

# Primjena BeeSmoke peletiranog goriva za dimilicu tijekom aktivne pčelarske sezone

---

Dukarić, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:178:275240>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-05**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

IVANA DUKARIĆ

Primjena BeeSmoke peletiranog goriva za dimilicu tijekom aktivne pčelarske sezone

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2023.

Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela

PREDSTOJNIK:

Doc. dr. sc. Krešimir Matanović

MENTORICA:

Prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Prof. dr. sc. Kristina Matković
2. Prof. dr. sc. Srebrenka Nejedli
3. Prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger
4. Doc. dr. sc. Krešimir Matanović (zamjenski član)

## Zahvale

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Ivani Tlak Gajger na pomoći pri izradi ovog diplomskog rada kao i djelatnicima Zavoda za biologiju i patologiju pčela na tehničkoj pomoći.

Zahvaljujem svojim prijateljima koji su me bodrili tijekom cijelog studija i pružili podršku da dođem do kraja ovog putovanja. Posebno hvala Bruni, Ani G., Ani D., Lauri, Emi, Tei te Ariani.

Veliko hvala mojoj sestri Kseniji, braći Mislavu i Mariu te roditeljima koji su me svojim savjetima usmjeravali i time mi olakšali studentske dane.

I na kraju, posebno hvala mojem dragom Zdenku na potpori i osloncu.

Popis skráčénica

MRM	engl. <i>Multiple reaction monitoring</i>
WOAH	engl. <i>World Organisation for Animal Health</i>

## Popis priloga

Slika 1. Izgled pčelinjaka.

Slika 2. Priprema peleta i dimilica za pokus.

Slika 3. Paljenje peleta u dimilici.

Slika 4. Upuhivanje dima u košnicu kroz leto.

Slika 5. Uzorci odraslih pčela radilica za laboratorijsko pretraživanje.

Slika 6. Laboratorijska pretraga uzorka odraslih pčela na prisustvo grinja *V. destructor* u vodenoj otopini detergenta.

Slika 7. Postavljanje podloške u antivarozne podnice košnice.

Slika 8. Brojanje otpalih grinja *V. destructor* na podlošci s podnice košnice.

Slika 9. Prikaz procijenjene jačine pčelinjih zajednica za pokusne i kontrolnu skupinu pčelinjih zajednica; (\*\* $p < 0,05$ ; # $p < 0,5$ ).

Slika 10. Broj grinja *V. destructor* izbrojan na podloškama podnica košnica nakon primjene goriva BeeSmoke Forte u dimilici.

Slika 11. Broj grinja *V. destructor* izbrojan na podloškama podnica košnica nakon primjene goriva BeeSmoke u dimilici.

Slika 12. Broj grinja *V. destructor* izbrojan na podloškama podnica košnica u kontrolnoj skupini pčelinjih zajednica.

Slika 13. Klimatološki elementi izmjereni u postaji Bednja za razdoblje 1. srpnja 2021. do 1. kolovoza 2021.

Tablica 1. Stupnjevani opisi agresivnosti pčelinjih zajednica.

Tablica 2. Stupnjevani opisi mirnoće pčelinjih zajednica.

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA.....	4
2.1. Organizacija rada pčelinje zajednice.....	4
2.2. Ponašajne osobine pčelinje zajednice.....	5
2.3. Obrana pčelinje zajednice.....	6
2.4. Komunikacija pčelinje zajednice.....	7
2.5. Pomagala za rad s pčelinjom zajednicom.....	9
2.6. Gorivo za dimilicu.....	9
2.7. Varooza.....	10
3. MATERIJALI I METODE.....	12
3.1. Lokacija i izgled pokusnog pčelinjaka.....	12
3.2. Određivanje jačine pčelinje zajednice.....	12
3.3. Način upuhivanja dima u košnicu.....	13
3.4. Kontroliranje učinkovitosti primjene dima pojedinog goriva za dimilicu.....	15
3.5. Ponašajne osobine.....	16
3.6. Opadanje grinja <i>V. destructor</i> .....	17
3.7. Određivanje rezidua pesticida u uzorcima meda.....	18
3.7.1. Kemikalije.....	18
3.7.2. Ekstrakcija uzorka za GC-MS/MS.....	19
3.7.3. GC-MS/MS analiza.....	20
3.7.4. Ekstrakcija uzoraka za LC-MS/MS.....	20
3.7.5. LC-MS/MS analiza.....	21
3.8. Statistička obrada i prikazivanje podataka.....	21
4. REZULTATI.....	22
4.1. Jačina pčelinjih zajednica.....	22
4.2. Ponašajne osobitosti zajednica.....	23
4.3. Učinkovitost na otpadanje grinja <i>V. destructor</i> .....	23
4.4. Rezidue pesticida u medu.....	25
5. RASPRAVA.....	26
6. ZAKLJUČCI.....	29
7. LITERATURA.....	30
8. SAŽETAK.....	33
9. SUMMARY.....	34

10. ŽIVOTOPIS.....	35
11. DODATAK.....	36



## 1. UVOD

Medonosne pčele (*Apis mellifera*) su socijalni kukci koji žive u organiziranoj zajednici (TOMAŠEC, 1949.). Pčelinja zajednica smatra se jednim organizmom. Pčele skupljaju i prenose pelud s pomoću specifičnih struktura na stražnjim nogama, poput peludne košarice, te imaju razvijeni usni aparat koji im omogućuje skupljanje tekućeg nektara i vode, te peluda (VIDAL NAQUET, 2015.). Letačkom aktivnošću pčele tijekom skupljanja hrane prelaze s cvijeta na cvijet, te oprašuju biljke. Kukci oprašivači imaju važnu ulogu u održavanju prirodnih ekosustava jer oprašivanje utječe na održavanje bioraznolikosti različitih staništa i na proizvodnju hrane općenito (TLAK GAJGER, 2019.). Važnost pčela najbolje je navodno opisao Albert Einstein svojom izrekom „Nestanu li pčele s površine Zemlje, čovjeku kao vrsti neće preostati više od četiri godine života.“

Obrambeno ponašanje ili agresivnost urođeno je ponašanje pčelinjih zajednica. Pri tome uočena je povezanost obrambenog ponašanja pčela s obzirom na brojnost pčela i površinom saća zaposjednutim leglom u pčelinjoj zajednici, odnosno jačinom zajednice (KOVAČIĆ, 2018.). Medonosne pčele općenito napadaju samo kako bi obranile svoju zajednicu, ali će također napasti ako su ozbiljno uznemirene djelovanjem nekog vanjskog čimbenika. Uobičajeni izvor podražaja koji medonosnu pčelu potiču na aktivnu obranu uključuju feromone za uzbunu, vibracije, promjenjenu koncentraciju ugljičnog dioksida te tamne boje. Kao glavni obrambeni mehanizam pčelama za obranu od drugih kukaca i pčela tuđica, te ljudi i životinja služi žalčani aparat. Žalac se u pčela (radilica, matica) nalazi u stražnjem dijelu zatka, a građen je od preformiranih ljuskica 11. i 12. kolutića egzoskeleta (DAVIS, 2011.). Otrovnna žlijezda povezana je sa žalcem, a služi za proizvodnju pčelinjeg otrova. Obrambeno ponašanje pčela rezultira ubodom tj. apliciranjem pčelinjeg otrova u ubodnu ranu žrtve. Pčelinji otrov može na mjestu uboda izazvati lokaliziranu reakciju poput upale sa simptomima boli, topline i svrbeža, pa do sustavnih alergijskih reakcija koje mogu završiti anafilaktičkim šokom ili u ekstremnim slučajevima preosjetljivosti smrt. Fosfolipaza A2 je najvažniji alergen pčelinjeg otrova.

Pčelari su razvili nekoliko načina kako se zaštititi od uboda pčela tijekom rukovanja pčelinjom zajednicom. Jedan od načina je i ručno pomagalo dimilica. Dimilica je osnovni alat koje koriste pčelari za ubacivanje dima u košnicu. Taj dim ne šteti pčelama, samo ih ometa u osjetu mirisa kako ne bi reagirale na feromone za uzbunu. Feromon za uzbunu pokreće alarmni odgovor kod drugih pčela, te ih priprema za napad na uljeza.

Feromoni su tvari koje jedinka izlučuje iz organizma te ga druga jedinka iste vrste percipira i na takav način prijenosa kemijskih informacija reagira. Primanje feromonske informacije oslobađa specifičnu reakciju kod drugih jedinki, a koja može biti ponašajna, razvojna ili fiziološka (DAVIS, 2011.). Dim podsjeća na požar, te potiče pčele da se pripreme napustiti svoju košnicu. Pri tome uzimaju puno meda, misleći da trebaju dodatnu energiju kako bi pronašle novi dom. Nahranjene medom, njihov medni mjehur je toliko pun da im je teško poletjeti, te postaju mirnije. Time postaju sporije i blago omamljene. Pčelari koriste razne materijale kao gorivo za dimilicu, primjerice borove iglice, strugotine drva, papirnate kutije za jaja, novine, pelete, trulo drvo, osušeni kravlji gnoj, gljivu trud, češere i slično. Danas postoje brojni komercijalni proizvodi koje pčelari koriste kao potpalu za dimilicu. Jedno od takvih proizvoda je i inovativno peletirano gorivo za dimilicu BeeSmoke koje smo koristili u ovom istraživanju. Osjetljivost pčela na feromone vraća se za 10 do 20 minuta nakon što se dim rasprši. Pčelari moraju biti oprezni s materijalima koje koriste kao goriva za dimilicu. Također, vrlo visoka temperatura tijekom dimljenja može dovesti do oštećenja pčelinjih krila, stoga dimilicu treba odmaknuti najmanje pet ili više centimetara od pčela.

Nametničke grinje medonosne pčele najveći su problem pčelarstva današnjice. U zajednicama medonosne pčele (*A. mellifera*) prisutne su invazije trima obvezatnim nametničkim grinjama: *Varroa* spp., *Acarapis woodi* i *Tropilaelaps* spp. (TLAK GAJGER, 2019.) Smatra se da je grinja *V. destructor* zasad najopasniji nametnik medonosne europske pčele. Medonosna europska pčela nema razvijene obrambene mehanizme kojima bi samostalno uspostavila ravnotežu u brojnosti između nametnika i nosioca. Varooza se nalazi na listi WOAHA-a. U Republici Hrvatskoj Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane izdala je preporučeni Program kontrole i suzbijanja varooze u Republici Hrvatskoj prema kojem svaki pčelar treba voditi evidenciju korištenja veterinarsko-medicinskih proizvoda (VMP) na pčelinjim zajednicama. Tretiranje pčelinjih zajednica protiv varooze obavezno je svake pčelarske godine. U suzbijanju i kontroli varooze u pčelarstvu se uz VMP-ove koriste i biološko-uzgojne mjere. U biološko-uzgojne mjere ubrajamo žrtvovanje radiličkog i/ili trutovskog legla, stavljanje okvira građevnjaka, primjenu šećera u prahu, izolaciju matice te umjetno prekidanje pčelinjeg legla u aktivnoj pčelarskoj sezoni.

Kao dio inovativnog pristupa održivom pčelarstvu u ovom radu bio je cilj utvrditi učinkovitost primjene komercijalno dostupnih peletiranih goriva za dimilicu BeeSmoke Forte i BeeSmoke. Primjena ove api-biotekničke mjere promatrana je iz aspekta ponašanja pčelinjih zajednica, kao i mogućeg akaricidnog djelovanja na grinje *V. destructor* u različitim

razdobljima nakon korištenja dimilice. Dodatno je, prije i nakon primjene BeeSmoke goriva za dimilicu, određena jačina zajednica te pretražen poklopljeni med iz košnica na prisutnost rezidua pesticida, odnosno akaricida.

## 2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

### 2.1. ORGANIZACIJA RADA PČELINJE ZAJEDNICE

Pčele su socijalni kukci koji žive u dobro organiziranoj zajednici u kojoj obavljaju niz različitih složenih zadataka u košnici kao kućne pčele, te kao skupljačice hrane i vode u prirodi. Komunikacija, složena konstrukcija gnijezda, obrana i podjela rada samo su neka od ponašajnih obrazaca koje su medonosne pčele morale razviti da bi uspješno živjele u društvenim zajednicama. Pčele radilice surađuju u izgradnji saća, prikupljanju hrane, čišćenju stanica saća i uzgoju legla (VIDAL NAQUET, 2015.). Svaki član zajednice ima određenu ulogu koja je vezana uz njegovu životnu dob. Preživljavanje i razmnožavanje zahtijevaju zajedničke napore cijele zajednice. Društvenu strukturu zajednice održava prisutnost matice i pčela radilica, a ona ovisi o učinkovitom sustavu komunikacije. Razmnožavanje i razvijanje zajednice ovisi o proizvodnosti matice, količini zaliha hrane i jačini zajednice (TAUTZ, 2008.; CONNOR, 2008.). Kako se veličina zajednice povećava do nekoliko desetaka tisuća pčela radilica, tako raste i proizvodna učinkovitost pčelinje zajednice.

Matica može živjeti nekoliko godina, ponekad i do pet godina, ali prosječni reproduktivni životni vijek je dvije do tri godine. Osim primarne reproduktivne funkcije, matica proizvodi feromone koji služe u ujedinjenju i individualnom identitetu pčelinje zajednice (KANE i FAUX, 2021.). Genetski materijal pčelinje matice, zajedno s trutovima s kojima se parila, pridonosi kvaliteti, veličini i temperamentu zajednice.

Trutovi su spolno zreli mužjaci i najveće su pčele u zajednici. Njihova glavna funkcija je parenje s maticom tijekom takozvanog svadbenog leta. Trutovi ugibaju odmah nakon parenja. Iako trutovi ne obavljaju mnogo funkcija u košnici, vjeruje se da je njihova prisutnost iznimno važna za normalno funkcioniranje zajednice. Kada u jesen počne hladnije vrijeme i kao dio pripreme za zimovanje radilice izbacuju eventualno prisutne trutove iz košnice.

Pčele radilice imaju specijalizirane strukture, kao što su mliječna žlijezda, mirisna žlijezda, voštana žlijezda, košarica s peludom koje im omogućuju obavljanje svih poslova u košnici i za skupljanje hrane i vode. Medonosna pčela razvija se kroz četiri razvojna stadija, od jaja, ličinke, kukuljice pa do odrasle pčele (ANDERSON i sur., 2002.). Razvoj pčele radilice traje 21 dan. Matica počinje polagati jaja nekoliko dana nakon parenja s trutovima, a do oplodnje jaja dolazi u jajovodu tijekom akta polaganja. Nakon tri dana od polaganja, jaja postaju

ličinke. Savijena ličinka aktivno uzima hranu i intenzivno raste. Kada se ličinka ispruži u stanici saća, pčele radilice ju zatvaraju poklopcem građenim od tankog sloja voska. Tako poklopljene ličinke oko sebe stvore čahuru i počinje kukuljenje. U stadiju kukuljice razvijaju se strukture tijela odrasle pčele poput glave, prsnog koša, zatka i krila. Energiju potrebnu za ove promjene osigurava pohranjena mast. Nakon što se kukuljica transformira u odraslu jedinku, odgriza poklopac te migrira van iz stanice saća (TOMAŠEC, 1949.).

## 2.2. PONAŠAJNE OSOBINE PČELINJE ZAJEDNICE

Ponašanje pčelinje zajednice je složen sustav s dobro definiranim komponentama utjecaja okoline, sazrijevanjem i nasljednim osobinama. Jedna ključna prednost eusocijalnosti je zajednička obrana gnijezda, legla i pohranjene hrane, pri čemu obrana gnijezda igra najznačajniju ulogu u biologiji medonosnih pčela (BREED i sur., 2004.). Ponašanje pčela stražarica igra ključnu ulogu u obrambenom odgovoru zajednice. Rezultati recipročnih F1 križanja pokazuju da geni naslijeđeni od trutove (očeve) strane imaju veći utjecaj na reakciju zajednice na ubod nego geni naslijeđeni s matičine (majčine) strane (HUNT, 2007.). Izopentil acetat je oslobađajući feromon koji javlja uzbunu kod članova zajednice medonosne pčele, no ne izaziva samo brzu obrambenu reakciju, već također utječe na ponašanje kroz duže razdoblje i utječe na ekspresiju gena za pamćenje (ALAUX i ROBINSON, 2007.).

Higijensko ponašanje kod medonosnih pčela je nasljedna osobina. Pčele radilice, kao kućne pčele imaju zadatak da od prvog do petog dana starosti obavljaju dužnost čistačice. Čistačice imaju zadatak otkriti i uklanjati uginulo ili bolesno leglo iz zatvorenih stanica, što uključuje i uklanjanje i sprječavanje umnažanja plijesni, gljivica i nametnika koji mogu ugroziti opstanak zajednice. Neki postupci kao što je kanibalizam ili samo-čišćenje, čišćenje drugih pčela, stanica saća ili ličinki također su bitan dio održavanja higijene u zajednici. Higijensko ponašanje zajednice je promjenjivo. Značajan utjecaj na higijensko ponašanje zajednice ima interakcija između dostupnosti nektara, količine pčelinjeg legla i sezone. Kanibalizam je učinkovit način kojim zajednica reciklira proteine i sprječava rast plijesni i gljivica na uginulim ličinkama (SIEFER i sur., 2021.).

Rojenje medonosnih pčela, koje se naziva i razmnožavanje zajednice, prirodna je pojava kad se zajednica podijeli na dio koji će otići iz košnice sa starom maticom, te dio pčela koje će ostati i uspostaviti zajednicu s novom maticom. U roju se nalazi otprilike tri četvrtine pčela

radilica i trutova od ukupne zajednice. Rojenje se najčešće događa u proljeće ili ljeto, između 10 do 14 sati na topli sunčani dan. Nekoliko je čimbenika koji utječu na to hoće li se zajednica rojiti ili ne, kao što su dovoljno nektara u prirodi i umjerena klima kako bi se olakšao razvoj i rast nove zajednice. Nereproduktivna rojenja događaju se tijekom srpnja, a kao kolektivno ponašanje zajednice, može se pripisati nagonu za preživljavanje zbog primjerice nametničkih invazija zajednice. Prije svega pčelinja zajednica treba osigurati svoj opstanak, a medonosne pčele oslanjaju se na ponašajne i fiziološke načine obrane protiv bolesti. Prijenos uzročnika raznih bolesti i nametnika u pčelinjoj zajednici je olakšan zbog bliskih fizičkih kontakata tijekom predavanja hrane „s rilca na rilce“ i hranjenja drugih članova zajednice. Rojenje poboljšava i genetsku raznolikost koja je bitna za zdravlje jer osigurava povećanu otpornost na uzročnike bolesti i na invaziju nametničkom grinjom *V. destructor*.

### 2.3. OBRANA PČELINJE ZAJEDNICE

Obrana pčelinje zajednice može se podijeliti u tri kategorije odgovora. Obrana od drugih pčelinjih zajednica, obrana od grabežljivaca beskralježnjaka i kradljivaca meda te obrana od kralježnjaka. Primarno oružje medonosne pčele je ubod žalcem, kojeg ponekad nadopunjuje ugrizom s donjom čeljusti. Ubod medonosne pčele je autonoman, što podrazumijeva da je tkivo koje pričvršćuje žalac za tijelo pčele slabo i lako se izvuče iz tijela. Nakon uboda, u elastičnoj koži žrtve ostaju žalac i mišići koji nastavljaju „pumpati“ otrov u kožu (TOMAŠEC, 1949.; STELL, 2012.).

U obrani pčelinje zajednice jako je bitan alarmni feromon koji služi za upozoravanje drugih pčela u zajednici na prijetnju. Kada u zajednici nedostaje nektara, pčele radilice se mogu odlučiti da opljačkaju drugu zajednicu što se najbolje uočava kod podvrste *A. mellifera*. Pčele čuvarice koje patroliraju u blizini leta, pregledavaju pčele koje im se približavaju s pomoću svojih ticala te ugrizaju i bodu pčele iz drugih zajednica. Čuvanje zajednice je intenzivnije kada su zalihe nektara manje. Nakon što pčela ubode žrtvu, oslobode se feromoni za uzbunu te taj feromon alarmira još više pčela na oprez (NIÑO i sur., 2013.; CARR, 2016.; KANE i FAUX, 2021.).

Predatori beskralješnjaci stvorili su zanimljive prilagodbe za predatorstvo nad medonosnim pčelama. Stršljeni se hrane odraslim pčelama i mogu devastirati pčelinje zajednice. Podvrste pčela *Apis dorsata* i *Apis florea* u prisutnosti stršljena pokreću krila tako da proizvode učinak poput vala koji zrači kroz pčele. Ako pčele uhvate stršljena, veliki broj odraslih pčela ga okruži te počinju proizvoditi toplinu vibracijama prsnog mišićja i tako „skuhaju“ zaklupčanog stršljena.

Ubod pčele kod čovjeka uzrokuje lokalnu bol, svrbež, opću alergijsku reakciju ili kod preosjetljivih pojedinaca anafilaktički šok. Pčelinji otrov sastoji se od dva neenzimska proteina, apamina i melitina, enzima hijalonuridaze i biogenih amina dopamina i histamina. Neurotoksin povezan s osjećajem boli kod uboda je apamin. Hijalonuridaza razgrađuje vezivna tkiva pospješujući širenje otrova kroz tkivo, dok dopamin i histamin povećavaju cirkulaciju u području uboda. U pčelinjem otrovu nalaze se već spomenuti hiperalerogeni apamin i melitin, koji kod ljudi u slučaju ponovnog izlaganja pčelinjem otrovu mogu razviti snažnu imunosnu reakciju.

## 2.4. KOMUNIKACIJA PČELINJE ZAJEDNICE

Glavni način prenošenja informacija između pčela su dijeljenje hrane, feromoni, ples i orijentacijske vibracije (DAVIS, 2011.). Feromoni su lako hlapljive tvari koje jedinka izlučuje iz organizma i koja kada je prihvaćena od druge jedinke iste vrste, rezultira specifičnom promjenom ponašanja. Jedan od najaktivnijih i najvitalnijih kemijskih komunikacijskih feromona u pčelinjoj zajednici je sekret mandibularne žlijezde matice. Kemijski je vrlo raznolik, a sadrži najmanje 17 sastavnica. Analizom sekreta mandibularne žlijezde ustanovljen je učinak mandibularnog feromona matice te razvijen umjetni mamac ili pseudo-feromon zvan QMP (eng. *Queen Mandibular Pheromone*). Pseudo-feromon koristi se u zajednicama kako bi stabilizirao zajednicu bez matice ili odgodio rojenje u pčelinjoj zajednici. Zrele, oplođene matice izlučuju dvostruko više QMP feromona na dnevnoj razini od 11 sati ujutro, pa do 17 sati poslijepodne. Feromoni se rasprše po tijelu matice. Pčele radilice hvataju feromone ticalima i rilcem (KANE i FAUX, 2021.). Pčele radilice koje hrane maticu, posebno su bitne u prenošenju matičinog feromona. Prenosjenjem hrane s rilca jedne na rilce druge pčele, feromon matice prenosi se s jedne pčele radilice na drugu. Ako se matica ukloni iz zajednice, pčele radilice

postanu nervozne za samo sat vremena od uklanjanja matice, a u roku od četiri sata počinju raditi na njezinoj zamjeni uzgojem nove matice.

Feromon matice ima funkciju inhibicije razvoja drugih matice, stabilizaciju roja, seksualnu privlačnost, ponašanje pčela radilica koje prate maticu, stimulaciju traženja hrane i uzgoja pčelinjeg legla. Kada je zajednica u rojevnom nagonu, distribucija feromona matice se poremeti. Funkcija feromona matice izvan zajednice je da privuče pčele radilice koje lete u roju, te da ojača ponašanje stabilizacije roja (NIÑO i sur., 2013.; CARR, 2016.; KANE i FAUX, 2021.).

Medonosne pčele imaju dva različita alarmna feromona. Feromon uboda je glavni feromon za uzbunu. Pčela koja ugrine nakon uboda, ne ugiba uzalud. Žalčani aparat pčele ima žlijezdu koja ispušta feromon za uzbunu, a taj feromon označi neprijatelja i ostaje učinkovit do pet minuta nakon uboda (VIDAL-NAQUET, 2015.). Pčela stražarica na samom ulazu, može podići svoj žalac i raširiti krila kako bi upozorila druge pčele na opasnost. Glavni kemijski spoj koji u ubodu izaziva uzbunu je izopentil acetat. Pčele radilice taj spoj nemaju do petnaestog dana života, a nakon petnaestog dana života imaju ga u količini od 1 do 5  $\mu\text{g}$ . Pčele će reagirati na alarmni feromon samo u blizini zajednice. Dim iz dimilice prikriva alarmni feromon (GAGE i sur., 2018.).

Svaka pčelinja zajednica ima jedinstveni miris. Pčele skupljačice odlaze nekoliko puta na dan iz košnice, ali provode noći u košnici tako da se taj miris konstantno obnavlja. Potrebno je jedna do tri sekunde da se identificira član zajednice ili uljez u košnici. Ako pčela skupljačica greškom uđe u pogrešnu košnicu, čuvarica može zaustaviti pčelu zbog drugačijeg mirisa. Pčele koje su greškom ušle u košnicu, obično se ponašaju podložno, kreću se polako, odlaze do pčele čuvarice te joj nude hranu. Pčele čuvarice mogu druge pčele povući za nogu ili krila te ih pokušavaju izbaciti iz košnice (KANE i FAUX, 2021.). Pčele pljačkašice koje tijekom grabeža pokušavaju ući u košnicu ili ako zalutala pčela postane agresivna, pčele čuvarice pokušavaju spriječiti njihov ulazak. Obično pčele čuvarice ubodu takve pčele. Bezopasni uljezi, kao mlade pčele, obično prođu neozlijeđeno ako pogriješe košnicu. Takve pčele uspješno se mogu uklopiti u novu zajednicu te poprimiti miris nove zajednice za svega četiri sata. Međutim, zalijetanje predstavlja i mogućnost za prenošenje uzročnika opasnih zaraznih bolesti (TLAK GAJGER, 2019.; TLAK GAJGER i sur., 2021.).



## 2.5. POMAGALA ZA RAD S PČELINJOM ZAJEDNICOM

Čovjek, kako bi si olakšao rad s pčelinjom zajednicom, je osmislio razna pomagala. Kako bi se zaštitio od uboda pčele, prije odlaska na pčelinjak, pčelar odjene pčelarsko odijelo koje mora biti labavo i vrećasto, jer ako je materijal pripojen uz tijelo pčela može ubosti i preko odijela. Dodatnu zaštitu, uz odijelo pružaju čizme, rukavice te dodatna zaštita na gležnjevima. Niti jedno pčelarsko odijelo ne pruža potpunu zaštitu od uboda. Čovjek predstavlja prijatnu pčelinjoj zajednici te zajednica odgovara aktivnom obranom. Dimilica djeluje na principu ometanja pčelinjeg osjeta njuha, tako da se alarmni feromoni više ne mogu osjetiti u zajednici (GAGE i sur., 2018.). Djelovanje dima na pčele je reverzibilno, osjet njuha im se vraća unutar 10 do 20 minuta. Moderna dimilica je u upotrebi od 1873. godine kada ju je izumio pčelar Moses Quinby. Pčelarsko dlijeto pomaže pčelaru u rukovanju s košnicom, odvajanju nastavaka i okvira, podizanju okvira iz košnice bez da se ošteti saće, uklanjanju viška voska i propolisa i slično. Četka za pčele može se koristiti za uklanjanje pčela s okvira tijekom pregleda, skupiti ih kod rojenja ili ih skinuti s pčelarskog odijela. Četka za pčele osigurava da se pčele mogu maknuti bez da ih se povrijedi. Priprema zajednica za prezimljavanje uključuje dodavanje šećernog sirupa u prehranu zajednice, a za to se koriste hranilice. Košnica može imati različite vrste podnica. Podnice za LR košnice mogu biti pune podnice, podnice za skupljanje peluda te antivarozne podnice koje služe da se otpale grinje *V. destructor* više ne mogu vratiti na pčele (KANE i FAUX, 2021.).

## 2.6. GORIVO ZA DIMILICU

Pčelari kao gorivo koje stavljaju u dimilicu koriste prirodne i umjetne materijale. Dimilica ima spremnik u koji se stavljaju razna goriva. Prije svega, pčelar mora izabrati gorivo čiji dim neće ozlijediti ili smetati pčelu. Dim kojim se dime pčele ne smije biti vruć, jer u suprotnom može doći do oštećenja pčelinjih krila. Jedan od korištenih prirodnih materijala je pamuk koji daje hladan dim, nikad ne stvara otvoreni plamen, dim je konzistentan, te traje dugo jer tinja i ne sadrži smole koje bi mogle začepiti otvor na dimilici. Juta tinja na vrlo niskoj temperaturi, dim je konzistentan, te ne sadrži smole. Borove iglice vrlo lako se mogu naći u prirodi, dim je konzistentan, ali dim je vruć. Borove iglice sadrže smole koje će brzo dovesti

do zagušivanja dimilice, te relativno brzo izgore zbog otvorenog plamena. Drveni peleti dobri su u održavanju dima jer polako gore, ali iziskuju oprezno rukovanje dimilicom zbog vrućeg dima. Dimni štapići oblik su prirodnog sredstva dimljenja koje je vrlo jednostavno za upotrebu u pčelarstvu. Danas na tržištu postoje razna goriva za dimilicu. Jedno od njih je i inovativno gorivo za dimilicu BeeSmoke i BeeSmoke Forte. U dimilicu se stavi potpala, zapali i doda se BeeSmoke gorivo. Dimljenjem pčela smiruju se pčele, a primijećeno je da istodobno djeluje na grinje *V. destructor* koje omamljene padaju s pčela na podlošku podnice košnice.

## 2.7. VAROOZA

Život grinje *V. destructor* može se podijeliti na foretsku fazu kad parazitiraju na odraslim pčelama i reproduktivnu fazu uz pčelinje leglo. Parazitiraju samo ženke grinje koje koriste odraslu pčelu kako bi iz jednog mjesta stigla do drugog mjesta, te kao izvor hrane. Reproductivna faza počinje kada grinja ulazi u otvorenu stanicu saća s pčelinjom ličinkom kako bi položila jaja. Prvo jaje koje položi grinja u stanici saća je neoplođeno i razvije se mužjak. Ostala oplođena jaja koja grinja polaže svakih 24 do 36 sati razvijaju se u ženke. *V. destructor* obično položi četiri do pet jaja u radiličko leglo te pet do šest jaja u trutovsko leglo. U stanici grinje se hrane svakih 1,6 sati, a natjecanje za hranu je uobičajeno na mjestu hranjenja koje je označila grinja osnivačica. *V. destructor* hrani se hemolimfom i masno-bjelančevinastim tijelom medonosne pčele. Razvoj potomaka grinje u stanici traje otprilike 5,5 dana unutar radilačkih stanica saća i 7,5 dana unutar trutovskog legla. Nakon sazrijevanja grinja, parenje grinje odvija se na mjestu nakupljanja izmeta i bimodalno je, te traje tri do šest minuta. Foretska faza života grinje započinje kada odrasla pčela izađe iz stanice saća. Grinja osnivačica i njezine odrasle kćeri prihvate se za pčelu, prije nego pčela izađe te tako izlaze s njom. Najvjerojatnije mjesto za prihvaćanje grinja na odraslim pčelama je između intersegmentalnih kolutića egzoskeleta na trbušnoj strani zatka. Prednje noge *V. destructor* prekrivene su kemosenzornim receptorima koji joj pomažu u snalaženju u prostoru. U proljeće i ljeto populacija *V. destructor* raste u pčelinjoj zajednici, ali i s rastom populacijom grinje raste i mogućnost virusnih infekcija. Ozbiljnost simptoma uzrokovanih varoozom ovisi o razini invazije grinjama i često je povezana sa stalnim i linearnim porastom populacije grinja *V. destructor* u zajednici tijekom kasnog proljeća i ljeta (WEGENER i sur., 2016.). Razina invazije pčelinje zajednice grinjama ovisi o nekoliko čimbenika poput utjecaja okoliša (prosječna količina padalina, geografsko područje i

dostupnost prirodne hrane), genetici (higijensko ponašanje), kao i njihovom međusobnom međudjelovanju. Pčelinja zajednica s većom količinom meda i zaleženog legla pokazuju jaču invaziju varoozom, nego zajednice s manje legla. Grinja *V. destructor* utječu na pčele i na pojedinačnoj razini, uzrokujući smanjenu tjelesnu masu pčela, smanjenu sposobnost učenja, te kraći životni vijek pčela. Grinja se na pčeli stalno hrani, što na hranidbenom mjestu uzrokuje otvorenu ranu te stvaranje ožiljkastog tkiva, kao i ulaz za druge uzročnike bolesti.

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1. Lokacija i izgled pokusnog pčelinjaka

Pčelinjak na kojem se izvodio pokus nalazi se na sjeveru Hrvatske, a smješten je u ruralnom području i predstavlja stacionarni tip pčelinjaka. Na pčelinjaku pčelinje zajednice smještene su u Langstroth-Root tip košnica (Slika 1). To je vertikalni tip košnice u kojoj su svi sastavni dijelovi jednakih dimenzija i standardizirane izrade. Glavne paše na ovom području su bagrem i kesten. Na pčelinjaku se nalazi 30 pčelinjih zajednica. U pokus je bilo uključeno 15 pčelinjih zajednica koje su bile podijeljene u tri skupine (dvije pokusne i jedna kontrolna). Svaka skupina bila je odmaknuta nekoliko metara.



Slika 1. Izgled pčelinjaka.

#### 3.2. Određivanje jačine pčelinjih zajednica

Za određivanje jačine pčelinjih zajednica korištena je formula za izračunavanje jačine zajednice. Parametri koji ulaze u izračun su broj okvira popunjenih odraslim pčelama, te postotak površine okvira zaleženoga saća s pčelinjim leglom. Prema podatku iz članka *Standard methods for estimating strength parameters of Apis mellifera colonies*, površina uobičajenih tipova okvira i očekivana gustoća pčela kada je okvir u potpunosti prekriven pčelama radilicama, za okvir tipa Langstroth Root navodi se da je broj pčela radilica na jednoj strani

okvira 1 400. Broju odraslih pčela dodaje se procijenjena površina saća pokrivena zaleženim pčelinjim leglom koja se pomnoži s brojem četiri (DELAPLANE i sur., 2013.).

### 3.3. Način upuhivanja dima u košnicu

Korištene su tri dimilice jednake zapremine (Slika 2). Upuhivanje dima u košnice obavljeno je u ranim jutarnjim satima kada još pčele radilice nisu izlijetale na pašu. U svaku dimilicu stavljeno je sredstvo za potpalu, zapaljena je vatra (Slika 3) i dodano gorivo BeeSmoke Forte (A), u drugu BeeSmoke (B) i treća skupina pčelinjih zajednica služila je kao kontrolna skupina (C) tretirana dimom drvenog peletiranog goriva. U svaku dimilicu stavljena je jednaka količina peletiranog goriva. Nakon što se peletirano gorivo razgorjelo, svakoj zajednici upuhan je dim pet puta na mrežu ispod poklopca košnice, te pet puta u leto (Slika 4). Postupak dimljenja ponavljan je pet puta unutar mjesec dana s jednakim razmacima između tretiranja.



Slika 2. Priprema peleta i dimilica.



Slika 3. Paljenje peleta u dimilici.

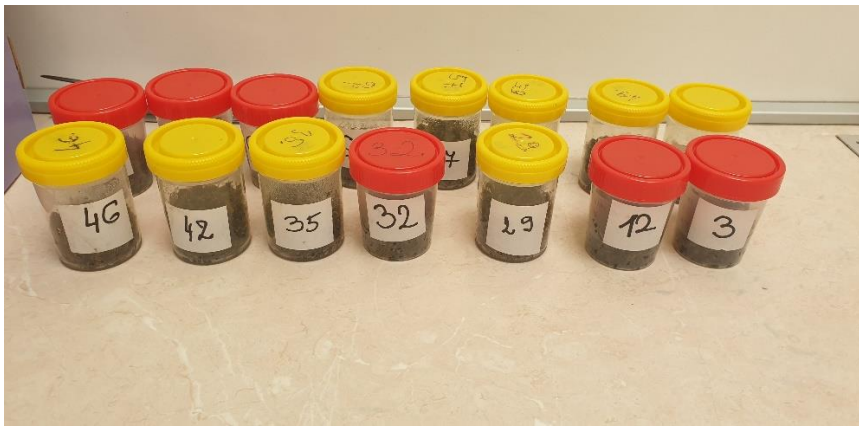


Slika 4. Upuhivanje dima u košnicu kroz leto.

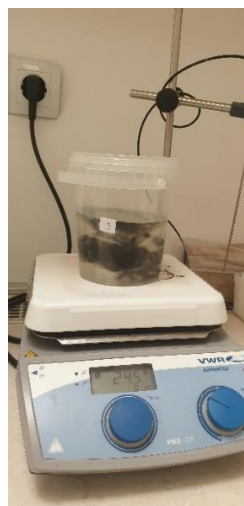


### 3.4. Kontroliranje učinkovitosti primjene dima pojedinog goriva za dimilicu

Nakon tretiranja pčelinjih zajednica dimom određenog peletiranog goriva kontrolirana je učinkovitost njegove primjene. Iz svake košnice uzet je uzorak odraslih pčela radilica (plastična čašica s poklopcem, zapremine 120 ml), prije tretiranja, te nakon provedenog istraživanja na pčelinjaku, a za laboratorijsku dijagnostiku postupka utvrđivanja prisutnosti i morfološku identifikaciju nametnika *V. destructor* (Slika 5 i 6). Uzorci pčela pohranjeni su u zamrzivaču do pretraživanja. U košnicama je kontrolirano opadanje grinja *V. destructor* u tri određena vremenska razmaka nakon tretiranja.



Slika 5. Uzorci odraslih pčela radilica za laboratorijsko pretraživanje.



Slika 6. Laboratorijska pretraga uzorka odraslih pčela na prisustvo grinja *V. destructor* u vodenoj otopini detergenta.

### 3.5. Ponašajne osobine

Tijekom rada sa svakom pčelinjom zajednicom praćena je agresivnost i mirnoća pćela. Osobine agresivnosti i mirnoće pćelinjih zajednica procjenjivane su dodjeljivanjem stupnjevite brojćane ocjene. Svaka dodijeljena ocjena oznaćavala je odrećeni opis ponašanja pćela radilica koje je opisano u Tablici 1. i Tablici 2.

Tablica 1. Stupnjevani opisi agresivnosti pćelinjih zajednica.

<b>Brojćana ocjena</b>	<b>Opisna ocjena</b>	<b>Opis ponašanja pćela radilica</b>
<b>1</b>	Vrlo blage	Pćele prilikom otvaranja košnice i rukovanja mirno hodaju po saću i ne izlijeću.
<b>2</b>	Normalne	Pćele se nemirno kreću po saću, poneke polijeću i ne napadaju.
<b>3</b>	Agresivne pćele	Pćele napadaju pri otvaranju košnice, a pri pregledu okvira sa saćem bodu pćelara.

Tablica 2. Stupnjevani opisi mirnoće pćelinjih zajednica.

<b>Brojćana ocjena</b>	<b>Opis ocjene</b>	<b>Opis ponašanja pćela radilica</b>
<b>1</b>	Vrlo mirne	Pćele prilikom rukovanja okvirom mirno hodaju po saću.
<b>2</b>	Normalne	Pćele se ubrzano kreću po saću.
<b>3</b>	Nemirne	Pćele pri vađenju okvira polijeću i napuštaju saće.



### 3.6. Opadanje grinja *V. destructor*

Nakon primjene dima dobivenog određenim gorivom, na podloškama antivaroznih podnica pojedinih košnica izbrojane su otpale grinje *V. destructor* (Slika 7). Brojanje otpalih grinja obavljeno je 3, 6 i 24 sata nakon dimljenja (Slika 8). Nakon svakog brojanja, podloška na podnicama košnica je očišćena. Tijekom brojanja kao pomagalo korišteno je povećalo.



Slika 7. Postavljanje podloške u antivarozne podnice košnice.



Slika 8. Brojanje otpalih grinja *V. destructor* na podlošci s podnice košnice.

### 3.7. Određivanje rezidua pesticida u uzorcima meda

Analiza meda napravljena je na uzorcima meda uzetih prije i nakon provedenog eksperimentalnog istraživanja, izravno iz mednih saća. Analize su napravljene GC-MS/MS i LC-MS/MS metodom. Analiziran je ukupno 151 pesticid (popis u Dodatku).

#### 3.7.1. Kemikalije

Za analitičko ispitivanje korišteni su certificirani standardi pesticida (čistoće 94 do 99%) dobiveni od Dr. Ehrenstorfer marke LGC Standards (Augsburg, Njemačka), Toronto Research Chemicals (Toronto, Kanada) i Sigma Aldrich (Seelze, Njemačka). Pojedinačne osnovne otopine pesticida u koncentracijama od 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  pripremljene su u acetonu ili dimetilformamidu i pohranjene u jantarnim staklenim bočicama s navojnim čepom pri temperaturi ispod  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Mješovite standardne otopine za validaciju i kalibraciju pripremljene su odgovarajućim razrjeđenjima osnovnih standardnih otopina s acetonitrilom. Također je pripremljena otopina za dodavanje internog standarda u koncentracijama od 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (karbendazim-D3, diklorprop-D6, amitraz-D12 i TBP) u acetonitrilu. LC-MS acetonitril, aceton, cikloheksan i etil acetat stupnja čistoće isporučio nam je Honeywell (Charlotte, Sjeverna Karolina, SAD). Dimetilformamid, natrijev sulfat (bezvodni) i natrijev klorid dobiveni su od Sigma Aldrich (Bellefonte, PA, SAD). QuEChers materijali za ekstrakciju i čišćenje polarnih pesticida nabavljeni su od BEKOluta (BEKOluta GmbH & Co. KG, Hauptstuhl, Njemačka). Korišteni su Citrate-KIT-01 i PSA-KIT-02. Ultra čista voda ( $18,2\text{ M}\Omega\text{ cm}^{-1}$ ) proizvedena je Direct-Q® 5 UV sustavom (Millipore Corporation Merck, Darmstadt, Njemačka).

### 3.7.2. Ekstrakcija uzorka za GC-MS/MS

Za GC-MS/MS analizu 25 g uzorka meda izvagano je u staklenu čašu i dodano je 94 mL prethodno zagrijane vode pri 40 °C, promiješano staklenim štapićem i ostavljeno stajati 30 minuta. Nakon toga je dodano 200 mL acetona. Smjesa je miješana vorteks miješalicom tijekom dvije minute, a zatim je dodano 35 g natrijevog klorida i 100 mL smjese cikloheksan/etil acetata (1+1, v/v) i ponovno miješano jednu minutu. Nakon 30 do 60 minuta, gornji organski sloj je skupljen i 200 mL organske faze je filtrirano kroz lijevak koji je sadržavao filter papir preko kojeg je stavljeno 100 g bezvodnog natrijevog sulfata. Filtrat je skupljen u tikvicu s okruglim dnom od 500 mL i lijevak je ispran nekoliko puta s približno 20 mL smjese cikloheksan/etil acetata. Zatim se konačni ekstrakt koncentriran na vakuum isparivaču gotovo do suhog. Etil acetat (7,5 mL) dodan je vodenom ostatku, nakon čega je sadržaj tikvice miješan blagim kružnim pokretima da se otope ostaci vezani za stijenke tikvice. Smjesa (5 g) natrijevog klorida i bezvodnog natrijevog sulfata (1+1, w/w) dodana je u tikvicu kako bi se vezala zaostala voda i 7,5 mL cikloheksana do ukupnog volumena od 15 mL. Sadržaj tikvice je protresen i smjesa je filtrirana kroz membranski filter u epruvetu od 10 mL za čišćenje gel permeacijskom kromatografijom (GPC) nakon taloženja. Epruveta je očišćena GPC-om prema sljedećim uvjetima: pokretna faza, cikloheksan + etil acetat (1 + 1, v/v); brzina protoka tri mL tijekom jedne minute; valna duljina detekcije 254 nm; volumen injekcije 2 mL; započeto vrijeme prikupljanja 26 minuta; vrijeme prestanka prikupljanja nakon 47 minuta.

Eluirani dijelovi od 26 do 47 minuta skupljeni su u epruvete za prikupljanje frakcija i koncentrirani na 1 mL u koncentratoru s laganom strujom dušika (12±2 psi) pri temperaturi 35±5 °C. Otopina internog standarda (100 µL) dodana je uzorku meda prije ubrizgavanja u GC-MS/MS. Za kalibraciju je korištena matrix matched kalibracija.

### 3.7.3. GC-MS/MS analiza

Korišten je sustav GC-MS/MS opremljen plinskim kromatografom Agilent 7890A (Palo Alto, CA, SAD), serijom autosamplera 7693B, split/splitless injektorom u pulsiranom splitless modu i tandemskim detektorom masene spektrometrije 7000B s ionizacijskim izvorom tipa elektron udar. Kromatografsko odvajanje provedeno je na HP-5 MS kapilarnoj koloni ( $30\text{ m} \times 0,25\text{ mm ID}$ ,  $0,25\text{ }\mu\text{m}$ , Agilent Technologies, SAD) s helijem (99,9999% čistoće) pri konstantnoj brzini protoka od  $0,9\text{ mL min}^{-1}$  kao plinom nosačem. Volumen injekcije bio je  $2\text{ }\mu\text{L}$ . Program temperature pećnice postavljen je na sljedeći način: početna temperatura od  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  održavana je jednu minutu, nakon čega je slijedilo povećanje od  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  tijekom jedne minute do  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , nakon čega je išlo povećanje od  $3\text{ }^{\circ}\text{C}$  tijekom jedne minute do  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$  i zadržavanje tijekom pet minuta, a na kraju slijedilo je povećanje od  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$  tijekom jedne minute do  $280\text{ }^{\circ}\text{C}$  i zadržavanje tijekom 13 minuta. Ukupno trajanje izvođenja analize bilo je  $44,867$  minute. Ostali radni uvjeti bili su sljedeći: ulazna temperatura bila je  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  do  $0,01$  minute, zatim  $720\text{ }^{\circ}\text{C}$  tijekom jedne minute do  $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; temperatura prijenosnog voda bila je  $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; temperatura izvora  $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; temperatura MS1 i MS2 kvadrupola  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; protok plina sudara ( $\text{N}_2$ )  $1,5\text{ mL min}^{-1}$ ; protok plina za gašenje ( $\text{He}$ )  $2,25\text{ mL min}^{-1}$ . Sustav GC-MS/MS kontroliran je softverom Mass Hunter verzije B.07.01. Kvantitativna i kvalitativna analiza također je napravljena sa softverom Mass Hunter koji se temelji na dva najintenzivnija prijelaza prekursora iona u produkt iona za praćenje višestruke reakcije (MRM eng. multiple reaction monitoring).

### 3.7.4. Ekstrakcija uzorka za LC-MS/MS

Uzorak meda od  $5\text{ g}$  izvagan je u epruvetu za centrifugu od  $50\text{ mL}$  čemu je dodano  $100\text{ }\mu\text{L}$  otopine internog standarda. Nakon  $30$  minuta dodano je i  $10\text{ mL}$  vode i smjesa je miješana tijekom  $10$  minuta. Nakon toga je dodano  $10\text{ mL}$  acetonitrila i smjesa je miješana tijekom narednih  $10$  minuta. Zatim su dodane soli za ekstrakciju iz Citrate-KIT-01 ( $4,0\text{ g MgSO}_4 + 1,0\text{ g NaCl} + 0,5\text{ g Na}_2\text{H-citrata} \times 6\text{ H}_2\text{O}$ , te  $1\text{ g Na}_3\text{-citrata} \times 2\text{ H}_2\text{O}$ ), miješane tijekom  $10$  minuta i centrifugirane na  $2500\text{ g}$  tijekom  $10$  minuta. Potom je dio supernatanta u količini  $6\text{ mL}$  prebačen u epruvetu za centrifugu volumena  $15\text{ mL}$  koja je sadržavala PSA-KIT-02 ( $900\text{ mg MgSO}_4 + 150\text{ mg PSA}$ ), miješan tijekom  $10$  minuta i centrifugiran na  $2500\text{ g}$  tijekom  $10$  minuta.

Nakon toga je 1 mL konačnog ekstrakta preliven u injekcijsku bočicu za LC-MS/MS analizu. Za kalibraciju je korištena proceduralna kalibracija.

### 3.7.5. LC-MS/MS analiza

LC-MS/MS analize su provedene korištenjem Agilent Technology 1260 HPLC sustava spojenog s Triple Quad LC/MS 6410 masenim spektrometrom (Agilent, Santa Clara, CA, SAD). Kromatografsko odvajanje je provedeno na C 18 koloni (ZORBAX Eclipse Plus kolona, 2,1 mm × 150 mm × 3,5 μm, Agilent, Santa Clara, CA, SAD). Temperatura kolone je održavana na 25 °C, a korišten je volumen injekcije od 5 μL. Mobilna faza sastojala se od 5 mM amonijevog formata i čistog acetonitrila pri brzini protoka od 0,3 mL tijekom jedne minute. Temperatura desolvatacije bila je 320 °C, a protok plina desolvatacije i kapilarni napon postavljeni su na 10 L po minuti, odnosno 4000 V. Tvari su ionizirane s ESI pomoću MRM-a u načinu pozitivne ionizacije. Primijenjena je gradijentna elucija s 95% vodenom mobilnom fazom koja je početno držana 1 minutu, smanjena na nulu za 30 minuta i držana 3 minute, zatim povećana na 95% i držana tijekom sedam minuta.

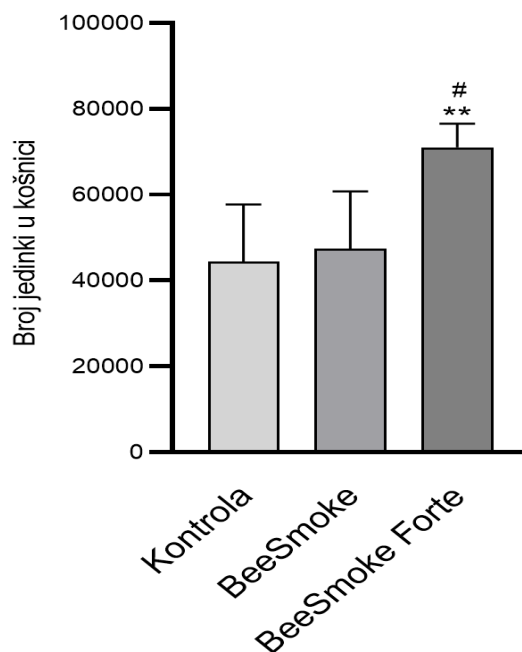
### 3.8. Statistička obrada i prikazivanje podataka

Rezultati procjene jačine pčelinjih zajednica, te mjerenja učinkovitosti dima različitih goriva primjenom dimilice na opadanje grinja *V. destructor* obrađeni su korištenjem računalnih programa Microsoft Excel i GraphPad Prism 8. Nakon obrade su u svrhu razumljivog prikazivanja grafički obrađeni u programu GraphPad Prism 8. Ponašajne osobine pčelinjih zajednica su prikazane u tablicama, a rezultati analitičkih pretraživanja uzoraka meda opisno.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Jačina pčelinjih zajednica

Na Slici 9 prikazana je procijenjena jačina pčelinjih zajednica za pokusne i kontrolnu skupinu. Iz grafičkog prikaza vidljivo je da su pčelinje zajednice u pokusnoj skupini zajednica koje su bile tretirane dimom komercijalno dostupnih peleta BeeSmoke Forte (\*\*p < 0,05) procijenjene kao najjače, a najslabije pčelinje zajednice nalaze se u skupini zajednica koje su je služila kao kontrolna skupina. Pri tome utvrđena je statistički značajna razlika u usporedbi s kontrolnom skupinom (\*\*p < 0,05), te s pokusnom skupinom BeeSmoke (#p < 0,5). Pčelinje zajednice koje su bile tretirane dimom peleta BeeSmoke neznačajno su jače u usporedbi s kontrolnom skupinom.



Slika 9. Prikaz procijenjene jačine pčelinjih zajednica za pokusne i kontrolnu skupinu pčelinjih zajednica; (\*\*p < 0,05; #p < 0,5).

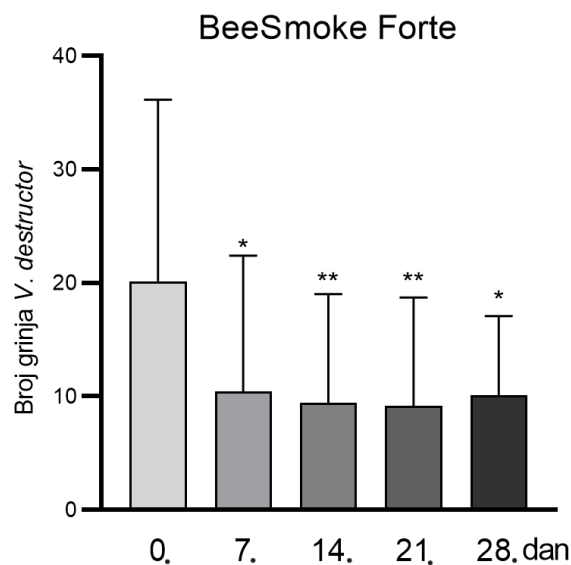
#### 4.2. Ponašajne osobitosti zajednica

Tijekom dimljenja pčelinjih zajednica s peletama BeeSmoke i BeeSmoke Forte procijenjeno je ponašanje pčelinjih zajednica sukladno opisima u Tablicama 1. i 2. Pri tome je agresivnost svih pčelinjih zajednica procijenjena brojčanom vrijednosti 2 koja opisuje da se pčele mirno kreću po saću, poneke polijeću i ne napadaju. Kontrolna skupina pokazala je jednake rezultate.

Mirnoća pčelinjih zajednica u svim promatranim skupinama pčelinjih zajednica ocijenjena je brojčanom vrijednosti 2 koja opisuje da se pčele ubrzano kreću po saću.

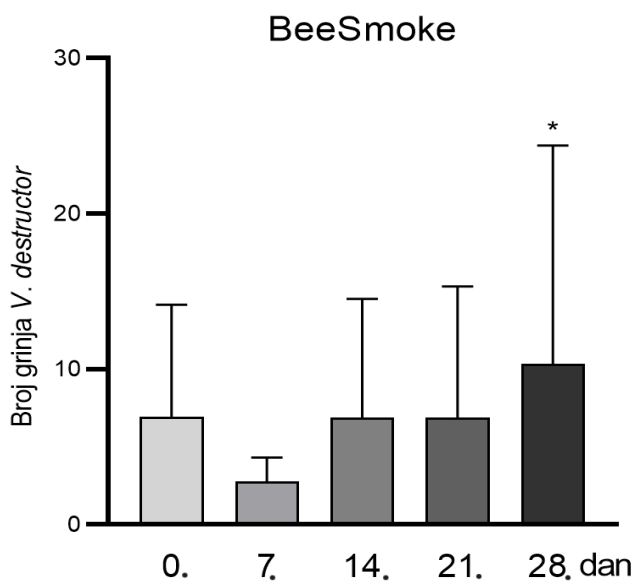
#### 4.3. Učinkovitost na otpadanje grinja *V. destructor*

Na Slici 10 grafički je prikazan broj grinja *V. destructor* izbrojanih na podloškama podnica košnica nakon korištenja peleta BeeSmoke Forte u dimilici kod rukovanja pčelinjim zajednicama. Iz grafičkog prikaza vidljivo je da je nakon prve primjene dimilice kod pčelinjih zajednica izbrojano najviše grinja *V. destructor*. Nakon prvog tretiranja broj izbrojanih grinja se smanjivao.

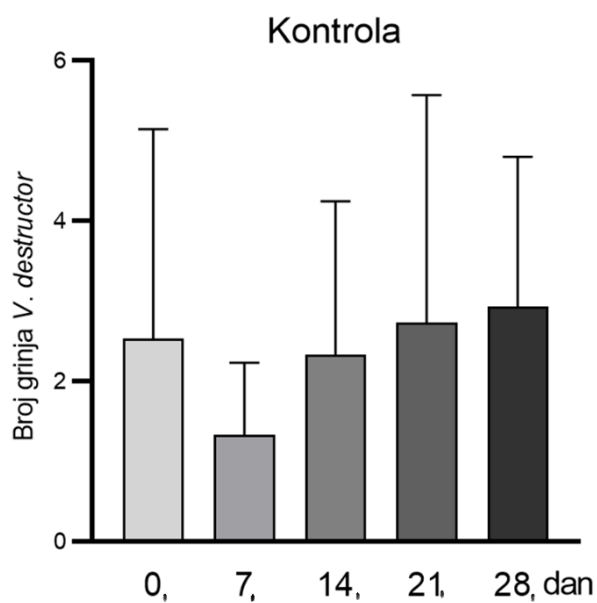


Slika 10. Broj grinja *V. destructor* izbrojan na podloškama podnica košnica nakon primjene goriva BeeSmoke Forte u dimilici.

Na Slici 11 grafički je prikaz broja grinja *V. destructor* izbrojanih na podloškama podnica košnica nakon primjene peleta BeeSmoke u dimilici. Najviše izbrojanih grinja bilo je nakon pete primjene.



Slika 11. Broj grinja *V. destructor* izbrojan na podloškama podnica košnica nakon primjene goriva BeeSmoke u dimilici.



Slika 12. Broj grinja *V. destructor* izbrojan na podloškama podnica košnica u kontrolnoj skupini pčelinjih zajednica.



Slika 12 grafički je prikaz broja grinja *V. destructor* izbrojanih na podloškama podnica košnica kod kontrolne skupine. Najviše grinja izbrojano je nakon pete primjene dimilice, a najniže vrijednosti zabilježene su nakon druge primjene.

Na Slici 13 prikazani su klimatološki elementi izmjerenu u postaji Bednja za razdoblje od 1. srpnja 2021. do 1. kolovoza 2021. U tom razdoblju proveden je eksperimentalni dio istraživanja na pčelinjaku. Na slici su zelenom bojom označeni dani kada je pri rukovanju pčelinjim zajednicama primjenjivana dimilica.

Klimatološki elementi za postaju Bednja za razdoblje od 2021-07-01 do 2021-08-01																
	Temperatura zraka (°C)			Relativna vlažnost (%)			Smjer vjetrova			Jačina vjetrova (bof)			Naoblaka (1/10)			Količina dnevna (mm)
	07h	14h	21h	07h	14h	21h	07h	14h	21h	07h	14h	21h	07h	14h	21h	
2021-07-01	17,5	17,8	14,7	80	80	98	NE	NE	WSW	1	3	1	8	9	10	0,0
2021-07-02	15,0	25,0	16,7	96	49	87	WSW	N	E	1	2	1	9	8	9	9,0
2021-07-03	16,4	26,4	18,0	85	44	84	WSW	WSW	E	1	3	1	3	3	4	
2021-07-04	18,6	24,1	19,8	86	63	77	WSW	NNE	NE	1	3	1	10	8	9	
2021-07-05	17,8	23,3	18,3	95	67	93	SSW	NE	WNW	1	2	1	10	7	1	31,2
2021-07-06	18,1	29,7	22,1	92	48	80	W	SSW	N	1	2	1	0	0	0	0,0
2021-07-07	25,4	33,3	22,2	63	44	83	WSW	WSW	SSW	2	3	1	0	0	0	
2021-07-08	21,8	33,5	23,7	85	47	83	S	WSW	SE	1	3	1	0	3	3	
2021-07-09	24,7	31,2	22,3	73	36	62	ESE	SE	ENE	1	1	2	0	1	0	
2021-07-10	19,7	27,2	19,0	67	49	83	NE	ESE	NW	2	3	1	8	0	4	
2021-07-11	20,2	23,5	20,8	78	74	82	W	ESE	NW	1	2	2	4	10	10	
2021-07-12	22,1	27,2	21,8	85	61	84	SE	SSW	NW	1	2	1	7	1	0	13,3
2021-07-13	23,6	32,4	23,7	71	38	85	WSW	S	W	2	3	1	0	0	7	
2021-07-14	19,8	25,6	15,9	95	63	94	E	SSW	W	1	3	1	9	4	2	4,8
2021-07-15	16,1	26,0	18,3	95	43	86	W	S	W	1	2	1	2	9	4	11,2
2021-07-16	17,4	26,6	19,0	88	54	93	SW	NE	NW	1	3	1	8	8	10	0,1
2021-07-17	20,1	23,0	21,4	92	75	82	NE	W	N	3	3	2	10	9	10	31,2
2021-07-18	18,9	21,7	22,2	92	84	70	NE	NE	NE	1	2	2	10	10	7	1,2
2021-07-19	22,0	25,8	18,1	70	52	85	NNW	ENE	NE	1	4	2	9	6	3	6,4
2021-07-20	21,4	25,3	17,2	73	54	91	E	ESE	WSW	2	2	1	6	7	2	
2021-07-21	17,3	25,0	15,7	85	49	88	SW	SE	E	1	1	1	1	1	1	0,1
2021-07-22	15,4	26,9	17,3	89	45	91	ESE	SSW	W	2	2	1	3	3	2	
2021-07-23	16,4	27,3	17,4	93	48	91	WSW	SE	SE	1	2	1	2	7	0	
2021-07-24	16,7	28,9	26,2	95	48	60	WSW	SSW	SSE	1	3	4	0	2	3	1,3
2021-07-25	20,7	31,0	20,1	87	48	84	W	SW	SE	1	3	1	3	6	2	
2021-07-26	19,8	29,7	20,4	88	47	85	W	S	WNW	1	3	1	2	7	8	
2021-07-27	23,7	28,0	22,5	71	61	83	S	SSW	WNW	1	3	1	4	8	4	
2021-07-28	21,0	31,8	23,3	80	43	71	SW	SSW	W	1	3	1	2	2	1	
2021-07-29	21,8	29,4	21,1	75	45	86	N	SE	SSE	1	2	1	0	0	0	
2021-07-30	22,8	31,9	22,7	75	43	87	S	NNW	NW	2	3	1	1	1	6	
2021-07-31	19,5	25,8	19,9	95	65	90	SE	ENE	ENE	1	2	1	0	1	0	17,2
2021-08-01	19,9	24,2	17,5	91	82	96	W	W	W	2	3	1	6	9	2	8,5

Slika 13. Klimatološki elementi izmjereni u postaji Bednja za razdoblje 1. srpnja 2021. do 1. kolovoza 2021.

#### 4.4. Rezidue pesticida u medu

Uzorci meda su analizirani na prisutnost ukupno 151 pesticida. U uzorku meda uzetom prije eksperimentalne primjene dimilice utvrđeno je 10,1 µg/kg kumafosa, a nakon zadnje primjene 13,4 µg/kg kumafosa. Dozvoljena je najveća dopuštena koncentracija 100 µg/kg.

## 5. RASPRAVA

Dimilica je uobičajeni pčelarski alat koji se redovito koristi pri radu s pčelinjim zajednicama kako bi ih dim umirio, smanjio mogućnost uboda žalcem i olakšao posao pčelaru. U svakodnevnom pčelarenju koriste se različiti materijali kao gorivo za dimilicu. Danas na slobodnom tržištu nudi se i niz komercijalnih goriva s nizom preporučenih prednosti uporabe u usporedbi s tradicionalno korištenim gorivima. Stoga smo tijekom aktivne pčelarske sezone proveli praćenje učinka dva inovativna goriva na jačinu i ponašanje pčelinjih zajednica, opadanje nametničkih grinja te sigurnost meda u vidu određivanja rezidua pesticida. U ovom istraživanju praćene su pčelinje zajednice (15), podijeljene u 2 pokusne i jednu kontrolnu skupinu. Pri tome, za prvu skupinu pčelinjih zajednica korišteno je inovativno peletirano gorivo za dimilicu BeeSmoke Forte, a za drugu skupinu pčelinjih zajednica BeeSmoke. Treća skupina pčelinjih zajednica služila je kao kontrolna skupina za dimljenje koje je korišteno obično drveno peletirano gorivo.

Naime, pčelinja zajednica evolucijski je razvila koordiniranu obranu od pčela tuđica i drugih uljeza u svrhu preživljavanja (KUSZEWSKA i WOYCIECHOWSKI, 2014.; NOUVIAN i sur., 2016.). U okviru provedbe biološko-tehnoloških radnji pčelari svakodnevno koriste dim kako bi smanjili mogućnost uboda. Pri tome dim je opisan kao uništavatelj uobičajenih obrambenih ponašajnih obrazaca kod pčela (GRAHAM, 1992; LOMELE i sur., 2010.).

O utjecaju primjene različitih goriva za dimilicu, a u svrhu opisivanja mehanizma njegova djelovanja na pojedinačne pčele u laboratorijski kontroliranim uvjetima izvjestili su GAGE i suradnici (2018.). Prema njihovim rezultatima dim ne utječe na vjerojatnost izvlačenja žalca, ali smanjuje mogućnost ispuštanja kapljice pčelinjeg otrova iz žalčanog aparata. Smatra se da kapljica otrova na pčelinjem zatku podudara s njihovom pojedinačnom uznemirenošću dok dim smanjuje vjerojatnost njenog izlučivanja. Sukladno tome rezultati ovoga istraživanja vezani na ponašanje zajednica su slični, odnosno nije bilo značajne razlike u ponašanju pokusnih i kontrolnih skupina pčelinjih zajednica. Drugim riječima dim je bez obzira na vrstu goriva u dimilici uzrokovao smanjeno ispuštanje alarmnog feromona.

U svakoj pčelinoj zajednici procijenjena je jačina zajednica te je ustanovljeno da je najjača skupina bila ona tretirana dimom BeeSmoke Forte peletiranim gorivom, zatim skupina BeeSmoke peletiranim gorivom, a najslabija skupina bila je kontrolna skupina.

Biljke imaju razvijene brojne obrambene mehanizme protiv nametnika i štetnika. Primjerice biljke izlučuju sekundarne metabolite koji djeluju kao repelenti, kao tvari koje odvrću od hranjenja, antimetabolite ili pak u vlastitim tkivima sadrže insekticidne sastavnice (LILL i MARQUIS, 2001., TLAK GAJGER i DAR, 2020.). Stoga se smatra da prisustvo sekundarnih metabolita u biljkama koje služe kao gorivo za dimilicu može polučiti pozitivan ili pak negativan učinak na pčelinje zajednice. Primjerice, EISCHEN i VERGARA (2004.) su pretraživali utjecaj niza hlapljivih tvari u dimu različitih biljka, a kao utjecaj na preživljavanje pčela i na nametnika *Acarapis woodi*. Pokuse su provodili u laboratorijski kontroliranim uvjetima u inkubatorima, a tretman je trajao kontinuirano 20 minuta. Pri tome niti jedno od primijenjenih goriva za dimilicu nije uzrokovalo ugibanje pčela, a oporavile su se tijekom nekoliko minuta.

Budući je ELZEN i suradnici (2021.) objavio da dim nekih prirodnih proizvoda imaju negativni učinak na nametničku grinju *V. destructor*, jedan od ciljeva ovoga istraživanja bio je ispitati akaricidni učinak goriva BeeSmoke Forte i BeeSmoke, a u usporedbi s dimom drvenih peleta. Promatranjem i brojanjem otpalih grinja *V. destructor* na antivaroznim podloškama podnica košnica nakon primjene dimilice, utvrđeno je da je najveći broj otpalih grinja bio u skupini koja je tretirana inovativnim gorivom BeeSmoke Forte, zatim u skupini tretiranoj BeeSmoke, a najmanje u kontrolnoj skupini pčelinjih zajednica. Prosječan broj otpalih grinja *V. destructor* u skupini tretiranoj BeeSmoke Forte peletiranim gorivom iznosila je ukupno 232,4 grinje; BeeSmoke peletiranim gorivom 113,2 grinje, a u kontrolnoj skupini ukupno 38,6 grinje. U dostupnoj literaturi kao alternativni načini primjene goriva za dimilicu spominju se materijal juta (GAGE i sur., 2018.) i ženski cvjetovi hmelja (VAN CLEEMPUT i sur., 2009.). Za dim dobiven od listova duhana ili složenijih goriva koji sadrže nikotin pčelari nisu htjeli koristiti kao gorivo za dimilicu te ukazuju na oprez budući da omamljujuće djelovanje može dovesti do povraćanja ili čak ugibanja pčelinje zajednice gušenjem, a što je posebice opasno ljeti (COOK i GRIFFITHS, 1985.; GAGE i sur., 2018.).

Također, iz svake košnice uzet je uzorak 250 do 300 pčela radilica, prije tretmana dimilicom te nakon izvedenog eksperimentalnog istraživanja, za laboratorijsku dijagnostiku postupka utvrđivanja prisutnosti i morfološku identifikaciju nametnika *V. destructor*. U prvoj pokusnoj skupini tretiranoj BeeSmoke Forte peletiranim gorivom prije tretiranja pretraživanjem je utvrđena prisutnost ukupno 11,8 grinja, a nakon tretiranja 12,8. U drugoj skupini pčelinjih zajednica nakon primjene BeeSmoke peletiranog goriva prije tretiranja prosječan broj nametnika *V. destructor* bio je 7,0, a nakon tretiranja 18,8. U kontrolnoj skupini prije tretiranja

prosječan broj utvrđenih nametnika *V. destructor* iznosio je 5,8, a nakon tretiranja 14,2. Iz ovih podataka vidljivo je da je razina invadiranosti zajednica grinjom *V. destructor* u sve tri skupine pčelinjih zajednica bila varijabilna. Međutim, iz rezultata brojenja otpalih grinja nakon aplikacije dima pojedine vrste goriva, vidljivo je da je najveći utjecaj na otpadanje grinja pokazao dim BeeSmoke Forte peletiranog goriva, manji dim BeeSmoke goriva, a najmanji dim čistih drvenih peleta.

Iako u ovom istraživanju nisu uočeni negativni učinci na pčele i njihovo ponašanje, a korištena goriva za dimilicu možda sadrže neidentificirane ili nepoznate sastojke s varoocidnim djelovanjem, potrebno je uz opisano preliminarno provesti dodatna istraživanja o mogućim mehanizmima djelovanja protiv grinje *V. destructor*.

Tretiranje svih pčelinjih zajednica odvijalo se u ranim jutarnjim satima u prosjeku oko 7 sati ujutro i na prosječnoj temperaturi oko 17 °C. Tretiranje se odvijalo u pet navrata, od kojih je u četiri u vrijeme tretiranja bilo kišovito vrijeme. Ovaj podatak važan je iz razloga jer su u košnici tada bile uglavnom sve pčele. Podaci o meteorološko-klimatskim prilikama u vrijeme istraživanja prikazani su na Slici 13.

Pretragom zrelog meda prije i nakon tretiranja dimilicom, metodom GC-MS/MS i LC-MS/MS, analiziran je ukupno 151 pesticid te su rezultati bili negativni na njihovu prisutnost. Utvrđene su niske koncentracije kumafosa, i prije i nakon tretiranja, no njih se može povezati s primjenom biosigurnosnih mjera kontroliranja varooze tekuće i prethodnih godina VMP-om CheckMite+. Također, utvrđena koncentracija kumafosa ne prelazi dopuštene koncentracije u Europskoj uniji, te med izvrčan iz košnica tretiranih navedenim peletiranim gorivima za vrijeme aktivne pčelarske sezone nije štetan za zdravlje pčela niti ljudi.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Prilikom primjene dima zapaljenih goriva (BeeSmoke Forte, BeeSmoke i drvenih peleta) iz dimilice u košnice, na pčelinjim zajednicama nisu uočene promjene uobičajenog ponašanja niti ugibanja pčela.
2. Zapaženo je pozitivno djelovanje primijenjenih peletiranih goriva za dimilicu na ponašajne osobitosti pčelinje zajednice.
3. BeeSmoke Forte i BeeSmoke peletirana goriva pokazuju učinkovitost na otpadanje nametničke grinje *V. destructor*.
4. Upotreba BeeSmoke peletiranog goriva za dimilicu tijekom aktivne pčelarske sezone ne utječe na kvalitetu i sigurnost proizvedenog meda.
5. Konzumacija meda skupljenog tijekom aktivne pčelarske sezone u kojoj su korištena BeeSmoke Forte i BeeSmoke peletirana goriva za dimilicu nije štetan za zdravlje ljudi.

## 7. LITERATURA

1. ALAUX, C., G. E. ROBINSON (2007): Alarm pheromone induces immediate-early gene expression and slow behavioral response in honey bees. *J Chem Ecol.* 33, 7, 1346–1350. doi:10.1007/s10886-007-9301-6.
2. ANDERSEN, A. N., B. D. HOFFMANN, W. J. MÜLLER, A. D. GRIFFITHS (2002): Using ants as bioindicators in land management: Simplifying assessment of ant community responses. *J Appl Ecol* 39, 1, 8–17. doi:10.1046/j.1365-2664.2002.00704.
3. BREED, M. D., E. GUZMAN-NOVOA, G. J. HUNT (2004): Defensive behavior of honey bees: organization, genetics, and comparisons with other bees. *Ann Rev Entomol.* 49, 271–298. doi:10.1146/annurev.ento.49.061802.123155.
4. CARR, J. (2016): *Managing bee health: A practical guide for beekeepers.* 5m Publishing LTD. Sheffield. UK.
5. CONNOR, L. J. (2008): *Bee sex essentials.* Wicwas Press. Kalamazzo. Michigan.
6. COOK, V. A., D. A. GRIFFITHS (1985): *Varroasis of bees: tobacco smoke detection,* Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Great Britain, Pam. 936, 2.
7. DAVIS, C. F. (2011): *The Honey Bee Inside Out.* Bee Craft Limited. Great Britain, 18-122.
8. DELAPLANE, K. S., J. STEEN, E. GUZMAN (2013): Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *J Apicul Res.* 52, 1. doi: 10.3896/IBRA.1.52.1.03.
9. EISCHEN, F., C. VERGARA (2004): Natural products smoke and its effect on *Acarapis woodi* and honey bees. *Apidologie* 35, 341-349. doi: 10.1051/apido:2004026.
10. ELZEN, P. J., R. D. STIPANOVIC, R. RIVERA (2001): Activity of two preparations of natural smoke products on the behavior of *Varroa jacobsoni* Oud. *Am. Bee J.* 141, 289-291.

11. GAGE, L. S., F. AHUMADA, A. RIVERA, H. GRAHAM, G. DEGRANDI-HOFFMAN (2018): Smoke Conditions Affect the Release of the Venom Droplet Accompanying Sting Extension in Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *J Insect Sci.* 18, 4 - 7. doi: 10.1093/jisesa/iey073.
12. GRAHAM, J. M. (1992): *The hive and the honey bee*. Dadant and Sons, Hamilton, IL.
13. HUNT, G. J. (2007): Flight and fight: a comparative view of the neurophysiology and genetics of honey bee defensive behavior. *J Insect Physiol.* 53, 399–410. doi: 10.1016/j.jinsphys.2007.01.010.
14. KANE, T. R., C. M. FAUX (2021): *Honey Bee Medicine for the Veterinary Practitioner*. John Wiley & Sons. Hoboken. USA.
15. KOVAČIĆ, M. (2018): Utjecaj selekcije na osobine medonosne pčele (*Apis mellifera carnica*) na području Hrvatske. Doktorska disertacija. Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Osijek, Hrvatska.
16. KUSZEWSKA, K., M. WOYCIECHOWSKI (2014): Risky robbing is a job for short-lived and infected worker honeybees. *Apidologie* 45, 537–544. doi: 10.1007/s13592-014-0267-4.
17. LILL, J. T., R. MARQUIS (2001): The effects of leaf quality on herbivore performance and attack from natural enemies. *Oecologia* 126, 418-428. doi: 10.1007/s004420000557.
18. LOMELE, R. L., A. EVANGELISTA, M. M. ITO, E. H. ITO, S. M. A. GOMES, R. O. ORSI (2010): Produtos naturais no comportamento defensivo de *Apis mellifera* L. *Acta Scientiarum. Anim Sci* 32, 285-291. doi: 10.4025/actascianimsci.v32i3.8486.
19. NIÑO, E., O. MALKA, A. HEFETZ, D. R. TARPY, C. M. GROZINGER (2013): Chemical Profiles of Two Pheromone Glands Are Differentially Regulated by Distinct Mating Factors in Honey Bee Queens (*Apis mellifera* L.). *PLoS ONE* 8, 11: e78637. doi: 10.1371/journal.pone.0078637.
20. NOUVIAN, M., J. REINHARD, M. GIURFA (2016): The defensive response of the honeybee *Apis mellifera*. *J Exp Biol.* 219, 3505-3517. doi: 10.1242/jeb.143016.
21. SIEFERT, P., N. BULING, B. GRÜNEWALD (2021): Honey bee behaviors within the hive: Insights from long-term video analysis. *s. PLoS ONE* 16, 3: e0247323. doi.org/10.1371/journal.

22. STELL, I. (2012): Understanding bee anatomy. The Catford Press. UK.
23. TAUTZ, J. (2008): The Buzz about Bees – Biology of a Superorganism. Springer Verlag. Berlin. Germany, 1-284.
24. TLAK GAJGER, I., A. M. MAÑES, G. FORMATO, M. MORTARINO, J. TOPORCAK (2021): Veterinarians and beekeeping: What roles, expectations and future perspectives? - a review paper. Vet. arhiv 91, 437-443. doi: 10.24099/vet.arhiv.1444.
25. TLAK GAJGER, I., S. A. DAR (2021): Plant Allelochemicals as Sources of Insecticides. Insects. 12, 189. doi: 10.3390/insects12030189.
26. TLAK-GAJGER, I. (2019): Bolesti pčela u suvremenoj proizvodnji. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
27. TOMAŠEC, I. (1949): Biologija Pčela. Nakladnik zavod Hrvatske, Zagreb.
28. VAN CLEEMPUT, M., K. CATTOOR, K. DE BOSSCHER, G. HAEGEMAN, D. DE KEUKELEIRE, A. HEYERICK (2009): Hop (*Humulus lupulus*)-derived bitter acids as multipotent bioactive compounds. J Nat Prod. 72, 1220-30. doi: 10.1021/np800740m.
29. VIDAL-NAQUET, N. (2015): Honeybee Veterinary Medicine: *Apis mellifera* L. 5m Publishing Benchmark House, Sheffield, UK.
30. WEGENER, J., H. RUHNKE, K. SCHELLER, S. MISPAGEL, U. KNOLLMANN, G. KAMP, K. BIENEFELD (2016): Pathogenesis of varroosis at the level of the honey bee (*Apis mellifera*) colony. J Insect Physiol, 91-92,1-9. doi: 10.1016/j.jinsphys.2016.06.004.



## 8. SAŽETAK

### Primjena BeeSmoke peletiranog goriva za dimilicu tijekom aktivne pčelarske sezone

Ivana Dukarić

Kao inovativni pristup održivom pčelarstvu u svakodnevni rad na pčelinjaku može se dodati komercijalno dostupna peletirana goriva za dimilicu BeeSmoke Forte i BeeSmoke. Istraživanjem učinkovitosti navedenih goriva bilo je obuhvaćeno određivanje jačine pčelinjih zajednica, ponašajne osobitosti pčelinjih zajednica, učinkovitost primjene na otpadanje nametničke grinje *V. destructor*, te analizu na kvantifikaciju rezidua insekticida/akaricida u medu. Prilikom primjene dima zapaljenih goriva (BeeSmoke Forte, BeeSmoke i drvenih peleta) iz dimilice u košnice, na pčelinjim zajednicama nisu uočene promjene uobičajenog ponašanja niti ugibanja pčela. Utvrđeno je učinkovito djelovanje BeeSmoke Forte i BeeSmoke peletiranog goriva na otpadanje nametničke grinje *V. destructor*. Analiziran je zreli med prije i nakon primjene dimilice iz pčelinjih zajednica na prisutnost insekticida / akaricida, rezultati kojih su bili negativni, a što potvrđuje da je med sakupljen tijekom aktivne pčelarske sezone u kojoj su primijenjena istraživana peletirana goriva siguran kao hrana za pčele i ljude.

Ključne riječi: zajednice medonosne pčele, peletirana goriva za dimilicu, pčelarenje, *Varroa destructor*

## 9. SUMMARY

Using BeeSmoke pellet fuel for smokers during active beekeeping season

Ivana Dukarić

An innovative and sustainable approach to beekeeping involves using commercially available pellet fuels, such as BeeSmoke Forte and BeeSmoke, for daily work in the apiary. A study was conducted to determine the effectiveness of these fuels, including their impact on the strength and behavior of honeybee colonies, their ability to reduce the number of parasitic mites *V. destructor*, and the presence of insecticide/acaricide residues in honey. During the study, the smoke produced by burning BeeSmoke Forte, BeeSmoke, and wood pellets in a smoker did not cause any changes in the honeybees' behavior or lead to their death. The study also found that BeeSmoke Forte and BeeSmoke were effective in reducing the number of the mites *V. destructor*. Furthermore, the study analyzed the honey collected before and after using pellet fuels for the presence of insecticide/acaricide residues. The results were negative, indicating that the honey collected during the active beekeeping season when these fuels were used, is safe to consume for bees and humans.

Keywords: honeybee colonies, pellet fuels for smoker, beekeeping, *Varroa destructor*

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 28. svibnja 1998. godine u Varaždinu. Odrasla sam u Višnjici, malom mjestu grada Lepoglave, uz dva brata i sestru blizanku. Osnovnu školu Izidora Poljaka Višnjica završila sam s odličnim uspjehom. Uz osnovnu školu svirala sam u ženskom tamburaškom bendu „Višnjice“. Godine 2013. upisala sam opću gimnaziju Srednja škola Ivanec u Ivancu. Tijekom srednjoškolskih dana volontirala sam u staračkom domu „Sv. Ivan Krstitelj“. Godine 2015. završila sam večernju školu pčelarstva u Ivancu.

Godine 2017. upisujem Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Upisavši fakultet, krenula sam se baviti jahanjem na hipodromu u Zagrebu. Tijekom dvije godine bavljenja sportom položila sam jahačku dozvolu te licencu za dresurno jahanje.

Za vrijeme studiranja demonstrirala sam na Zavodu za kemiju i biokemiju gdje sam provela dvije akademske godine te sam od akademske godine 2021./2022. demonstrator i volonter na Zavodu za biologiju i patologiju riba i pčela. Tijekom studija volontirala sam u veterinarskoj ambulanti „Best Friend“ u Zagrebu tijekom 2018. godine, te u Veterinarskoj ambulanti Lepoglava tijekom 2019. godine. Tijekom akademske godine 2019./2020. volontirala sam na filatelističkoj izložbi koju je predvodio prof. dr. sc. Capak u sklopu stote obljetnice fakulteta.

Prisustvovala sam i sudjelovala u projektu „Plavi projekt“ pod vodstvom prof. dr. sc. Martine Đuras. Sudjelovala sam u izradi i postavljanju Edukativno-arhivske postaje za pčelarstvo. Dvije godine sudjelovala sam u organizaciji znanstveno-stručnog skupa „Noć muzeja“.

2022. godine dobitnica sam Rektorove nagrade u interdisciplinarnom području znanosti za projekt *Studentski zdravi dani*.

U akademskoj godini 2022./2023. dva mjeseca boravila sam u Sloveniji u sklopu Erasmus + stručne prakse na Veterinarskom fakultetu u Ljubljani na Zavodu za patologiju, divljač, ribe i pčele.

Erasmus studentska mreža Hrvatska u suradnji s Agencijom za mobilnost i programe EU odabrala me kao prvoplasiranu na nagradnom natječaju „Erasmus+Skills4Life“.

## 11. DODATAK

Popis analiza pretraživanih u uzorcima meda prije i poslije primjene dima različitih goriva za dimilicu

Acetamiprid
Aldrin
Allethrin
Amitraz
Azinphos-ethyl
Azinphos-methyl
Azoxystrobin
Benfuracarb
Benzovindiflupir
Bifenthrin
Biksafen
Boskalid
Bromophos-ethyl
Cadusafos
Carbaryl
Carbendazim
Carbetamide
Carbofuran
Carbofuran-3-hidroxy
Carbophenthion
Carbosulfan
Chlorbenzilate
Chlordane, cis
Chlordane, trans
Chlorfenvinphos
Chlorpyrifos
Chlorpyrifos-methyl

Ciprokonazol
Clothiandidin
Coumafos
Cyfluthrin
Cymiazol
Cypermethrin
DDD-p,p
DDE-p,p
DDT-o,p
DDT-p,p
Deltamethrin
Diazinon
Dichlorvos
Difenoconazole
Diledrin
Dimethoate
Dimethomorph
Dimoxystrobin
Disulfoton
Disulfoton-sulfone
DMF N-(2,4 dimethylphenyl)formamid
DMPF N-(2,4 dimethylphenyl)-N`-methyl - formamidin
Endosulfan, alpha
Endosulfan, beta
Endosulfansulfate
Endrin
Epoksikonazol
Ethion
Etofenproks
Etoprofos

Famoksadon
Famoxadone
Fenchlorphos
Fenhexamid
Fenitrothion
Fenpirazamin
Fenpropathrin
Fenpropidin
Fenpropimorf
Fensulfothion
Fenthion
Fenthion-oxon
Fenthion-oxon-sulfone
Fenthion-oxon-sulfoxide
Fenthion-sulfone
Fenthion-sulfoxide
Fention
Fention okson sulfoksid
Fenvalerate
Flauvalinate, tau
Flukuinkonazol
Fluopiram
Fluopiram benzamid
Flusilazol
Flutriafol
Foksim
Fosmet
Furathiocarb
HCH, Alpha
HCH, Beta
HCH, Gamma (Lindan)

Heptachlor
Heptachlorepoxyd, egzo
Heptachlorepoxyd, endo
Heptenophos
Hexachlorobenzene
Hexythiazox
Imazalil
Imidacloprid
Indoksakarb
Indoxacarb
Klorprofam
lamda-Cyhalothrin
Malaixon
Malathion
Mathidathion
Mathoxychlor
Metaflumizon
Methacrifos
Methiocarb
Methiocarb-sulfoxide
Mevinphos
Myclobutanil
Nitrofen
Ometoat
Oxychloridane
Paraoxon-methyl
Parathion-ethyl
Parathion-methyl
PCB 101
PCB 118
PCB 138

---

PCB 153
PCB 180
PCB 28
PCB 52
Pendimetalin
Penflufen
Pentachloroaniline
Pentiopirad
Permethrin
Phosalone
Pirimicarb
Pirimicarb-desmethyl
Pirimiphos-methyl
Profenofos
Prokloraz
Propargite
Propetamphos
Pyrazophos
Pyrimethanil
Quintozene
Resmethrin
Spinosad
Spiroksamin
Sulfoksaflor
Tebufenozide
Tebukonazol
Tecnazene
Terbufos
Terbutylazine
Tetrachlorvinphos
Tetrakonazol

---



---

Tetramethrin

---

Thiamethoxam

---

Thiophanate-methyl

---

Tiaklopid

---

Triazophos

---

Trichlorfon

---

Trifloxystrobin

---

Vinclozolin

---