravilnih dijagnostičkih metoda, ključne su za učinkovito suzbijanje bolesti (GREGORC i SAMPSON, 2019.). Za pčelara je pravilno provođenje mjera kontroliranja varooze istodobno i nužnost i obaveza (TLAK GAJGER, 2019.).

### 2.2. Morfologija grinje *V. destructor*

Odrasli primjerci grinje imaju nesegmentirano dugoljasto oblikovano tijelo (ROTH i sur., 2020.). Grinja *V. destructor* ima dva jasno definirana dijela tijela: idiosoma, koju čine leđni i trbušni štitovi, te gnatosoma koja predstavlja dijelove usnog aparata (ROSENKRANZ i sur., 2010.; ROTH i sur., 2020.). Mužjaci grinje puno su manji od ženke, tako je prosječna dužina tijela mužjaka oko 0,70 mm, dok je širina oko 0,72 mm. Razlikovanje spolova prilično je jednostavno, ženke grinja u odnosu na mužjake dosta su veće, pa je kod njih prosječna dužina tijela oko 1,1 mm, dok širina iznosi oko 1,6 mm (MAGGI i sur., 2011.; ROTH i sur., 2020.). Tijelo ženke (Slika

1) je crvenkasto - smeđe boje, te elipsoidnog, spljoštenog oblika prekriveno malim hitinskim dlačicama, od kojih neke služe da grinja ostane vezana za svog domaćina, a neke imaju osjetilnu funkciju mehanoreceptora i kemoreceptora. Ženke na svojim nogama imaju razvijene specijalizirane strukture zvane apoteli (kukice), koji im služe za lakše prianjanje za pčelu (ROTH i sur., 2020.). Ženke grinja imaju puno razvijeniji usni aparat nego mužjaci, iz tog razloga samo ženke imaju mogućnost prodrijeti u pčelinje leglo i perforirati egzoskelet odraslih pčela. Stoga samo ženke mogu preživjeti izvan legla, dok je mužjak ograničen na stanicu legla i obavlja svoju primarnu funkciju, a to je parenje s drugim grinjama unutar stanice saća. Vrlo razvijeni receptori na osjetilnim dlačicama omogućavaju grinji da uočava razlike u temperaturi, vlazi i kemijskim podražajima. Osjet dodira također je dobro razvijen pa je grinja sposobna uhvatiti i najmanje vibracije unutar košnice. Kako grinja ne može čuti ili vidjeti, svoj put u košnici pronalazi razlikovanjem svijetla od tame. Zahvaljujući istraživanju dokazano je da grinja na prednjim nogama ima razvijeni osjetilni organ putem kojeg može osjetiti miris i okus. Kako je osjetilni sustav dobro razvijen, grinja vrlo lako može locirati stanice pčelinjeg legla u košnici.



Slika 1. Odrasla ženka grinje *Varroa destructor* (Izvor: <https://meridianbeekeepers.com/2020/10/23/varroa-an-overview/>).

### 2.3. Životni ciklus

Životni ciklus *V. destructor* (Slika 2) podijeljen je u dvije faze: reproduktivnu fazu u kojoj majka grinja polaže svoja jaja, a odvija se unutar stanica pčelinjeg legla, te foretska faza koja predstavlja razdoblje u kojemu zrela ženka parazitira na odraslim pčelama. U zajednicama europske medonosne pčele, grinja prosječno ima 0,7 do 1,45 ženskih kćeri u stanicama radiličkog legla i 1,6 do 2,5 kćeri u trutovskim stanicama (TRAYNOR i sur., 2020.). Grinja ima povećan potencijal razmnožavanja u trutovskom leglu, zbog čega i pokazuje višestruku sklonost prema trutovskim stanicama saća, a za invaziju odgovarajuće stanice, grinja koristi oblik “kemijske špijunaže” pomoću kemijskih tvari nazvanih kairomone. Kairomoni predstavljaju vrstu feromona, odnosno kemijske tvari koje su specifične za pčelu, a koje paraziti mogu prepoznati i iskoristiti u svoju korist. Udio grinja u stanicama legla i na pčelama nije uvijek isti, pošto se količina trutovskog i radiličkog legla mijenja tijekom sezone. Nakon ulaska u odabranu stanicu saća, majka grinja se skriva unutar hrane dišući kroz peritrem koji se pruža iznad tekuće hrane. U ovom razdoblju grinja ostaje nepokretna kako bi se osigurala od uklanjanja iz stanice saća od strane pčela njegovateljica koje pregledavaju stanicu prije zatvaranja. U razdoblju kada se ličinka pčele počinje rastezati po dužini stanice i stvara kukuljicu, grinja se prihvaća na predkukuljicu i perforira kutikulu (kožu) pčele u svrhu stvaranja mjesta za hranjenje. Uz pomoć antikoagulansa kojeg grinje izlučuju putem sline i procesa supresije zacjeljivanja rane kod pčele, mjesto za hranjenje ostaje otvoreno duže vrijeme (TRAYNOR i sur., 2020.). Razvoj jajašaca kod varoee, otprilike šest sati nakon što je ženka grinja ušla u leglo, aktiviraju se mirisi pčelinje ličinke i zatvaranje stanica saća voštanim poklopcem od strane pčela radilica. Preduvjet da bi razmnožavanje grinje bilo uspješno je hranjenje bjelančevinasto - masnim tijelom pčelinje ličinke. Proces polaganja jaja zahtjevan je zadatak za koji treba puno energije, a tu energiju majka grinja dobiva metaboliziranjem tkiva pčele. Koliko je taj proces zahtjevan govore proteomska i transkriptomski istraživanja koja pokazuju pad metaboličkih enzima ugljikohidrata tijekom polaganja jaja. Ovaj energetska pad podudara se s razdobljem nemetaboliziranog prijenosa hranjivih tvari kod majke grinje. U tom se razdoblju hranjive tvari koje majka grinja uzima od pčele prenose u jajašca. Dakle, pojedine hranjive tvari, osobito proteini prolaze kroz probavni sustav grinje netaknuti katalitičkim enzimima, te se ugrađuju u jajašca te postaju njihov sastavni dio. 60 do 70 sati nakon ulaska u stanicu majka grinja polaže prvo haploidno jaje, a nakon toga preuzima brigu za jaje koje lijepi na gornju staničnu stijenkicu jer je upravo to najsigurnije mjesto tijekom stvaranja pčelinje kukuljice (TRAYNOR i

sur., 2020.). Kako prvo jaje nije oplodeno, uvijek se razvije u mužjaka. Svakih 30 sati nakon ove faze, majka polaže po jedno diploidno jaje, odlažući ih dalje niz staničnu stijenk (TRAYNOR i sur., 2020.). Potrebno je šest dana da nimfe sazriju u odrasle ženke, dok je mužjacima potrebno sedam dana za isti proces. Kada prođe vrijeme koje je potrebno da ženka sazrije, ona se pari s novorazvijenim mužjakom. To se parenje mora dogoditi prije nego se pčela izađe iz stanice saća, jer mužjaci i ženke koji se nisu parili, ugibaju nakon što pčela izađe iz stanice. Grinja u stanicama radiličkog legla u razvoju ostaje sveukupno 12 dana kako bi dovršila proces parenja, dok u trutovskim stanicama ostaje i do 14 dana. *V. destructor* preferira trutovsko leglo upravo zbog činjenice da u njima njezino razvojno razdoblje može trajati i više od 24 sata dulje nego u radiličkom leglu. Zbog toga su trutovske stanice zaražene pet do deset puta češće od radiličkog legla. Kako bi se što više uklopila u okoliš svakog pojedinog pčelinjaka, grinja je sposobna prilagođavati svoju prehranu i razmnožavanje. To im omogućuje da se tijekom sezone razmnožavanja pčela, stupanj njihova invazije udvostruči svaka tri do četiri tjedna. Životni vijek grinje dosta ovisi o klimatskim prilikama, pa tako u umjerenim klimatskim uvjetima živi dva do tri mjeseca ljeti te šest do osam mjeseci zimi. Izlaskom iz stanice, pčela na sebi nosi sparene grinje (majka i kćeri) (TRAYNOR i sur., 2020.). Foretska faza predstavlja razdoblje života grinje kada one prelaze s jedne na drugu odraslu pčelu. Kako grinja ne bi bila uklonjena s tijela pčele tijekom specijalnog načina ponašanja pčela, tzv. samočišćenja, ona se prihvaća na posebno mjesto na tijelu pčele, odnosno na području trbušnog dijela intersegmentalnih membrana i na prijelazu prsišta u zadak. Dugo se vjerovalo da je *V. destructor* nametnik sličan krpelju koji se hrani hemolimfom. No, građa usnog aparata i probavnog sustava ukazuju na to da je grinja organizam koji se hrani polučvrstim tkivom putem ekstraoralne probave. Analize izmeta grinje pokazuju da se izmet pretežno sastoji od gvanina s tragovima hipoksantina, mokraćne kiseline i kofeina što upućuje na prehranu bogatu proteinima s malom količinom vode. Dakle, novija istraživanja dokazuju da se grinja najvećim dijelom hrani bjelančevinasto-masnim tijelom iz koje izvlači bjelančevine koje su nužne za proizvodnju jaja, a to potvrđuje i analiza sadržaja crijeva grinje u kojemu je pronađeni djelovi tkiva bjelančevinasto-masnog tijela. Tako su novija istraživanja pobila desetljećima dugu teoriju da se grinja hrani isključivo hemolimfom (TRAYNOR i sur., 2020.).



Slika 2. Životni ciklus grinje *Varroa destructor* (Izvor: <https://www.ars.usda.gov/pacific-west-area/tucson-az/carl-hayden-bee-research-center/research/varroa/varroa-mite-life-cycle-and-reproduction/>).

#### 2.4. Načini širenja varooze

Grinja *V. destructor* može se prenositi na više načina, no smatra se da je grabež primarni put za prijenos uzročnika varooze između košnica. U razdoblju od kasnog ljeta do jeseni izvori prirodne hrane za pčelu postaju rijetki, pa je upravo to doba kada je grabež najučestaliji jer pčele počinju *krasti* zalihe hrane slabijim pčelinjim zajednicama. Upravo su najslabije pčelinje zajednice, a time i najpogodnije za grabež, one koje su oslabljene parazitiranjem grinje. Tijekom grabeža, grinja se prihvaća na pčele “pljačkašice” i na taj način se prenosi u drugu košnicu. Grabež je savršeni način da različite pčelinje zajednice i pčelinjaci dolaze u kontakt, šireći na taj način grinje na veće udaljenosti. Iz tog razloga čak i pčelinjaci koji su pravilno tretirani protiv varooze nisu sigurni od ponovne invazije grinjom, a pošto se grinja vrlo lako prenese iz lokalnih pčelinjaka koji nisu ili su nepravilno tretirani. Veliki problem u širenju nametnika su tzv. *lutajuće pčele* koje, vraćajući se s paše, ulaze u tuđe košnice i na taj način vrlo lako prenose grinje među pčelinjim zajednicama. Rojenje kao prirodni način razmnožavanja zajednice također ima ulogu u širenju varooze. Na vrhuncu pašne sezone kada košnica postaje pretijesna za velik broj pčela, otprilike polovica pčela radilica napušta zajednicu kako bi u obliku roja osnovala novu zajednicu sa starom maticom, a u toj *selidbi* sa sobom iz košnice nose i grinje. Pri postupku koji se provodi u svrhu



sprječavanja rojenja može se donekle smanjiti invazija grinjama, pošto se postojeća pčelinja zajednica dijeli na dva dijela i to tako da se postojeća košnica sa starom maticom seli na novo mjesto, dok na mjesto stare košnice dolazi nova s nešto legla, peluda i nektara. Na taj se način smanjuje količina pčelinjeg legla u svakoj pojedinoj košnici, a s time i količina grinja unutar pojedine zajednice. Značajan je i tretman protiv varooze pri postupku umjetnog razrojavanja pčelinjih zajednica kojim se dodatno može smanjiti invadiranost grinjom u novonastalim pčelinjim zajednicama. Ne treba zanemariti i ljudski uzjecaj u širenju bolesti pčela jer se premještanjem zajednica, kao i trgovinom matica i pčela, grinje lako može proširiti na velike geografske udaljenosti.

## 2.5. Štete nastale parazitiranjem grinje *V. destructor*

Kako je već navedeno, *A. mellifera* ne posjeduje obrambene mehanizme s kojima bi se mogla boriti protiv grinje *V. destructor*, za razliku od *A. cerana* koja je evoluirala zajedno s *V. destructor* te je uspješno razvila takve mehanizme (ROTH i sur., 2020.). Bez obrambenih mehanizama svaka pčela biva oštećena na više načina, a razvojni stadiji pčela, ličinka i kukuljica, najosjetljiviji su na parazitiranje (ROSENKRANZ i sur., 2010.). U slučajevima kada je pčelinje leglo jako invadirano (Slika 3), ono ugiba u svim razvojnim stadijima, dok su poklopci stanica saća vidno oštećeni u vidu uleknuća i pukotina (TLAK GAJGER, 2019.). Opće promjene koje zahvaćaju gotovo svaku invadiranu pčelu su skraćeni životni vijek, gubitak tjelesne mase, smanjen sadržaj vode u organizmu, smetnje u ekspresiji imunoloških gena, poremećeni neuralni procesi i poteškoće u učenju i ponašanju, što se najviše odražava na letenje i orijentaciju. Tjelesna masa često se uzima kao predmet analiziranja kada je riječ o istraživanju posljedica parazitiranja grinjom *V. destructor*, pa tako više istraživanja ukazuje na značajano smanjenje tjelesne mase kod pčela. Rezultati jednog istraživanja su pokazali da su zdrave pčele imale 5% veću masu nego pčele invadirane jednom grinjom, a ta se razlika povećavala na 7% kod pčela invadiranih s tri ili više grinja (MORFIN i sur., 2023.). Također je dokazano da ova grinja nanosi velike štete zbog hranjenja lipidima pčele, a posljedica toga je njeno opće slabljenje i značajan pad imuniteta (ROTH i sur., 2020.). Tijekom razvoja, pčelinje kukuljice koje su invadirane grinjama izgube 15 do 20% tjelesne mase, posljedično tome iz takvih se kukuljica razvijaju sitne odrasle pčele koje se teško

uklapaju u organiziranu podjelu rada unutar pčelinje zajednice. Te su pčele slabije razvijene, a posebice je slabo razvijena mliječna žlijezda, dok su voskovne žlijezde degenerirane.

Grinja također stvara velike probleme pčelama skupljačicama jer kod njih mijenja sposobnost letenja i orijentacije. Posljedično tome pčele imaju smanjenu sposobnost sakupljanja hrane i resursa iz prirode koji su prijeko potrebni za razvoj i opstanak pčelinje zajednice. Trutovi invadirani grinjom izlaze sa znatnom manjom tjelesnom masom, a na taj način grinja izaziva deficit u proizvodnji sperme i općenito smanjuje sposobnost razmnožavanja jer je kod medonosnih pčela broj spermatozoida u korelaciji s veličinom tijela truta. Sve invadirane pčele imaju oslabljen imunološki odgovor jer grinja svojim parazitiranjem smanjuje regulaciju ekspresije imunološkog gena i uzrokuje proteomske promjene u imunološkom odgovoru medonosne pčele. Kod pčela tijekom ozljeda ili kod infekcija dolazi do inkapsulacije patogenog mikroorganizma pomoću hemocita i melanina, zbog čega su ova dva spoja važni čimbenici u imunološkom odgovoru. Upravo na ova dva čimbenika imunološkog odgovora djeluje *V. destructor*, tako što smanjuje broj cirkulirajućih hemocita i sintezu melanina. Smanjena količina melanina posljedica je sposobnosti grinje da svojim parazitiranjem blokira profenol oksidazu koja je ključna u sintezi melanina. Zahvaljujući novijim istraživanjima koja su dokazala da se grinja hrani bjelančevinasto-masnim tijelom, a ti organi igraju glavnu ulogu u imunološkom sustavu, lako je zaključiti zašto je oslabljeni imunitet jedan od najvažnijih simptoma varooze (NOËL i sur., 2020.).



Slika 3. Kukuljica invadirana grinjom *Varroa destructor* (Izvor: <https://www.blog-vetopharma.com/en/field-bioassay-to-detect-varroa-mite-resistance-in-the-apiary/>).

## 2.6. Dijagnostika i kontroliranje varooze

Iako je grinja *V. destructor* u pčelinjim zajednicama obvezatni nametnik, dijagnosticiranje se provodi s ciljem da se u zajednicama utvrdi prisutnost i stupanj invadiranosti grinjama. Taj se postupak provodi na otprilike 10% pčelinjih zajednica jednog pčelinjaka tijekom aktivne pčelarske sezone. Za određivanje stupnja invadiranosti pčelinje zajednice razvijeno je nekoliko metoda koje se najčešće primjenjuju, poput otklapanja i pregleda trutovskog legla, primjena šećera u prahu, praćenje prirodnog pada grinja i višekratno ispiranje uzoraka odraslih pčela u vodenoj otopini detergenta (TLAK GAJGER, 2019.). Provođenje redovitog nadzora i kontrole pčelinjih zajednica, po potrebi i laboratorijska dijagnostika, te tretiranje zajednica odgovarajućim registriranim VMP-om i primjena pogodnih apitehničkih mjera ključni su u suzbijanju varooze. Nekoliko je ključnih razloga zašto je važno kontrolirati broj grinja unutar pčelinjih zajednica:

- bez kontrole je teško odrediti vrijeme za pravodoban i pravilan tretman ili termin kada se pčelinja zajednica nalazi pred pragom invadiranosti koji zahtjeva reakciju pčelara. Ako kontroliranje izostane, visoko invadirane pčelinje zajednice postaju prijatnija za ostale zajednice istog ili čak drugih lokalnih pčelinjaka;
- postupkom kontroliranja dobiva se uvid u učinkovitost tretiranja pčelinjih zajednica što je osobito važno za rano otkrivanje razvoja rezistencije na primijenjeni akaricid kod grinja;
- ako lokalne pčele počinju pokazivati bilo kakvu otpornost prema grinjama, pčelar bi bez kontrole sigurno previdio ovu vrijednu osobinu pčele.

Puno je čimbenika koji određuju brojnost populacije grinja među pčelinjim zajednicama. Dakle, na veličinu populacije grinja utječu: godišnje doba, prethodna rojenja pčela, prethodni tretmani akaricidima, te opće stanje svake pojedine pčelinje zajednice. Tako se često događa da se “najproblematičnije” zajednice ne otkriju na vrijeme upravo zbog stalnih promjena unutar populacije grinja. Stoga, kada je to moguće, utvrđivanje stupnja invadiranosti grinjama u pčelinjoj zajednici pružit će najbolje smjernice o tome što je svakoj pojedinoj zajednici potrebno (KANE i FAUX, 2021.). Kada se primijete klinički vidljivi znakovi bolesti i/ili prilikom sumnje ne učinkovitost primijenjenog veterinarsko-medicinskog proizvoda tijekom obveznog tretiranja pčelinjih zajednica protiv varooze, podnosi se prijava sumnje na varoozu ovlaštenoj veterinarskoj organizaciji na području gdje je smješten pčelinjak (TLAK GAJGER, 2019.).

Različite metode kontrole varooze koje se koriste u svijetu mogu se podijeliti u tri skupine: apitehničke mjere koje uključuju različite tehnike pčelarenja, kemijski tretmani i uzgoj rezistentnih pčela. Kombinacijom metoda iz sve tri skupine postiže se najučinkovitiji i najodrživiji način u borbi protiv varooze (BUBNIČ i sur., 2021.). Kemijski tretmani predstavljaju jedan od glavnih alata kada je riječ o suzbijanju varooze u pčelinjim zajenicama. No, dva važna javnozdravstvena problema su se pojavila kao rezultat široko rasprostranjene upotrebe sintetskih akaricida. Prvo, razvijanje rezistencije kod grinje *V. destructor* kao rezultat korištenja akaricida na pogrešan način i kroz duže razdoblje te pojava rezidua u pčelinjim proizvodima (GREGORC i sur., 2022.). Kako bi se izbjeglo neprikladno, neučinkovito i štetno tretiranje pčelinjih zajednica, u Republici Hrvatskoj je preporučen model suzbijanja varooze koji se provodi na svim pčelinjim zajednicama u isto vrijeme na određenom području s jednim od odobrenih VMP-a, osiguravajući u isto vrijeme proizvodnju pčelinjih proizvoda bez ostataka štetnih tvari i/ili njihovih metabolita. Ovaj model omogućava postizanje maksimalnog učinka ovako propisanih mjera na području Republike Hrvatske. Model se preporuča od 2011. godine, a bio je propisan Programom kontrole i suzbijanja varooze (ANON, 2022.). Zbog mogućnosti da se u pčelinjim proizvodima utvrde štetne rezidue nakon tretmana akaricidima, propisuje se tretiranje pčelinjih zajednica nakon vrcanja meda glavnih medonosnih paša (TLAK GAJGER, 2019.). Opisana preporuka dobre veterinarske, pčelarske i okolišne prakse provodi se s ciljem:

- uspostavljanja učinkovite kontrole i učinkovitog planiranja tretiranja pčelinjih zajednica protiv varooze u istom razdoblju na određenom području, odobrenim VMP-om;
- uspostave baze podataka o varoozi na pčelinjacima;
- edukacije pčelara o dobroj pčelarskoj praksi na pčelinjaku.

Program preporuča da se najmanje jednom godišnje mora provesti tretiranje protiv varooze i to u ljetnom razdoblju u razdoblju 1. srpnja do 31. kolovoza.

## 2.7. Rezistencija grinja *V. destructor*

U posljednje vrijeme pčelari su sve više zabrinuti i nezadovoljni učinkovitošću akaricidnih preparata zbog velikog broja grinja koje zaostaju u zajednicama koje su redovno tretirane. To stvara dodatne troškove pošto su pčelari primorani provoditi druge postupke za kontroliranje

varooze ukoliko žele spriječiti masovni gubitak zajednica. Smatra se da zbog manje učinkovitosti akaricida, grinja ima veću sposobnost za razvoj rezistencije na lijekove. Koncept otpornosti na prirodne toksine koji se primjećuju kod životinja predstavlja sposobnost organizma da tolerira tvar u dozama koje su smrtonosne za većinu jedinki unutar iste vrste (BAK i sur., 2012.). Višestruko rabljeni i često na pogrešan način primjenjivani VMP-i uzrok su razvoja rezistencije kod grinja, a posljedično tome izraženijoj pojavnosti i većim štetnim utjecajima u pčelinjim zajednicama. Tom negativnom učinku pridonosi i provođenje loše pčelarske prakse i utjecaj negativnih čimbenika iz okoliša (TLAK GAJGER, 2019.). Dakle, razvoj rezistencije mogu pospješiti, uz već navedeni problem opetovanog korištenja istih preparata i davanje većih ili manjih doza od onih koje je naveo proizvođač, držanje lijekova u pčelinjim zajednicama dulje od preporučenog i korištenje preparata koji nisu odobreni u liječenju varooze (BAK i sur., 2012.). Prirodnom selekcijom odvija se razvoj otpornog fenotipa u populaciji, budući da osjetljivije jedinke ugibaju nakon tretmana, dok otpornije jedinke prežive tretman (LE CONTE i sur., 2010.; ROTH i sur., 2021.). Dva su načina za koja se smatra da čine osnovu kod razvoja rezistencije grinja: izbjegavanje akaricida kroz promjenu ponašanja i zadebljanje kutikule kako bi se smanjio prodor akaricida u organizam grinje (WATKINS, 1997.; ROTH i sur., 2021.). Mehanizmi koji dodatno pospješuju otpornost u grinja su: promjene metabolizma, primjer toga je hidroliziranje molekula koje sadrže estere i pojačavanje oksidativnog metabolizma putem citokroma P450 monooksigenaze što utječe na bržu detoksikaciju (HILLESHEIM i sur., 1996.; ROTH i sur., 2021.). Veliki problem pčelarstva predstavlja razvoj rezistencije kod grinja jer posljedice toga su veliki gubici pčelinjih zajednica zbog smanjene učinkovitosti VMP-a. Kod pojave rezistencije potrebno je uspostaviti koncept upravljanja u kojemu je ključno zamijeniti VMP koji se do tada koristio. Ovo je osobito važno zbog mogućnosti razvoja križne rezistencije, stoga je bitno uvesti novi VMP koji ima drugačiju aktivnu tvar i koji djeluju na drugačiji način (BUBNIČ i sur., 2021.).

## 2.8. Grinja *V. destructor* kao prijenosnik virusa

Kako *V. destructor* parazitira na tijelu pčele i hrani se tkivima pčele, predstavlja idealnog prijenosnika za uzročnike različitih bolesti. Tri su glavne faze u širenju bolesti putem ovoga prijenosnika (vektora):

- unos patogenih mikroorganizama: hraneći se pčelinjim tkivom, grinja istodobno unosi u svoj organizam uzročnike bolesti koji se nalaze u tom tkivu;

- mobilnost: sposobnost grinje da se slobodno kreće i promijeni više nosioca – pčela;
- prijenos: tijekom hranjenja grinje na drugoj pčeli, dolazi do prijenosa uzročnika bolesti u njegov organizam.

Sekundarni čimbenici također su bitni za uspješno prenošenje virusa putem vektora, a najbitiniji su: prisutnost patogenih mikroorganizama na mjestu gdje se grinja hrani, njihovo preživljavanje na putu od zaraženog domaćina, preko vektora, pa do novog domaćina, osjetljivost novog domaćina na novog uzročnika bolesti, te hoće li se umnožati u grinji pa ima ulogu biološkog vektora ili neće, pa je mehanički vektor. Nabrojani čimbenici imaju značajan utjecaj na virulentnost virusa i na odnos između grinje i virusa, te se značajno razlikuju između pojedinih virusa. Puno je virusa koji se mogu uspješno umnažati nakon što budu uneseni u tijelo pčele ili u kukuljicu putem grinje. No, jedino virus izobličanih krila i virus akutne paralize pčela imaju jasnu vezu s *V. destructor* kao glavnim prijenosnikom. Virus izobličanih krila može inficirati pčelinje leglo i odrasle pčele. Vrlo često odrasle pčele zaražene virusom ne pokazuju gotovo nikakve klinički vidljive znakove, no problem nastaje kada se virus putem grinje prenese na pčelinje kukuljice iz kojih se kasnije razviju pčele izobličanih krila. Dakle, globalno širenje varooze omogućilo je virusu izobličanih krila da se *prebaci* iz slabo rasprostranjenog i asimptomatskog virusa u virulentni i rasprostranjeni tip virusa, kao i vidljivu bolest s teškim simptomima. Njegova pojačana virulencija rezultat je znatno oslabljenog imunološkog sustava pčele zbog invadiranosti grinjom i zaobilaznje fizičkih i bioloških zapreka između tkiva (DOUBLET i sur., 2024.). Kontrola varooze ključna je u smanjenju širenja virusa, pošto ne postoje djelotvorni lijekovi za suzbijanje pčelinjih virusa.

## 2.9. Alternativni načini liječenja varooze

Na tržištu se razlikuju dvije vrste akaricida koji se najčešće koriste za kontrolu varooze: jaki akaricidi odnosno sintetski spojevi kao što su flumetrin, kumafos i amitraz, te slabiji akaricidi odnosno organske tvari kao što su mravlja kiselina, oksalna kiselina i niz eteričnih ulja. Zbog lake upotrebe i učinkovitosti, sintetski su akaricidi najviše zastupljeni u pčelarskoj praksi, no njihova pretjerana upotreba dovela je do razvoja rezistencije kod grinja i nakupljanja ostataka aktivnih tvari u pčelinjim proizvodima. Uz to, sintetski akaricidi mogu utjecati na fiziologiju, metabolizam i ponašanje pčela i polučiti izravni toksični učinak na pčelinje ličinke kao i na odrasle pčele. Veliki

interes u posljednjih nekoliko godina pobudili su slabiji akaricidi čiji su najpoznatiji predstavnici organske kiseline i esencijalna ulja. Ti su akaricidi sigurniji za pčele i pčelara nakon što se zaštite, ekološki su prihvatljiviji i uglavnom djelotvorni u borbi protiv *V. destructor* (NARCISO i sur., 2024.). Mravlja, oksalna, limunska i mnoge druge organske kiseline prisutne su u sastavu meda u malim količinama, a upotrebljene na pravilan način mogu imati važnu ulogu u kontroli varooze (GREGORC i sur., 2022.). Iako su se pokazali učinkovitima, treba imati na umu da učinkovitost nesintetskih spojeva uvelike ovisi o uvjetima okoliša. Tako, primjerice mravlja kiselina i timol nisu učinkoviti pri visokim temperaturama, štoviše mogu biti štetni jer tada mogu imati toksičan ili štetan utjecaj na pčele u razvoju (BERRY i sur., 2022.). Za suzbijanje varooze najčešće se koriste mravlja i oksalna kiselina, između kojih postoje značajne razlike što se tiče načina primjene, upotrebljene količine i koncentracije. Oksalna kiselina se koristi pretežito u razdoblju kada se u pčelinjoj zajednici ne nalazi veća količina pčelinjeg legla (GREGORC i sur., 2022.). Pri tretmanu, oksalna kiselina ne prodire ispod poklopaca stanica saća s leglom u kojim se nalazi većina grinja, ali izvrsno djeluje na grinje u foretskoj fazi kada one parazitiraju na odraslim pčelama. Kod pčelinjih zajednica koje su kontinuirano tretirane oksalnom kiselinom kroz duže razdoblje nije primijećen razvoj rezistencije, a učinak nakon tretmana je zadovoljavajuć (MAGGI i sur., 2016.; BERRY i sur., 2022.).

Mravlja kiselina je bezbojna tekućina koja je odobrena za upotrebu u pčelarstvu u različitim formulacijama VMP-a (Slika 4), a djeluje na grinje u foretskoj i u reproduktivnoj fazi. Kod korištenja mravlje kiseline u svrhu kontrole varooze, postoji nekoliko čimbenika koji utječu na učinkovitost tretmana: način na koji se mravlja kiselina unosi u košnicu, mjesto gdje se nalazi u košnici, količina pčelinjega legla u košnici, temperatura okoliša i godišnje doba (GREGORC i sur., 2022.). Kao alternativa sintetskim akaricidima koji su učinkoviti u suzbijanju pčelinjih nametnika i bolesti medonosnih pčela, uvelike se preporučaju esencijalna ulja i njihovi monotrepeni. Esencijalna ulja predstavljaju vrlo hlapljive biljne komponente sa svojstvima virocidnog, baktericidnog, fungicidnog i antiparazitskog djelovanja. Primarni uzrok biološke aktivnosti esencijalnih ulja su njihovi glavni sastojci, a to su trepeni, terpenoidi i fenolni spojevi. Problem proizvoda na bazi esencijalnih ulja je u nepodudarnosti njihove učinkovitosti prilikom tretiranja pčela u laboratorijski kontroliranim uvjetima od tretiranja koja se provode na pčelinjaku. Razlog tome su brojni čimbenici koji uječu na učinkovitost esencijalnih ulja prilikom tretiranja pčela u terenskim uvjetima: varijabilnost kemijskog sastava biljaka, uvjeti temperature i vlažnosti, stupanj

invadiranosti i jačina pčelinje zajednice, te način primjene esencijalnih ulja. Stoga su potrebna daljnja istraživanja o načinu primjene, dozi, ponovljenim tretmanima, vremenskom razdoblju pogodnom za tretiranje, a sve u svrhu uspostavljanja učinkovitog terenskog protokola za primjenu proizvoda na bazi esencijalnih ulja (NARCISO i sur., 2024.).



Slika 4. Primjena mravlje kiseline (Izvor: <https://carolinahoneybees.com/formic-acid-treatment-for-bees/>).

U vrijeme razvoja brojnih kontrolnih rješenja za borbu protiv varooze, genetičari udruženi s pčelarima počeli su tražiti dugoročno i održivo rješenje kako selekcijom odabrati populaciju medonosnih pčela koje su sposobne preživjeti invaziju grinja bez tretmana (NOËL i sur., 2020.). Ovaj koncept o selekciji manje osjetljivih pčelinjih zajednica pojavio se ubrzo nakon globalnog širenja grinje *V. destructor*, kada su neka provedena istraživanja pokazala da pojedine podvrste *A. mellifera* i afrikanizirane medonosne pčele imaju sposobnost preživljavanja invazije grinjama, dok takve invazije nanose izrazito veliku štetu europskoj medonosnoj pčeli (GUICHARD i sur., 2020.). Otpornost na grinje povezana je s dva fenotipa: higijensko ponašanje i *Varroa sensitive hygiene* (VSH) (naglašena osjetljivost prema invadiranim stanicama saća), a ono uključuje dva mehanizma: samočišćenje (engl. *auto-grooming*) i čišćenje tijela drugog člana pčelinje zajednice (engl. *allogrooming*) (KASKINOVA i sur., 2020.). VSH je osobina pčela koja im omogućava uklanjanje pčelinjih kukuljica iz invadiranih stanica i na taj način zaustavljaju daljnje



razmnožavanje grinja. Prvobitno se smatralo da je ovaj obrazac ponašanja razvijen samo kod azijske medonosne pčele.

Cilj istraživača diljem svijeta je ojačati ovu obrambenu sposobnost pčele putem selektivnog uzgoja među sojevima zapadne medonosne pčele za stvaranje pčela otpornih na grinju *V. destructor*. Trenutno su rijetki primjeri upotrebe takvih populacija pčela u svijetu zbog nedostatka alata koji omogućuju selekciju preživjelih pčelinjih zajednica na terenu (NOËL i sur., 2020.). No, istraživanja koja se provode diljem svijeta daju razloga za optimizam zbog pozitivnih rezultata koji mogu značajno poboljšati zdravlje medonosnih pčela u budućnosti.

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1. Lokacija i izgled pčelinjaka

Pčelinjak na kojem je proveden pokus stacionarnog je tipa (Slika 5). Na pčelinjaku se nalazi 70 pčelinjih zajednica koje su smještene u Langstrooth-Root (LR) tipu košnica. LR košnica je najpoznatiji tip vertikalnih košnica čija je glavna prednost da su svi njeni dijelovi jednakih dimenzija. Pčelinjak je smješten na sjeverozapadu Republike Hrvatske u selu Jezerišće smještenom nedaleko od granice s Slovenijom (koordinate pčelinjaka: 46°11'51.0"N 15°48'17.8"E). Glavne medonosne paše na ovom području su bagrem i kesten. U pokus je bilo uključeno 30 pčelinjih zajednica koje su bile podijeljene u tri skupine: pokusne (10 pčelinjih zajednica tretiranih pomoćnim sredstvom za higijenu košnica ApiBonum ib – A), i dvije kontrolne (pozitivna kontrola: 10 pčelinjih zajednica tretiranih CheckMite + - B; i negativna kontrola: 10 pčelinjih zajednica koje nisu tretirane - C).



Slika 5. Izgled pčelinjaka na kojem je proveden terenski dio istraživanja.

### 3.2. Određivanje jačine pčelinjih zajednica

Dvije su opće metode kojim se određuje jačina pčelinjih zajednica: objektivna i subjektivna. Objektivne metode koriste kvantitativne mjere poput mase (mg, g, kg) ili površine saća zaležene pčelinjim leglom (cm<sup>2</sup>), dok se subjektivna metoda oslanja na vizualne procjene (Slika 6) jednog ili više promatrača (GUZMAN-NOVOA i sur., 2024.). U ovom istraživanju jačina pčelinjih zajednica određivana je subjektivnom metodom prema formuli za izračunavanje jačine pčelinje zajednice, a glavni čimbenici u formuli su broj okvira popunjenih odraslim pčelama i postotak površine saća zaleženog pčelinjim leglom. U pokus su bile uključene pčelinje zajednice različite jačine. Prema istraživanju provedenom 2012. godine, na jednoj strani potpuno ispunjenog okvira u košnici tipa LR nalazi se 1100 odraslih pčela. Na ovaj broj pridodaje se procijenjeni postotak površine saća koji je ispunjen zaleženim leglom te se množi s brojem četiri (DELAPLANE i sur., 2013.). Postupak procjene broja pčela u prvom (prije početka tretiranja pčelinjih zajednica) i drugom pregledu (nakon provedenog tretiranja pčelinjih zajednica) obavila je ista osoba.



Slika 6. Vizualno procjenjivanje jačine pčelinjih zajednica.



### 3.3. Postavljanje ApiBonum ib i CheckMite+ u košnice

Prije početka tretiranja pčelinjih zajednica iz košnica koje su bile uključene u pokus uzet je po jedan uzorak odraslih pčela (Slika 7). Uzorak je izravno uzet u plastičnu čašicu od 120 mL ili su pčele prikupljene pomoću pčelarske četke. Uzorci pčela do početka laboratorijskog pretraživanja pohranjeni su u zamrzivaču pri temperaturi – 20 °C. Isto kao i prvog dana pokusa, uzorak odraslih pčela uzet je i po završetku pokusa, odnosno 42. dan nakon početka tretiranja. Pčelinje zajednice (30) podijeljene su u tri skupine: pokusne i kontrolne. Pokusna skupina je bila sastavljena od 10 pčelinjih zajednica, te je u svaku postavljeno inovativno pomoćno sredstvo za higijenu košnice ApiBonum ib (Slika 11). ApiBonum ib dolazi u obliku plastičnih uložaka koji se postavljaju izravno na satonoše iznad pčela ili na podnicu košnice. Kontrolna skupina bila je sastavljena od 20 pčelinjih zajednica, pri čemu je prvu kontrolnu skupinu činilo 10 pčelinjih zajednica u koje je postavljen registrirani i za uporabu u pčelarstvu odobren VMP CheckMite+ (Slika 12), a čija je djelatna tvar kumafos. VMP na nosaču plastičnih trakica (preporučena doza je po dvije trakice za jednu košnicu) CheckMite+ je postavljen u plodište košnica između dva okvira saća s zaleženim pčelinjim leglom. Druga kontrolna skupina također je bila sastavljena od deset pčelinjih zajednica koje nisu bile tretirane.



Slika 7. Uzorci odraslih pčela.



Slika 8. ApiBonum ib u košnici.



Slika 9. Postavljanje VMP-a CheckMite+ u košnicu nastanjenu pčelinjom zajednicom.

#### 3.4. ApiBonum ib

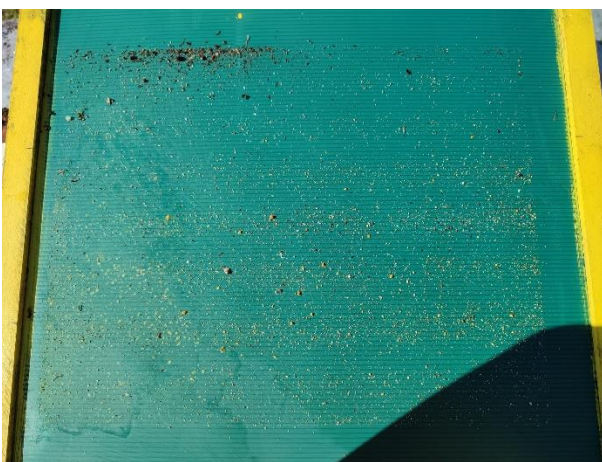
ApiBonum ib (Slika 10) je pomoćno sredstvo za higijenu pčelinje zajednice. Sadrži biljne ekstrakte sa zaštićenom formulacijom i mravlju kiselinu. Prema deklaraciji i uputi proizvođača ApiBonum ib pomaže pčelama u borbi protiv nametnika i mikroorganizama patogenih za pčele njihovim pojačanim higijenskim ponašanjem. Prikladan je za korištenje tijekom cijele godine bez obzira na vremenske, temperaturne i biološke uvjete. Zbog svog sastava prikladan je i za ekološko pčelarstvo. Dolazi u obliku uložaka produženog djelovanja te je jednostavan za primjenu. Preporučeno trajanje tretmana je 30 dana.



Slika 10. Pomoćno sredstvo za higijenu pčelinje zajednice - ApiBonum ib (Izvor: <https://www.medopip.hr/apibonum-ib-1-10.html>).

### 3.5. Praćenje opadanja grinje *V. destructor*

U svaku košnicu prije početka tretiranja pčelinjih zajednica bila je dodana antivaroozna podnica (AV podnica) (Slika 12 i 13) s pripadajućom podloškom koja se smješta ispod plodišnog nastavka košnice. Uz pomoć AV podnice tijekom 30 dana promatrano je i evidentirano opadanje grinje *V. destructor*, kao i 12 dana nakon vađenja svih primjenjenih sredstava ili VMP-a iz košnica. AV podnicu smo nakon svakog kontroliranja obrisali spužvicom i vratili u košnicu.



Slika 11. Podloška antivaroozne podnice.



Slika 12. Grinja *V. destructor* na podlošci antivaroozne podnice.



### 3.6. Tretiranje pčelinjih zajednica oksalnom kiselinom

35. dan pokusa napravljen je *shock* tretman oksalnom kiselinom (Slika 13). Za provedbu tretmana napravljena je otopina oksalne kiseline i to na način da je u 1000 mL šećernog sirupa dodano 35 g dihidrata oksalne kiseline. Tretiranje je provedeno nakapavanjem pripremljene otopine oksalne kiseline pomoću štrcaljke. Po jednoj ulici koja je ispunjena pčelama u prosječno jakim pčelinjim zajednicama nakapano je otprilike 5 mL otopine oksalne kiseline. Isti dan počeli smo pratiti opadanje grinja *V. destructor* na podlošcima antivarooznih podnica, a praćenje je završeno sedam dana nakon tretmana oksalnom kiselinom.



Slika 13. Tretiranje pčelinje zajednice otopinom oksalne kiseline (Izvor: <https://receptiasmir.wordpress.com/2016/11/11/tretiranje-pcela-oksalnom-kiselinom/>).

### 3.7. Laboratorijsko određivanje jačine invadiranosti grinjama *V. destructor*

Svjetska organizacija za zdravlje životinja (WHO) u svom priručniku (*Manual for diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2019.*, poglavlje 3.2.7.) opisuje metodu koja se primjenjuje u svrhu morfološke identifikacije odraslih jedinki i/ili razvojnih oblika grinje *V. destructor*. Saće s pčelinjim leglom, odrasle pčele, ostaci s podnice košnice i/ili pojedinačni nametnici predstavljaju uzorke koji se mogu koristiti u ovoj laboratorijskoj metodi.

U svrhu pokusa korišteni su uzorci odraslih pčela za laboratorijsko pretraživanje (Slika 14). Pčele se stavljaju u specijalnu posudu s duplim poklopcem (puni i mrežasti poklopac, čija su okanca promjera 2 do 3 mm). Na posudu se zatim upisuje laboratorijski broj pretrage, te oznaka s pojedinačnog pakiranja uzorka. Za svaki uzorak odraslih pčela priprema se vodena otopina detergenta za pranje posuđa (vodovodna voda : detergent = 1000 ml : 5 mL) ili 75% etanol. Za ovaj pokus korištena je vodena otopina detergenta za pranje posuđa. 200 mL tako pripremljene otopine detergenta ulijano je u specijalnu posudu u koju je stavljen i magnetič. Posuda smo zatim zatvarili s oba poklopca, protresli i stavili na magnetsku miješalicu (Slika 15) pomoću koje se sadržaj miješa tijekom 30 minuta. Nakon miješanja, posuda s uzorkom odraslih pčela stavljena je na radnu površinu dok smo pripremili cjedilo promjera okanca oko 1 mm koja se postavlja u sudoper, a na nju smo stavili filter papir. Zatim se otklopi gornji poklopac, a tekućina se izlije preko cjedila s filter papirom. Na taj način grinje zaostaju na filter papiru dok odrasle pčele zaostaju na mrežastom poklopcu specijalne posude. Grinje koje smo izdvojili s filter papira prenesene su pincetom u označenu Petrijevu zdjelicu smo označili laboratorijskim brojem pretrage i oznakom s pojedinačnog pakiranja uzorka. Prilikom ispitivanja koriste se različita povećanja lupe kako bi se obavilo vizualno pretraživanje grinje, te se određuje prisutnost pojedinih karakterističnih morfoloških pokazatelja. Pokazatelji za morfološku identifikaciju grinje *V. destructor* su:

1. ovalno nesegmentirano tijelo s leđnim oklopom prekriveno hitinskim dlačicama
2. veličina tijela: širina oko 1,5 mm, dužina oko 1 mm
3. četiri para nogu
4. boja: crvenkasta, smeđa do crna

Vrednovanje rezultata ispitivanja:

- negativno - ako iz uzorka odraslih pčela nisu tijekom pripreme izdvojene grinje, odnosno ako na izdvojenim grinjama morfološkom identifikacijom nije utvrđena prisutnost karakterističnih pokazatelja za grinju *V. destructor*.
- pozitivno – ako su iz uzorka odraslih pčela tijekom pripreme uzoraka izdvojene grinje, te ako je morfološkom identifikacijom utvrđena prisutnost svih navedenih pokazatelja za grinju *V. destructor*.





Slika 14. Uzorci odraslih pčela namijenjeni za laboratorijsko pretraživanje.



Slika 15. Pripremljeni uzorci odraslih pčela na magnetskoj miješalici.



Slika 16. Cjedilo s filter papirom.

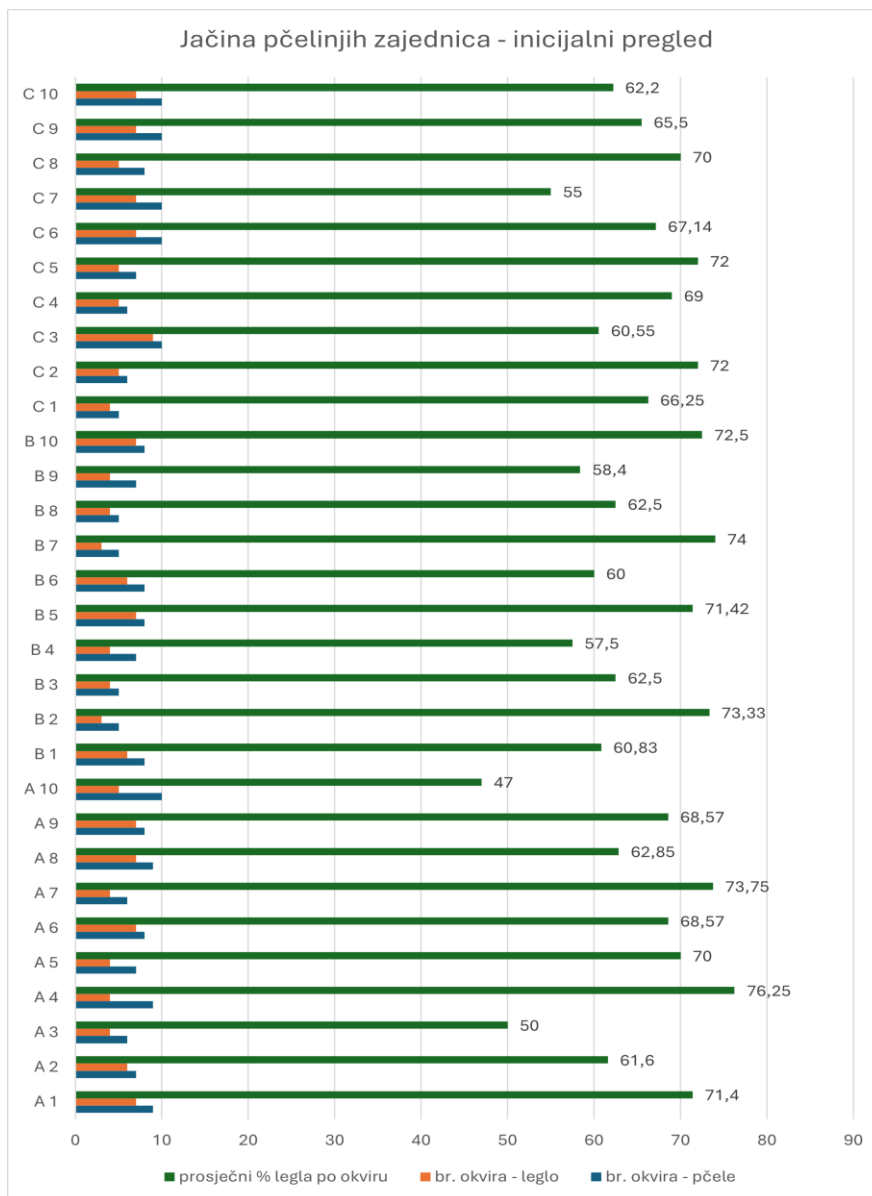


Slika 17. Grinja *V. destructor* na filter papiru.

## 4. REZULTATI

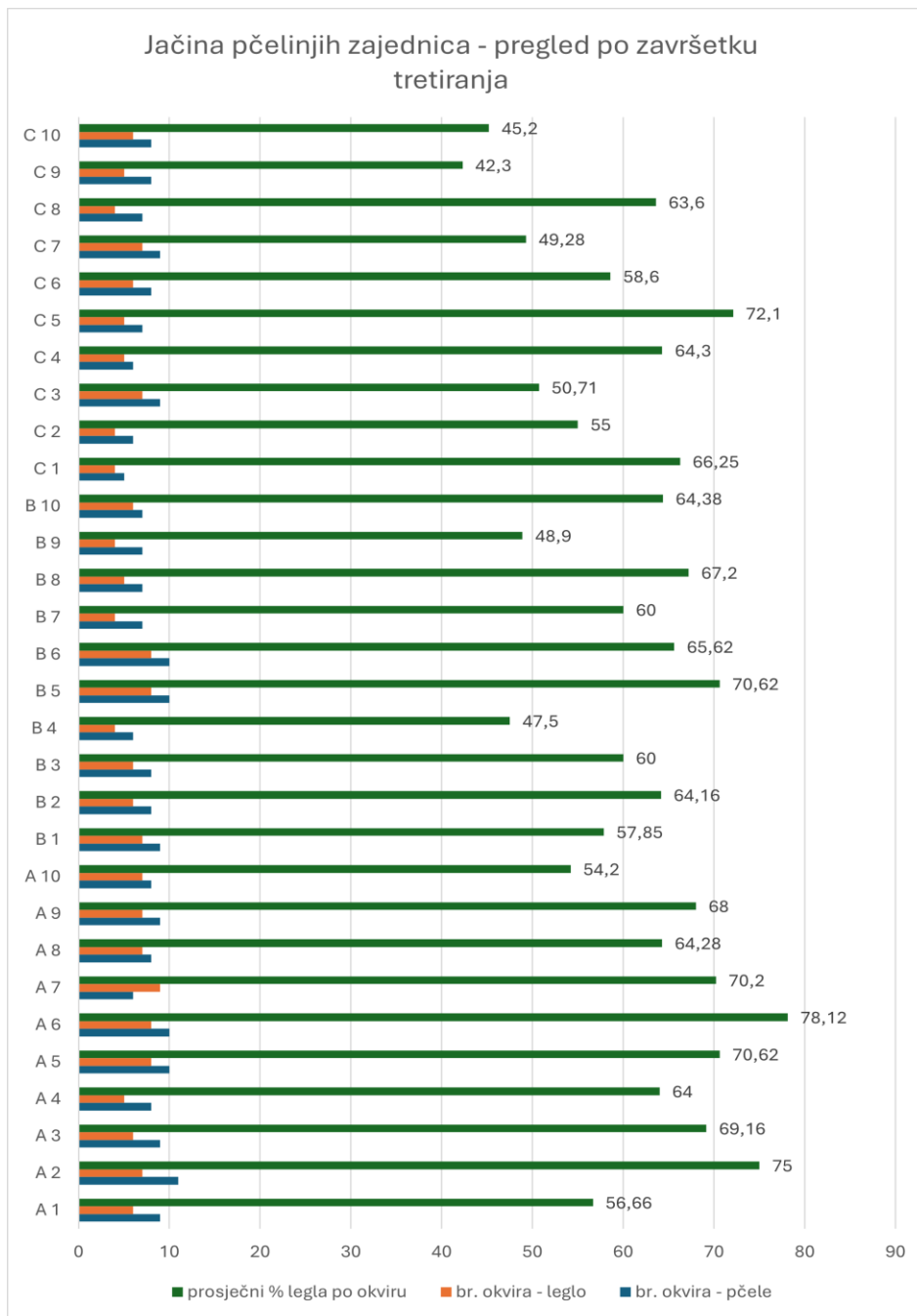
### 4.1. Jačina pčelinjih zajednica

Jačina pčelinjih zajednica za pokusne i kontrolne skupine pojedinačno je prikazana za svaku pčelinju zajednicu uključenu u pokus na Slici 18.



Slika 18. Prikaz procijenjene jačine pčelinjih zajednica za pokusne i kontrolne skupine na početku pokusa (A – ApiBonum ib; B – CheckMite+; C – kontrola bez tretmana).

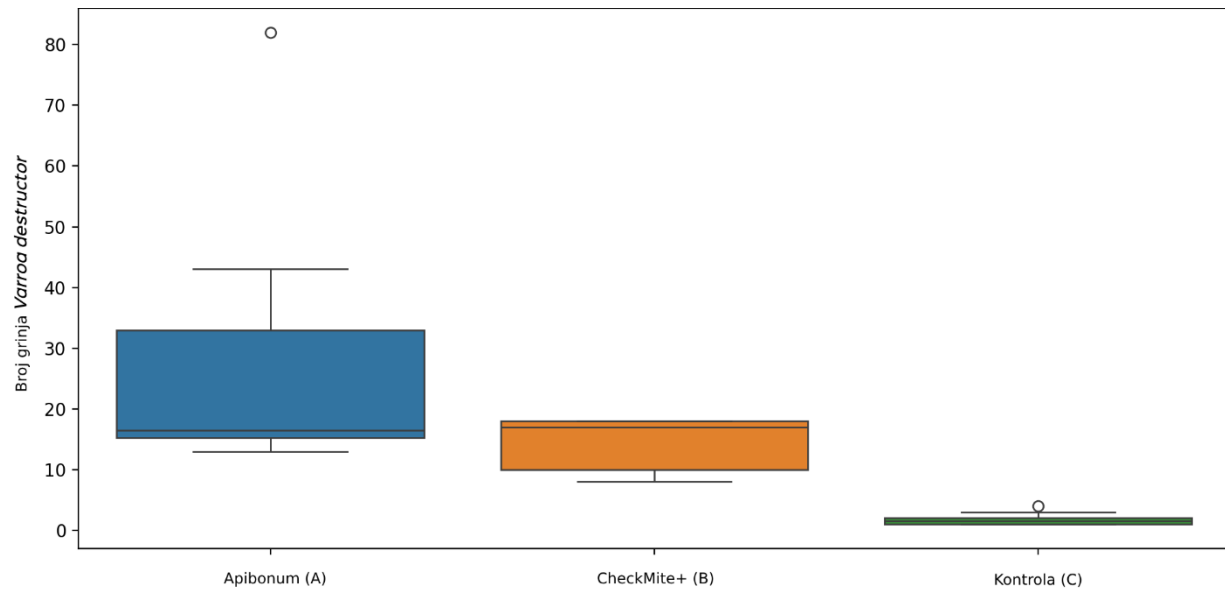
Na Slici 19 prikazana je jačina pčelinjih zajednica nakon završetka pokusa u terenskim uvjetima. Uspoređujući jačinu pokusnih (ApiBonum ib) i kontrolnih skupina, vidljivo je da su pokusne skupine (ApiBonum ib) jače nakon tretmana kada je izvršen završni klinički pregled zajednica, nego su to bile prilikom inicijalnog pregleda.



Slika 19. Prikaz procijenjene jačine pčelinjih zajednica za pokusne i kontrolne skupine na kraju pokusa (A – ApiBonum ib; B – CheckMite+; C – kontrola bez tretmana).

#### 4.2. Učinkovitost otpadanja grinja *V. destructor*

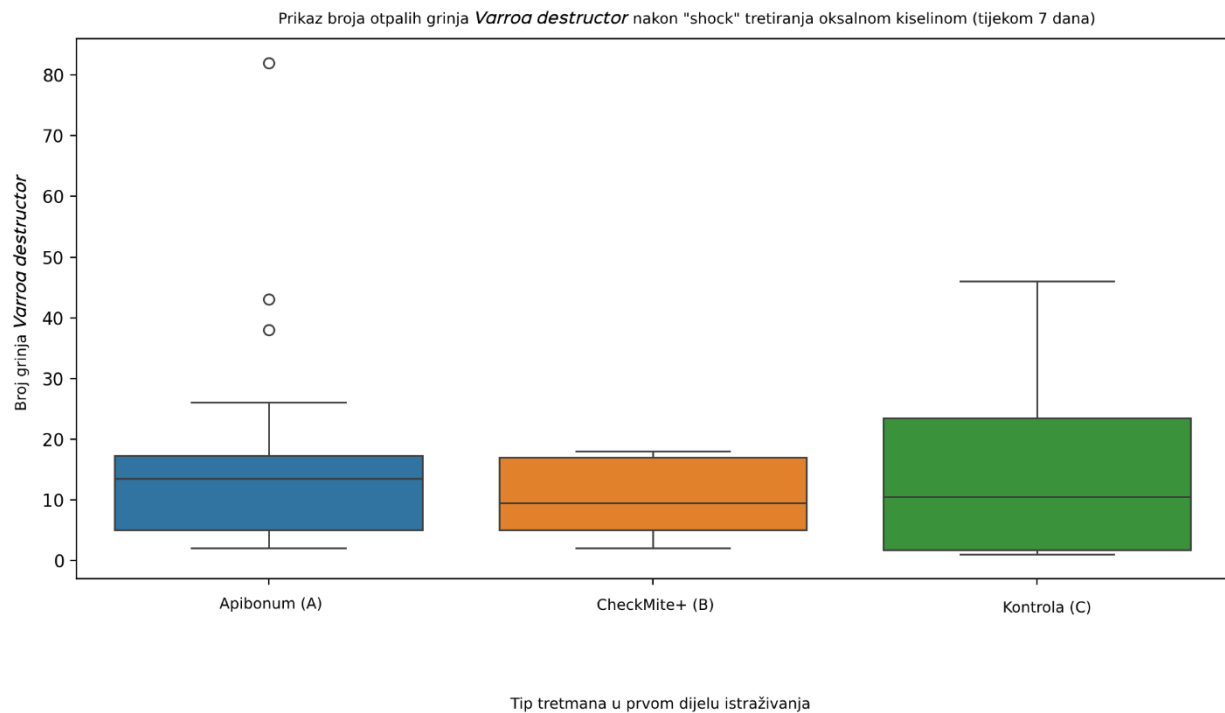
Na Slici 20 prikazan je broj otpalih grinja *V. destructor* nakon tretiranja. Na grafičkom prikazu vidljivo da je tijekom tretiranja najviše nametničkih grinja otpalo u pčelinjim zajednicama u kojima je bio ApiBonum ib, a najmanje u pčelinjim zajednicama koje nisu tretirane.



Slika 20. Prikaz broja otpalih grinja *V. destructor* nakon tretiranja pčelinjih zajednica ((A – ApiBonum ib; B – CheckMite+; C – kontrola bez tretmana).

### 4.3. Učinak tretmana oksalnom kiselinom

Prikaz učinkovitosti tretmana oksalnom kiselinom na svim pčelinjim zajednicama (pokusne i kontrolne) koje su bile uključene u pokus. Oksalna kiselina bila je učinkovita za sve pčelinje zajednice (pokusne i kontrolne). Rezultati pokazuju da je najveći broj otpalih grinja *V. destructor* očekivano bio kod pčelinjih zajednica koje su u pokusu služile kao kontrolne, odnosno pčelinje zajednice koje prethodno nisu bile tretirane.



Slika 21. Prikaz broja otpalih grinja *V. destructor* nakon jednokratnog tretmana oksalnom kiselinom (A – ApiBonum ib; B – CheckMite+; C – kontrola bez tretmana).

## 5. RASPRAVA

Ektoparazitska grinja *V. destructor* smatra se najvećom prijetnjom zdravlju medonosne pčele (ROSENKRANZ i sur., 2010.; GASHOUT i sur., 2020.). Otkako je grinja prešla s izvornog domaćina, azijske medonosne pčele na zapadnu medonosnu pčelu, *V. destructor* je postala široko rasprostranjena invazivna vrsta na gotovo svim kontinentima (REAMS i RANGEL, 2022.). Brzo širenje grinje naglašava važnost zaštite medonosne pčele i provedbu učinkovitog liječenja. Stoga je primarni cilj veterinarske medicine kontroliranja brojnosti ove nametničke grinje, jer su medonosne pčele ključna vrsta kukaca oprašivača za globalnu proizvodnju hrane (KOSCH i sur., 2024.).

U današnje vrijeme najviše se koriste fizičke, biološke i kemijske metode u borbi protiv ove nametničke grinje, no nijedna od ovih metoda ne omogućava potpunu kontrolu bolesti. Kemijske metode imaju veliku važnost u kontroli varooze, no široka upotreba kemijskih akaricida dovodi pčelarski sektor najmanje dva velika problema. Prvo, mogućnost razvoja rezistencije kod grinja zbog opetovanog korištenja istih kemijskih akaricida, te drugo, mogućnost zaostajanja kemijskih ostataka ili njihovih razgradnih produkata u pčelinjim proizvodima (AYAN i sur., 2019.). Rezistencija je stečena sposobnost koja omogućava grinji da podnosi sintetske akaricide što rezultira povećanim preživljavanjem grinja i nakon pravilno provedenih tretmana. Stoga, pojava rezistencije na sintetske akaricide izravno ugrožava zdravlje pčela i preživljavanje pčelinjih zajednica (COLES i DRYDEN, 2014.; MORFIN i sur., 2022.). 1991. godine prvi puta je otkrivena rezistencija na piretroid tau-fluvalinat nakon čega se vrlo brzo proširila na velika geografska područja (LODESANI i sur., 1995.). MARTIN (2004.) navodi kako se ista rezistencija 2001. pojavila u Ujedinjenom Kraljevstvu, te da se je do 2004. proširila na područje više stotina kilometara. Slično tome, rezistencija na amitraz prvi puta je zabilježena 1991., na flumetrin 1995. i na kumafos 2001., a od tada je postala globalno raširena (MITTON i sur., 2022.). Da je situacija zabrinjavajuća što se tiče razvoja rezistencije potvrđuju podaci iz Sjedinjenih Američkih Država i Francuske koji govore da se otpornost na amitraz među populacijama grinja *V. destructor* u tim zemljama razvija na sve većem broju pčelinjaka (MARSKY i sur., 2024.).

Zbog problema koji mogu nastati korištenjem sintetskih akaricida sve se više promiču alternativne metode kontroliranja varooze. Tako se posljednjih nekoliko godina sve više koriste prirodne tvari, osobito su zastupljene organske kiseline, posebice mravlja i oksalna, te eterična ulja i njihove komponente, među kojima je najzastupljeniji timol. Glavne prednosti prirodnih spojeva

korištenih u pčelarstvu su dostatna učinkovitost protiv grinje i niski rizik od zaostajanja rezidua i njihovog nakupljanja u pčelinjim proizvodima (GRACIA i sur., 2017.). Također, prednost prirodnih tvari je u tome što su sigurne za pčele i pčelare kad se koriste na odgovarajući način. Istraživanje u Pakistanu koje je provedeno u svrhu ispitivanja učinkovitosti prirodnih tvari kao akaricida pokazalo je zadovoljavajuće rezultate. Istraživana je učinkovitost mravlje i oksalne kiseline u različitim koncentracijama, te timola. Rezultati su pokazali da su svi tretmani značajno smanjili populaciju grinja *V. destructor*, pri čemu je najveću učinkovitost pokazala oksalna kiselina u koncentraciji od 3,2% ( $94,84\% \pm 0,34$ ) i 4,2% ( $92,68\% \pm 0,37$ ). Sveukupno, rezultati pokazuju da su prirodni akaricidi učinkoviti u kontroli varooze, te da se mogu koristiti bez veće zabrinutosti od pojave ozbiljnih nuspojava (QADIR i sur., 2021.).

U ovom istraživanju korišteno je inovativno sredstvo ApiBonum ib koje predstavlja alternativno, odnosno pomoćno sredstvo za higijenu košnice koje pomaže u borbi protiv grinje *V. destructor*. Istraživanje je obavljeno u terenskim uvjetima pri čemu je praćeno opadanje grinja na podlošcima antivarooznih podnica. ApiBonum ib sadrži biljne ekstrakte s zaštićenom formulacijom i mravlju kiselinu, a zbog ovakve formulacije djeluje kao prirodni akaricid tijekom dužih vremenskih razdoblja. U pčelinjim zajednicama gdje je ApiBonum ib djelovao došlo je do značajnijeg otpadanja grinja u usporedbi s primjenjenim VMP-om kao jednom kontrolom i u odnosu na kontrolnu skupinu pčelinjih zajednica koje nisu tretirane.

Također, moguće je da tretman ApiBonumom ib ima pozitivan utjecaj na jačanje pčelinjih zajednica pošto je pet od 10 promatranih pčelinjih zajednica bilo jače kod završnog kliničkog pregleda nakon tretmana, nego su iste bile kod inicijalnog kliničkog pregleda. Stoga smatramo da se ApiBonum *ib* može koristiti kao prirodni stimulans pčelinjoj zajednici na higijensko ponašanje i sredstvo koje pomaže u jačanju pčelinjih zajednica. Osim toga, ApiBonum ib je pomoćno sredstvo koje je sigurno za pčele i pčelare, a pri primjeni je manja opasnost od pojave rezidua u medu i drugim pčelinjim proizvodima, a najveća odlika ovakvih sredstva koji su bazirani na prirodnim sastojcima je spriječavanje razvoja rezistencije kod nametničkih grinja, što je danas jedan od najvećih izazova veterinarske medicine u suvremenom pčelarstvu.

## 6. ZAKLJUČCI

1. ApiBonum ib kao pomoćno sredstvo za higijenu košnice može biti koristan način za održavanje zdravlja i vitalnosti pčelinjih zajednica, posebice ukoliko mu se primjena kombinira s bio-apitehničkim načinima kontroliranja varooze.
2. U pokusnim pčelinjim zajednicama tretiranim ApiBonumom ib utvrđen je značajno veći broj otpalih grinja *V. destructor* u usporedbi s kontrolnim pčelinjim zajednicama, te manji nakon završnog *shock* tretmana oksalnom kiselinom, što upućuje na njegovo moguće imunomodularno djelovanje vjerojatno zbog izraženijeg higijenskog ponašanja pčela.
3. Iako u ovom istraživanju nisu utvrđene statistički značajne razlike u jačini pčelinjih zajednica između kontrolnih i pokusne skupine, pri završnom kliničkom pregledu zajednica uočeno je kako većina pčelinjih zajednica tretiranih ApiBonum ib pomoćnim sredstvom jača u odnosu na inicijalni klinički pregled.



## 7. LITERATURA

ANONYMOUS (2002): Program kontrole i suzbijanja varooze. [http://www.veterinarstvo.hr/UserDocsImages/Zdravlje\\_zivotinja/p%C4%8Dele%20i%20bumbar%20i/Program%20kontrole%20suzbijanja%20varooze%20u%20RH.pdf](http://www.veterinarstvo.hr/UserDocsImages/Zdravlje_zivotinja/p%C4%8Dele%20i%20bumbar%20i/Program%20kontrole%20suzbijanja%20varooze%20u%20RH.pdf)

AYAN, A., H. TUTUN, O. S. ALDEMİR (2019): Control Methods against Varroa Mites. IJASRW 2, 19-23. doi: 10.5281/ZENODO.3548388

BAK, B. E. A. T. A., J. WILDE, M. A. C. I. E. J. SIUDA (2012): Characteristics of north-eastern population of *Varroa destructor* resistant to synthetic pyrethroids. Med. Weter. 68, 603-606.

BEAUREPAIRE, A. L., T. A. TRUONG, A. C. FAJARDO, T. Q. DINH, C. CERVANCIA, R. F. A. MORITZ (2015): Host Specificity in the Honeybee Parasitic Mite, *Varroa* spp. in *Apis mellifera* and *Apis cerana*. PLoS One 10, e0135103. doi: 10.1371/journal.pone.0135103

BERRY, J. A., L. J. BARTLETT, S. BRUCKNER, C. BAKER, S. K. BRAMAN, K. S. DELAPLANE, G. R. WILLIAMS (2022): Assessing Repeated Oxalic Acid Vaporization in Honey Bee (*Hymenoptera: Apidae*) Colonies for Control of the Ectoparasitic Mite *Varroa destructor*. J. Insect Sci. 22, 15. doi: 10.1093/jisesa/ieab089

BROWN, M. J. F., R. J. PAXTON (2009): The conservation of bees: a global perspective. Apidologie 40, 410–416. doi: 10.1051/apido/2009019

BUBNIČ, J., R. MOOSBECKHOFER, J. PREŠERN, A. MOŠKRIČ, G. FORMATO, M. PIETROPAOLI, A. GREGORC, M. N. MUZ, M. I. S. ŠKERL (2021): Three pillars of Varroa control. Apidologie 52, 1305–1333. doi: 10.1007/s13592-021-00903-4

COLES, T. B., M. W. DRYDEN (2014): Insecticide/acaricide resistance in fleas and ticks infesting dogs and cats. Parasit. Vectors. 7, 8. doi: 10.1186/1756-3305-7-8

DELAPLANE, K. S., J. VAN DER STEEN, E. GUZMAN-NOVOA (2013): Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. J. Apic. Res. 52, 1–12.

DOUBLET, V., M. A. Y. ODDIE, F. MONDET, E. FORSGREN, B. DAHLE, E. FURUSETH-HANSEN, G. R. WILLIAMS, L. DE SMET, M. E. NATSOPOULOU, T. E. MURRAY, E. SEMBERG, O. YAÑEZ, D. C. DE GRAAF, Y. LE CONTE, P. NEUMANN, E. RIMSTAD, R. J.

PAXTON, J. R. DE MIRANDA (2024): Shift in virus composition in honeybees (*Apis mellifera*) following worldwide invasion by the parasitic mite and virus vector *Varroa destructor*. R. Soc. Open Sci. 11, 231529. doi: 10.1098/rsos.231529

ELIASH, N., A. MIKHEYEV (2020): *Varroa* mite evolution: a neglected aspect of worldwide bee collapses? Curr. Opin. Insect Sci. 39, 21–26. doi: 10.1016/j.cois.2019.11.004

GASHOUT, H. A., E. GUZMAN-NOVOA, P. H. GOODWIN (2020): Synthetic and natural acaricides impair hygienic and foraging behaviors of honey bees. Apidologie 51, 1155–1165. doi: 10.1007/s13592-020-00793-y

GENERSCH, E. (2010): Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. Appl. Microbiol. Biotechnol. 87, 87–97. doi: 10.1007/s00253-010-2573-8

GOULSON, D., E. NICHOLLS, C. BOTÍAS, E. L. ROTHERAY (2015): Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. Science 347, 1255957. doi: 10.1126/science.1255957

GRACIA, M. J., C. MORENO, M. FERRER, A. SANZ, M. Á. PERIBÁÑEZ, R. ESTRADA (2017): Field efficacy of acaricides against *Varroa destructor*. PLoS One 12, e0171633. doi: 10.1371/journal.pone.0171633

GREGORC, A., C. DOMÍNGUES, H. TUTUN, S. SEVİN (2022): What has been done in the fight against *Varroa destructor*: from the past to the present. Ankara Univ. Vet. Fak. Derg. 69, 229–240. doi: 10.33988/auvfd.1029296

GREGORC, A., B. SAMPSON (2019): Diagnosis of *Varroa* Mite (*Varroa destructor*) and Sustainable Control in Honey Bee (*Apis mellifera*) Colonies - A Review. Diversity. 11, 243. doi: 10.3390/d11120243

GUICHARD, M., V. DIETEMANN, M. NEUDITSCHKO, B. DAINAT (2020): Advances and perspectives in selecting resistance traits against the parasitic mite *Varroa destructor* in honey bees. Genet. Sel. Evol. 52. doi: 10.1186/s12711-020-00591-1

GUZMAN-NOVOA, E., N. MORFIN, B. DAINAT, G. R. WILLIAMS, J. VAN DER STEEN, A. CORREA-BENÍTEZ, K. S. DELAPLANE (2024): Standard methods to estimate strength

parameters, flight activity, comb construction, and fitness of *Apis mellifera* colonies. *J. Apic. Res.* 1–22. doi: 10.1080/00218839.2024.2329853

HILLESHEIM, E., W. RITTER, D. BASSAND (1996): First data on resistance mechanisms of *Varroa jacobsoni* (OUD.) against tau-fluvalinate. *Exp. Appl. Acarol.* 20, 283–296. doi: 10.1007/bf00052878

HRISTOV, P., R. SHUMKOVA, N. PALOVA, B. NEOV (2020): Factors Associated with Honey Bee Colony Losses: A Mini-Review. *Vet. Sci.* 7, 166. doi: 10.3390/vetsci7040166

KANE, T. R., C. M. FAUX (2021): Honey bee medicine for the veterinary practitioner. John Wiley & Sons. New York, SAD.

KASKINOVA, M. D., L. R. GAIFULLINA, E. S. SALTYSKOVA, A. V. POSKRYAKOV, A. G. NIKOLENKO (2020): Genetic markers for the resistance of honey bee to *Varroa destructor*. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 24, 853–860. doi: 10.18699/vj20.683

KOSCH, Y., C. MÜLLING, I. U. EMMERICH (2024): Resistance of *Varroa destructor* against Oxalic Acid Treatment—A Systematic Review. *Vet. Sci.* 11, 393. doi: 10.3390/vetsci11090393

LE CONTE, Y., M. ELLIS, W. RITTER (2010): Varroamites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie* 41, 353–363. doi: 10.1051/apido/2010017

LE CONTE, Y., M. D. MEIXNER, A. BRANDT, N. L. CARRECK, C. COSTA, F. MONDET, R. BÜCHLER (2020): Geographical Distribution and Selection of European Honey Bees Resistant to *Varroa destructor*. *Insects* 11, 873. doi: 10.3390/insects11120873

LODESANI, M., M. COLOMBO, M. SPREAFICO (1995): Ineffectiveness of Apistan® treatment against the mite *Varroa jacobsoni* Oud in several districts of Lombardy (Italy). *Apidologie* 26, 67–72. doi: 10.1051/apido:19950109

MAGGI, M., N. DAMIANI, C. BRASESCO, N. SZAWARSKI, G. MITTON, F. MARIANI, D. SAMMATARO, S. QUINTANA, M. EGUARAS (2016): The susceptibility of *Varroa destructor* against oxalic acid: A study case. *Bull. Insectol.* 70.

- MAGGI, M., L. PERALTA, S. RUFFINENGO, S. FUSELLI, M. EGUARAS (2011): Body size variability of *Varroa destructor* and its role in acaricide tolerance. *Parasitol. Res.* 110, 2333–2340. doi: 10.1007/s00436-011-2768-7
- MARSKY, U., B. ROGNON, A. DOUABLIN, A. VIRY, M. A. RODRÍGUEZ RAMOS, A. HAMMAIDI (2024): Amitraz Resistance in French *Varroa* Mite Populations-More Complex Than a Single-Nucleotide Polymorphism. *Insects* 15, 390. doi: 10.3390/insects15060390
- MARTIN, S. J. (2004): Acaricide (pyrethroid) resistance in *Varroa destructor*. *Bee World.* 85, 67–69. doi: 10.1080/0005772x.2004.11099632
- MITTON, G. A., F. MEROI ARCERITO, H. COOLEY, G. FERNÁNDEZ DE LANDA, M. J. EGUARAS, S. R. RUFFINENGO, M. D. MAGGI (2022): More than sixty years living with *Varroa destructor*: a review of acaricide resistance. *Int. J. Pest Manag.* 1–18. doi: 10.1080/09670874.2022.2094489
- MORFIN, N., P. H. GOODWIN, E. GUZMAN-NOVOA (2023): *Varroa destructor* and its impacts on honey bee biology. *Front. Bee Sci.* 1. doi: 10.3389/frbee.2023.1272937
- MORFIN, N., D. RAWN, T. PETUKHOVA, P. KOZAK, L. ECCLES, J. CHAPUT, T. PASMA, E. GUZMAN-NOVOA (2022): Surveillance of synthetic acaricide efficacy against *Varroa destructor* in Ontario, Canada. *Can. Entomol.* 154. doi: 10.4039/tce.2022.4
- NARCISO, L., M. TOPINI, S. FERRAIUOLO, G. IANIRO, C. MARIANELLI (2024): Effects of natural treatments on the varroa mite infestation levels and overall health of honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *PLoS One.* 19, e0302846. doi: 10.1371/journal.pone.0302846
- NOËL, A., Y. LE CONTE, F. MONDET (2020): *Varroa destructor*: how does it harm *Apis mellifera* honey bees and what can be done about it? *Emerg. Top. Life Sci.* 4, 45–57. doi: 10.1042/etls20190125
- PAPA, G., R. MAIER, A. DURAZZO, M. LUCARINI, I. K. KARABAGIAS, M. PLUTINO, E. BIANCHETTO, R. AROMOLO, G. PIGNATTI, A. AMBROGIO, M. PELLECCIA, I. NEGRI (2022): The Honey Bee *Apis mellifera*: An Insect at the Interface between Human and Ecosystem Health. *Biology.* 11, 233. doi: 10.3390/biology11020233

- PARMESAN, C., N. RYRHOLM, C. STEFANESCU, J. K. HILL, C. D. THOMAS, H. DESCIMON, B. HUNTLEY, L. KAILA, J. KULLBERG, T. TAMMARU, W. J. TENNENT, J. A. THOMAS, M. WARREN (1999): Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature* 399, 579–583. doi: 10.1038/21181
- QADIR, Z. A., A. IDREES, R. MAHMOOD, G. SARWAR, M. A. BAKAR, S. AHMAD, M. M. RAZA, J. LI (2021): Effectiveness of Different Soft Acaricides against Honey Bee Ectoparasitic Mite *Varroa destructor* (*Acari: Varroidae*). *Insects* 12, 1032. doi: 10.3390/insects12111032
- REAMS, T., J. RANGEL (2022): Understanding the Enemy: A Review of the Genetics, Behavior and Chemical Ecology of *Varroa destructor*, the Parasitic Mite of *Apis mellifera*. *J. Insect Sci.* 22. doi: 10.1093/jisesa/ieab101
- ROSENKRANZ, P., P. AUMEIER, B. ZIEGELMANN (2010): Biology and control of *Varroa destructor*. *J. Invertebr. Pathol.* 103, S96–S119. doi: 10.1016/j.jip.2009.07.016
- ROTH, M. A., J. M. WILSON, A. D. GROSS (2021): Assessing *Varroa destructor* acaricide resistance in *Apis mellifera* colonies of Virginia. *Apidologie* 52, 1278–1290. doi: 10.1007/s13592-021-00901-6
- ROTH, M. A., J. M. WILSON, K. R. TIGNOR, A. D. GROSS (2020): Biology and Management of *Varroa destructor* (*Mesostigmata: Varroidae*) in *Apis mellifera* (*Hymenoptera: Apidae*) Colonies. *J. Integr. Pest Manag.* 11. doi: 10.1093/jipm/pmz036
- TLAK GAJGER, I. (2019): Bolesti pčela u suvremenoj proizvodnji. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
- TRAYNOR, K. S., F. MONDET, J. R. DE MIRANDA, M. TECHER, V. KOWALLIK, M. A. Y. ODDIE, P. CHANTAWANNAKUL, A. MCAFEE (2020): *Varroa destructor*: A complex parasite, crippling honey bees worldwide. *Trends Parasitol.* 36, 592–606.
- VIDAL-NAQUET, N., C. ROY, O. I. E. FORUM (2014): The veterinary profession: an asset to the bee-keeping sector. *Bull. World Org. Anim. Health* 2, 9-12.
- WATKINS, M. (1997): Resistance and its relevance to beekeeping. *Bee World.* 78, 15–22. doi: 10.1080/0005772x.1997.11099327

## 8. SAŽETAK

### Učinkovitost primjene inovativnog sredstva ApiBonum ib na vitalnost pčelinjih zajednica

Stjepan Petek

Varooza je bolest pčela i pčelinjeg legla koja predstavlja najveću prijetnju modernog pčelarstva. Uzročnik varooze je nametnička grinja *V. destructor*. Zbog izrazito štetnog utjecaja na pčele, varooza se smatra glavnim uzrokom propadanja pčelinjih zajednica diljem svijeta. Zbog navedenog, istraživački pčelarski sektor je u stalnoj potrazi za rješenjem koje bi omogućilo što bolju kontrolu bolesti. Cilj ovog rada bio je utvrditi akaricidna svojstva inovativnog sredstva ApiBonum ib, kao i njegov utjecaj na vitalnost pčelinjih zajednica. Istraživanjem koje je provedeno u terenskim uvjetima, utvrđeno je opadanje grinja kod svih pčelinjih zajednica tretiranih sredstvom ApiBonum ib. Isto tako, utvrđeno je da ApiBonum ib ima pozitivan utjecaj na vitalnost, odnosno jačanje pčelinjih zajednica, pošto je kod pet od 10 zajednica uočeno povećanje broja pčela na kraju istraživanja, a u odnosu na inicijalni klinički pregled. Kao prirodno pomoćno sredstvo, ApiBonum ib nije štetan za pčele, pri uporabi manja je opasnost od razvoja rezistencije kod grinja, kao i pojave rezidua u pčelinjim proizvodima. ApiBonum ib može biti korisno sredstvo za održavanje vitalnosti i higijene zajednica i moguće kao imunomodulator koji potiče higijensko ponašanje pčelinjih zajednica.

Ključne riječi: pčelinja zajednica, ApiBonum ib, pčelinja zajednica, vitalnost

## 9. SUMMARY

### Effectiveness of innovative remedy ApiBonum ib on the vitality of honeybee colonies

Stjepan Petek

Varroosis is a disease of honeybees and honeybee brood that poses the greatest threat to modern beekeeping. The causative agent of varroosis is the parasitic mite *V. destructor*. Due to its extremely harmful effect on honeybees, varroosis is considered the main cause of the decline of honeybee colonies around the world. Because of the above, the research beekeeping sector is constantly looking for a solution that would enable better disease control. The aim of this study was to determine the acaricidal properties of the innovative agent ApiBonum ib, as well as its impact on the vitality of honeybee colonies. The research, which was conducted in field conditions, determined the decline of mites in all honeybee colonies treated with ApiBonum ib. Also, it was found that ApiBonum ib has a positive effect on the vitality, i.e. strengthening of honeybee colonies, since an increase in the number of honeybees was observed in five out of 10 colonies at the end of the study, compared to the initial clinical examination. As a natural remedy, ApiBonum ib is not harmful to bees, when used there is a lower risk of developing resistance in mites, as well as the appearance of residues in honeybee products. ApiBonum ib can be a useful tool for maintaining the vitality and hygiene of colonies and possibly as an immunomodulator that stimulates the hygienic behavior of honeybee colonies.

Keywords: honeybee colony, ApiBonum ib, varroosis, vitality

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 24. prosinca 1999. godine u Zaboku. Pohađao sam Osnovnu školu Đurmanec, a nakon toga Poljoprivrednu i veterinarsku školu u Osijeku, smjer veterinarski tehničar. 2018. godine upisujem Veterinarski fakultet u Zagrebu. Na petoj godini studija opredijelio sam se za smjer Farmske životinje i konji. Na šestoj godini bio sam demonstrator na Zavodu za biologiju i patologiju riba i pčela. Stručnu praksu sam odradio u Veterinarskoj stanici Krapina.