Primjena akaricida na bazi timola pri tretiranju pčelinjih zajednica protiv varooze

Malogorski, Tatjana

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:039686

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

TATJANA MALOGORSKI

Primjena akaricida na bazi timola pri tretiranju pčelinjih zajednica protiv varooze

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela

PREDSTOJNICA:

Izv. prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger

MENTORICA:

Izv. prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

Prof. dr. sc. Srebrenka Nejedli

Dr. sc. Josipa Vlainić, Institut Ruđer Bošković

Izv. prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger

Izv. prof. dr. sc. Emil Gjurčević (zamjenski član)

Rad je izrađen na Zavodu za biologiju i patologiju riba i pčela Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

SADRŽAJ

1. UVOD **1**

2. PODACI IZ LITERATURE **4**

2.1. Taksonomija i zemljopisna rasprostranjenost varooze 4

2.2. Morfologija grinje *V. destructor* 6

2.3. Biološki ciklus grinje *V. destructor* 8

2.4. Dinamika rasta populacije *V. destructor* unutar pčelinje zajednice i širenje između zajednica 11

2.5. Klinička slika varooze 11

2.6. Dijagnostika varooze 13

2.6.1. Praćenje prirodnog dnevnog pada V. destructor 14

2.6.2. Otklapanje trutovskog legla 14

2.6.3. Primjena šećera u prahu u terenskim uvjetima 15

2.6.4. Višestruko ispiranje uzorka pčela u vodenoj otopini detergenta 15

2.6.5. Slanje pčela na laboratorijsku pretragu 16

2.7. Liječenje i kontroliranje varooze 16

2.7.1. Fizikalne metode u kontroli varooze 16

2.7.2. Biotehničke mjere u kontroli varooze 17

2.7.3. Primjena akaricida u kontroli varooze 17

3. MATERIJAL I METODE **21**

3.1. Smještaj pčelinjaka, tip košnica i okolišni uvjeti 21

3.2. Praćenje pada *V. destructor* na AV podnici 24

3.3. Određivanje jačine pčelinjih zajednica metodom po Liebefeldu 24

3.4. Meteorološki uvjeti 25

3.5. VMP – i na bazi timola primijenjeni u istraživanju 25

4. REZULTATI **26**

5. RASPRAVA **34**

7. POPIS LITERATURE 37
8. SAŽETAK 42
9. SUMMARY 43
10. ŽIVOTOPIS 44

Popis slika, grafova i tablica

Slika 1. Usporedni prikaz *V. jacobsoni*, *V. destructor*, *V. rindereri* i *V. underwoodi*.

Slika 2. Zemljopisna rasprostranjenost grinje *V. destructor*.

Slika 3 a, b. Spolno zreli mužjak i ženka *V. destructor*.

Slika 4. Životni ciklus grinje *V. destructor*.

Slika 5 a, b, c. Ženka *V. destructor* na pčelinjoj ličinki, kukuljici i odrasloj pčeli.

Slika 6. Invadirana pčela izobličenih krila.

Slika 7. AV podnica.

Slika 8 a, b, c. Thymovar, ApiLife Var, Apiguard.

Slika 9. Testni pčelinjak 1 (TP1), Sveti Križ Začretje.

Slika 10. Testni pčelinjak 2 (TP2), Popovac.

Slika 11. Testni pčelinjak 3 (TP3), Pazin.

Slika 12. Testni pčelinjak 4 (TP4), Mali Žitnik.

Slika13. Testni pčelinjak 5 (TP5), Vrlika.

Tablica 1. Prikaz prosječne vrijednosti procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici metodom po Liebefeldu na testnim pčelinjacima.

Tablica 2. Prikaz prosječnih vrijednosti temperature i relativne vlage zraka te učestalosti padalina tijekom aktivne pčelarske sezone 2014. godine za meteorološke postaje Krapina, Osijek, Pazin, Gospić i Sinj.

Grafikon 1. Prikaz prirodnog pada grinja *V. destructor* na testnim pčelinjacima u razdoblju pretretmana (01. lipnja – 15. srpnja 2014. godine).

Grafikon 2. Prikaz učinkovitosti primjene akaricida na bazi timola na TP1 tijekom aktivne pčelarske sezone.

Grafikon 3. Prikaz učinkovitosti primjene akaricida na bazi timola na TP2 tijekom aktivne pčelarske sezone.

Grafikon 4. Prikaz učinkovitosti primjene akaricida na bazi timola na TP3 tijekom aktivne pčelarske sezone.

Grafikon 5. Prikaz učinkovitosti primjene akaricida na bazi timola na TP4 tijekom aktivne pčelarske sezone.

Grafikon 6. Prikaz učinkovitosti primjene akaricida na bazi timola na TP5 tijekom aktivne pčelarske sezone.

Grafikon 7. Prikaz procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici metodom po Liebefeldu na TP1.

Grafikon 8. Prikaz procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici metodom po Liebefeldu na TP2.

Grafikon 9. Prikaz procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici metodom po Liebefeldu na TP3.

Grafikon 10. Prikaz procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici metodom po Liebefeldu na TP4.

Grafikon 11. Prikaz procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici metodom po Liebefeldu na TP5.

ZAHVALE

Zahvaljujem mentorici izv. prof. dr. sc. Ivani Tlak Gajger na pruženoj mogućnosti i pomoći pri izradi rada, kao i djelatnicima Zavoda za biologiju i patologiju riba i pčela na ukazanoj pomoći.

Također zahvaljujem obitelji, zaručniku i prijateljima na podršci tijekom studiranja.

1. UVOD

Varooza je nametnička bolest odraslih pčela i pčelinjeg legla uzrokovana hematofagnom grinjom *Varroa destructor*. Nametnik je prije pola stoljeća čovjekovom nepažnjom prenesen s izvornog domaćina azijske pčele (*Apis cerana*) na europsku medonosnu pčelu (*Apis melifera*) te predstavlja jednu od najvećih prijetnji suvremenom pčelarstvu. U Hrvatskoj je prvi puta prisutnost ove grinje utvrđena u uzorcima odraslih pčela i pčelinjeg legla porijeklom s otoka Visa 1978. godine (SULIMANOVIĆ, 1978.), a nakon kliničkih pregleda pčelinjih zajednica na tom području utvrđena je invazija na 90% pčelinjaka (PETRINEC i sur., 1979.). Ženke nametnika žive i hrane se na odraslim pčelama, a jajašca polažu uz pčelinje leglo. Svi razvojni oblici grinje, osim jajašca, sišu hemolimfu pčelinjim ličinkama, kukuljicama i odraslim pčelama, pa se promjene mogu utvrditi na pčelinjem leglu kao i na odraslim pčelama. Sišući hemolimfu odraslih pčela, ličinaka i kukuljica navedena grinja uzrokuje njihovu smanjenu otpornost i vitalnost (SHIMANUKI i KNOX, 1991.), a ponekad i uginuće jako invadiranih jedinki. *V. destructor* ima važnu ulogu pri pojavnosti i širenju uzročnika drugih bolesti pčela zbog imunodepresivnog učinka na staničnoj i *humoralnoj* razini imunosnog sustava invadirane pčele, te mogućnosti mehaničkog prijenosa uzročnika bolesti, poglavito virusa kojima služi kao mehanički i/ili biološki prijenosnik i rezervoar infekcije.

V. destructor je *novi* nametnik medonosne europske pčele koja nema razvijene učinkovite obrambene mehanizme, te posljedično tome izostaje uravnotežen odnos između nametnika i nosioca koji je vidljiv u zajednicama azijske pčele s razvijenim obrambenim mehanizmima pomoću kojih drže populaciju grinja unutar podnošljivih granica. Navedeni obrambeni mehanizmi azijske pčele se odnose na aktivno samočišćenje, grinjama *V. destructor* invadirano isključivo trutovsko leglo koje je prisutno samo u proljeće pa grinje ne mogu razviti populaciju koja bi ugrozila opstanak takvih pčelinjih zajednica (SULIMANOVIĆ i sur. 1995.).

Kako grinja *V. destructor* uzrokuje velike gubitke u pčelarstvu potrebno je kontrolirati jačinu invazije u pčelinjim zajednicama biotehničkim metodama, primjenom veterinarsko medicinskih proizvoda (VMP), organskih kiselina i/ili fizikalnih metoda. Uporaba akaricida je brža, jednostavnija i učinkovitija metoda od biotehničkih i fizikalnih mjera pa se i češće primjenjuje, no posljedično tome moguća je pojava rezistencije na višekratno primijenjene akaricide koje sadrže istu aktivnu tvar, kao i utvrđivanje štetnih ostataka tvari (rezidua) u pčelinjim proizvodima kod njihove uzastopne, višekratne i nepravilne primjene. Akaricide dijelimo na organske kiseline, kemijski sintetizirane spojeve i esencijalna ulja od kojih je glavni predstavnik timol. Sintetički akaricidi su većinom liposolubilne tvari pa zaostaju u vosku, te dugoročnom primjenom dovode do subletalnih učinaka na pčelinje zajednice (PETTIS i sur., 2004.). Osim toksičnog učinka na pčele i rezidua u pčelinjim proizvodima zbog kojih je smanjena njihova kakvoća, akaricidi kojima se suzbija varooza su najčešće i jaki otrovi koji predstavljaju opasnost od otrovanja pčelinje zajednice prilikom tretiranja ili pak za zdravlje pčelara.

U Republici Hrvatskoj trenutačno je važeći Nacionalni pčelarski program za razdoblje od 2014. do 2016. godine, te se sukladno tome programu svake godine donosi se Program za suzbijanje i kontroliranje varooze kao dio Naredbe o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju koji propisuje obvezno sustavno i istodobno prvo ljetno tretiranje pčelinjih zajednica protiv varooze u razdoblju od 1. srpnja do 31. kolovoza primjenom registriranih VMP-a. U 2016. godini na listi odobrenih i registriranih VMP-a su: Bayvarol, CheckMite, Apiguard, ApiLife Var i Thymovar. Prepoznavanje znakova bolesti, brza i točna dijagnostika i kvantifikacija nametničkih grinja u pojedinoj pčelinjoj zajednici, kao i praćenje dinamike invadiranosti grinjom *V. destructor* na nekom području je temelj za njezino suzbijanje. Početak tretiranja akaricidima na pojedinom području se određuje ovisno o završetku zadnje medonosne paše i vrcanja meda te se razlikuje ovisno o zemljopisnim, klimatskim i pašnim prilikama.

Obzirom da je prvo ljetno tretiranje pčelinjih zajednica propisano Programom o suzbijanju varooze koji je dio Naredbe, utvrđivanjem učinkovitosti tri trenutačno registrirana VMP-a na bazi timola (Apiguard, ApiLife Var i Thymovar) na pet testnih pčelinjaka u Hrvatskoj smještenih u Osijeku, Svetom Križu Začretju, Pazinu, Malom Žitniku i Vrliki) s različitim zemljopisno-klimatsko-pašnim prilikama omogućiti će preporuku o izboru VMP-a na pojedinom području te pravodobnost tretiranja pčelinjih zajednica. Tijekom aktivne pčelarske sezone 2014. godine provedeno je tretiranje pčelinjih zajednica spomenutim akaricidima, te su s podnica košnica višekratno skupljeni i pohranjeni uzorci otpalih grinja *V. destructor*.

Stoga je cilj istraživanja bio utvrditi broj otpalih grinja *V. destructor* u pohranjenim uzorcima uzetim prije i tijekom obveznog ljetnog tretiranja protiv varooze te izračunati ukupnu učinkovitost pojedinog akaricida na bazi timola. Također, usporediti će se učinkovitost pojedinog primijenjenog akaricida na svakom pčelinjaku, međusobno lokacije pčelinjaka te povezati s pašnim i klimatskim prilikama na svakoj.

2. PODACI IZ LITERATURE

2.1. Taksonomija i zemljopisna rasprostranjenost varooze

Grinja odgovorna za pojavu kliničkih znakova karakterističnih za varoozu europske medonosne pčele pripada vrsti *V. destructor* (ANDERSON i TRUEMAN, 2000.). Rod *Varroa* obuhvaća četiri poznate vrste obvezatno nametničkih grinja:

V. jacobsoni – opisana je kao nametnička grinja azijske pčele (*A. cerana*) prvi put utvrđena na Javi (OUDEMANS, 1904.; KOENIGER i sur., 1981.) i pčele *A. nigrocinta* u Indoneziji (ANDERSON i TRUEMAN, 2000.).

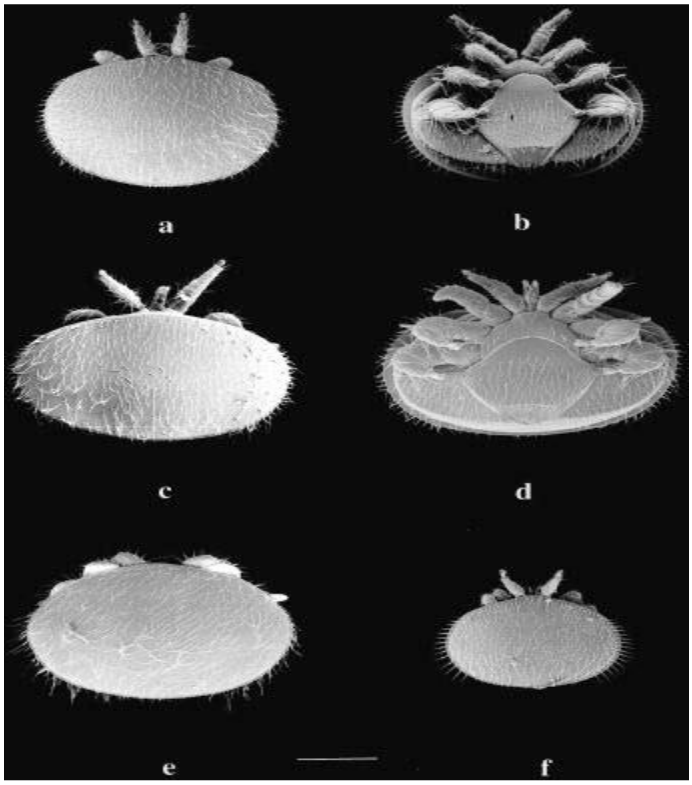
V. underwoodi – opisana je kao nametnička grinja azijske pčele u Nepalu (DELFINADO – BAKER i AGGARWAL, 1987.).

V. rindereri – opisana je kod *A. koschevnikovi* na Borneu (DE GUZMAN i DELFINADO – BAKER, 1996.).

V. destructor – opisana je i kod azijskih pčela (izvorni nosioc) i kod europske medonosne pčele (novi nosioc), a u prošlosti je bila pogrešno klasificirana kao *V. jacobsoni* (ANDERSON, 2000.; ANDERSON i TRUEMAN, 2000).

Grinje iz roda *Varroa* različitih populacija izgledaju morfološki jednako ili vrlo slično, ali njihova virulencija naspram europskoj medonosnoj pčeli nije jednaka. Vrsta koja se najviše razlikuje je *V. jacobsoni* (OUDEMANS, 1904.) koja se ne može razmnožavati na europskoj medonosnoj pčeli (ANDERSON i SUKARISH, 1996.), te se njena mitohondrijska DNK i citokrom oksidaza genske sekvence razlikuju od fenotipski sličnih grinja *V. destructor* koje imaju mogućnost razmnožavanja (DE GUZMAN i RINDERER, 1990.). Opisano je devet haplotipova *V. jacobsoni* (ANDERSON i TRUEMAN, 2000.; WARRIT i sur., 2006) koji parazitiraju na azijskoj pčeli, dok je na europskoj medonosnoj pčeli ta grinja samo sporadičan gost. *V. destructor* je *novo* utvrđena vrsta i predstavlja nametničke grinje japanskog, tajlandskog i vijetnamskog porijekla. Grinje korejskog haplotipa parazitiraju na europskoj medonosnoj pčeli diljem svijeta i značajno su veće (ANDERSON i TRUEMAN, 2000.), dok se manje virulentnim smatra japansko

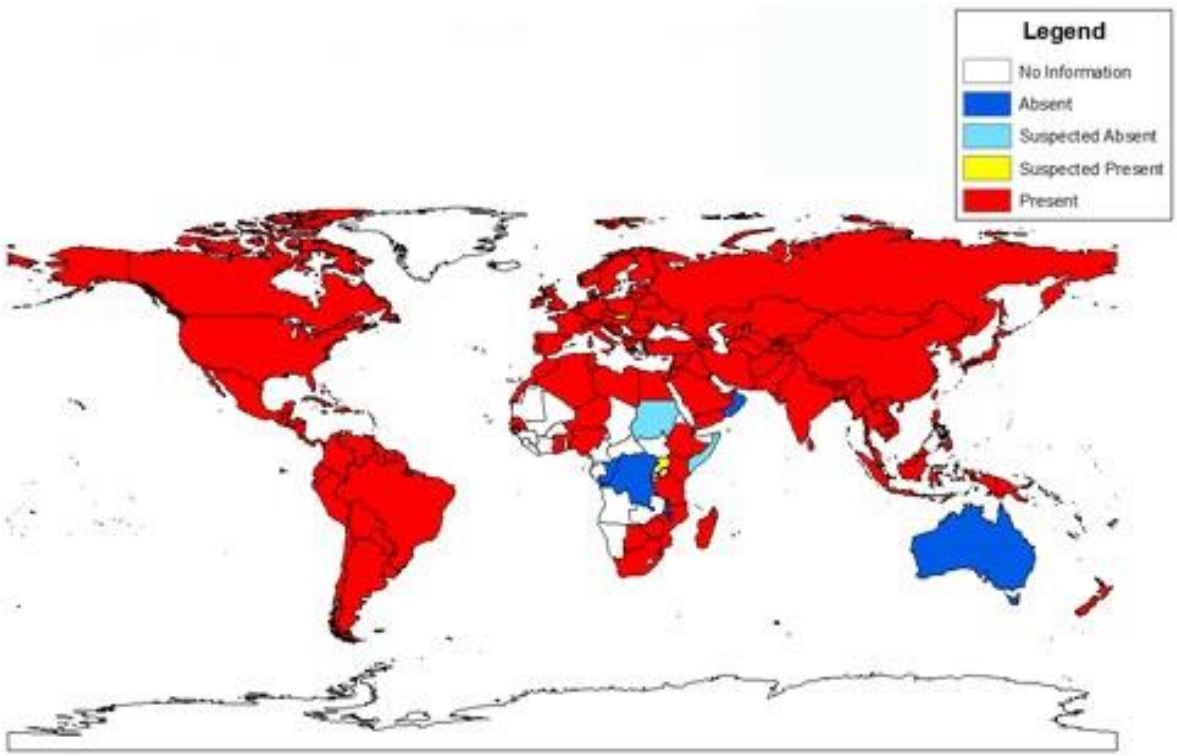
– tajlandski haplotip koji je rasprostranjen samo u Japanu, Tajlandu, te Sjevernoj i Južnoj Americi (DE GUZMAN i TRUEMAN, 2000.; MUNOZ i sur., 2008.). Jedine nametničke grinje od ekonomskog značaja za pčelarstvo su grinje *V. destructor* koje su se uspješno preselile s izvornog domaćina *A. cerana* na novog domaćina *A. melifera*.



Slika 1. Usporedni prikaz dorzalne i ventralne strane odraslih ženki *V. jacobsoni* (javanski haplotip; a i b) i *V. destructor* (korejski haplotip; c i d), te prikaz dorzalne strane *V. rindereri* (e) i *V. underwoodi* (f) (ANDERSON i TRUEMAN, 2000.).

Grinje iz roda *Varroa* prvi put su 1904. godine utvrđene i opisane na otoku Javi (OUDEMANS, 1904.). Obzirom da na pojedinim područjima dolazi do preklapanja životnog prostora europske i azijske pčele zemljopisna rasprostranjenost navedenog nametnika se tijekom godina povećavala. Na istočnom obalnom području SSSR-a grinja je utvrđena 1952. godine, u Japanu 1958. godine, Kini 1959. godine, Bugarskoj 1967. godine, Južnoj Americi 1971. godine,

Njemačkoj 1977. godine (RUTTNER i RITTER, 1980.), a prvi podaci o pojavi u SAD-u datiraju iz 1987. godine. Danas je *V. destructor* gotovo kozmopolitska vrsta, s izuzetkom Australije i središnje Afrike.



Slika 2. Zemljopisna rasprostranjenost grinje *V. destructor* (ANON, 2010.; http://entnemdept.ufl.edu/creatures/misc/bees/varroa_mite.htm). Pristupljeno: 5. kolovoza 2016.

2.2. Morfologija grinje *V. destructor*

V. destructor su velike grinje vidljive prostim okom. Ovalne su i plosnate, potpuno prekrivene hitinskim štitom i s velikim brojem morfoloških struktura kojima je prilagođena u odnosu na nosioca. Imaju jasno izražen spolni dimorfizam. Glavna značajka oba spola je tijelo podijeljeno u dva vidljivo odvojena dijela – idiosomu i gnatosomu. Idiosoma je veći dio i sastoji se od dorzalnog štita i više ventralnih štitova, a građena je od tvrdog hitina izrazito crveno smeđe boje kod ženki te mekanog, blijedožutog hitina kod mužjaka. Cijelo tijelo grinje, uključujući noge i usni aparat, prekriveno je sitnim dlačicama i kukicama koje im pomažu pri prihvaćanju na tijelo

odrasle pčele ili ličinke, a imaju mehaničku i kemoreceptivnu funkciju (MILANI i NANNELLI, 1998.). Tanke i pokretne membrane građene od mekanog hitina povezuju štitove te omogućuju grinjama da se prošire tijekom hranjenja i polaganja jajašca. Gnatosoma je smještena anteroventralno i čini usni aparat u ženke, te aparat za kopulaciju u mužjaka. Nju čine dvije osjetne pedipalpe i dvije helicere koje se sastoje od tri dijela: bazalnog, srednjeg i distalnog. Distalni dio je pokretan i na njemu se u ženke nalaze dva zubića, koji služe za ubadanje. U procesu hranjenja, odnosno sisanja hemolimfe, osim zubića sudjeluju i jaki ždrijelni mišići. Grinje su savršeno prilagođene vlastitom načinu parazitiranja pri čemu se zavlače između hitinskih kolutića odrasle pčele i dijelovima usnog aparata probijaju kožicu te sišu hemolimfu. Imaju četiri para nogu od kojih prednji služe kao osjetni organi, te ih često podižu u zrak poput ticala u ostalih kukaca (RICKLI i sur., 1992.). Porozne osjetne stanice smještene na prednjim nogama omogućuju percepciju feromona, drugi tip stanica ima ulogu higroreceptora i baroreceptora, dok treći ima okusnu funkciju.

Odrasla ženka *V. destructor* ima ovalno i spljošteno tijelo veličine 1,2 do 1,7 milimetara, s kratkim i jakim nogama na kojima se nalaze apotele, specijalizirane strukture za prihvaćanje na nosioca pčelu. Ženski sustav za razmnožavanje sastoji se od dva dijela: prednji dio čine jajnik, maternica i vagina koja vodi do genitalnog otvora kroz koji ispuštaju jajašca koji je smješten između prvog para nogu. Drugi dio sustava je spermateka koja omogućuje prihvaćanje i sazrijevanje sperme do oplodnje jaja. Životni vijek ženki je dva do tri mjeseca ljeti, a zimi šest do osam mjeseci.

Mužjaci grinje su veličine oko 0,9 milimetara i okruglastog oblika. Imaju isključivo rasplodnu ulogu. Izlaze iz prvog položenog jajašca, a ugibaju odmah nakon oplodnje u istoj poklopljenoj stanici saća pčelinjeg legla. Razvoj do spolne zrelosti traje svega nekoliko dana. Sustav za razmnožavanje u mužjaka sastoji se od jednog testisa na stražnjem dijelu tijela od kojeg vode dva sjemenovoda koji završavaju genitalnim otvorom na kraju sternalne ploče između drugog para nogu. Njihova gnatosoma ima modificirane helicere, distalni dio izgleda poput cjevčica koje zapravo čine sjemene kanale. Ždrijelno mišićje i usni aparat su im slabo razvijeni što ukazuje da ne mogu sisati hemolimfu, odnosno najčešće ne uzimaju hranu.

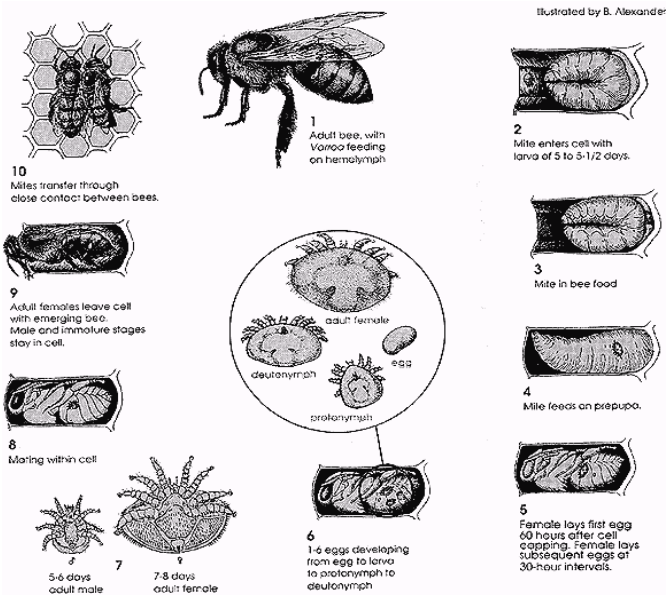
a. b.

Slika 3. Spolno zreli mužjak *V. destructor* (a) i spolno zrela ženka *V. destructor* (b). (ANON 2007.; https://www.flickr.com/photos/13494188@N08/1468407192). Pristupljeno 5. kolovoza 2016.

2.3. Biološki ciklus grinje *V. destructor*

Postoje dvije karakteristične faze u razvoju ženki grinje *V. destructor*: foretska faza na odrasloj pčeli i reproduktivna u stanicma poklopljenog pčelinjeg legla. Mužjaci grinje i stadiji nimfe su kratkoživući i može ih se naći samo u stanicama poklopljenog legla. Tek izašlu mladu pčelu oplođena ženka napušta i prelazi na kućne pčele, koje prepoznaje po funkciji i dobi. Na njima se grinja hrani tako da se prihvati između trbušnih ljušćica zatka pčele i siše znatne količine hemolimfe, te ih koristi kao transportno sredstvo. Ispod poklopljenih stanica legla grinje i njezini razvojni oblici sišu hemolimfu ličinkama i kukuljicama (GAREDEW i sur., 2004.). Iako kućne pčele odgajaju radiličko i trutovsko leglo, one u isto vrijeme dovode ženku grinje u bliski kontakt s pčelinjim ličinkama koje svojim juvenilnim hormonima i hlapivim spojevima kutikule privlače grinju koja se otpusti sa odrasle pčele i invadira radiličku 20 sati ili trutovsku ličinku 40 sati prije poklapanja pčelinjeg legla. Trutovske ličinke su 8 do 10 puta jače invadirane od radilačkih jer je temperatura trutovskog legla niža od 35 °C, a grinjama je za razvoj i razmnožavanje pogodna temperatura od 26 do 33 °C (PATZOLD i RITTER, 1989.).

Ženka *V. destructor* započinje ciklus razmnožavanja u dobi od četiri do 13 dana kada napušta odraslu pčelu i ulazi u stanicu saća pčelinjeg legla. Kada uđe u stanicu pčelinjeg legla ode na dno i uroni u hranu pčelinje ličinke, gdje ostaje nepokretna i neprimjetna. Nakon poklapanja legla pčelinja ličinka se ispruži te potakne grinju na parazitizam i ostaje na njoj sve dok ličinka ne završi fazu predenja kokona. Tada se pčelinja ličinka ispruži glavom prema poklopcu stanice i zauzme 2/3 prostora stanice saća, a preostali prazni prostor gornjeg i prednjeg dijela stanice koristi ženka grinje za svoju reproduktivnu fazu. Kako bi se lakše orijentirala grinja koncentrira izmet na jednu točku stijenke stanice saća gdje se odmara, a na ličinku ili kukuljicu odlazi da bi se hranila, i to na zadak. Nakon hranjenja počinje s polaganjem jajašca oko 70 sati nakon poklapanja stanice saća. Prvo jaje je neoplođeno i razvija se u haploidnog mužjaka (STEINER, 1993.). Sljedeća su oplođena, a ženka ih polaže približno svakih 30 sati (MARTIN, 1995.). U našim klimatskim uvjetima ženka može položiti 1 do 7 jajašca u jednom ciklusu razmnožavanja (SULIMANOVIĆ, 1985.).



Slika 4. Životni ciklus grinje *V. destructor* (ANDERSON, 2000.).

Unutar jajašca za 24 sata se razvije ličinka sa šest nogu, veličine 0,6 x 0,5 milimetra. U sljedeća dva dana ličinka prelazi u stadij protonimfe s osam nogu koja silazi sa stijenke stanice saća na pčelinju kukuljicu i suše hemolimfu. Muške protonimfe prelaze u stadij deutonimfe nakon tri dana, a ženke nakon pet dana. Spolno sazrijevaju odmah nakon zadnje preobrazbe, ženke postaju crvenkaste i štitaste, a mužjaci blijedožuti i okruglasti.

a. b. c.

Slika 5. *V. destructor* na pčelinjoj ličinki (a), kukuljici (b) i odrasloj pčeli (c). (http://entnemdept.ufl.edu/creatures/misc/bees/varroa_mite.htm; http://www.delange.org/Bees4/Bees4.htm; http://honeybeesanadventure.blogspot.hr/2015/06/are-you-raising-varroa-mites.html). Pristupljeno 5. kolovoza 2016.

Mužjaci dostižu spolnu zrelost prije ženki i na mjestu odlaganja fecesa čekaju prvu zrelu ženku koja završava preobrazbu oko 20 sati kasnije. Na početku parenja mužjak dodiruje ženku s prvim parom nogu, približava se i sklizne na ventralnu stranu gdje traži gonopore ženke koje su smještene transverzalno između 3. i 4. para nogu. Zatim vadi spermatoforu iz svog genitalnog otvora i prenosi ju u gonofore ženke preko helicera. Višestruko parenje je često dok ne sazrije sljedeća ženka i stigne na odlagalište fecesa. Ženski spolni feromoni potiču želju za parenjem (ZIEGELMAN i sur., 2008.), pa su mlade tek preobražene ženke znatno privlačnije od starijih, što osigurava da se mužjak pari s trenutačno najmlađom ženkom. Nakon parenja sa sestrama mužjak ugiba, a one s mladom pčelom izlaze iz stanice te prelaze u foretsku fazu biološkog ciklusa.

2.4. Dinamika rasta populacije *V. destructor* unutar pčelinje zajednice i širenje između zajednica

Razvoj i brojnost grinja mijenja se tijekom godine ovisno o okolišnim čimbenicima i biologiji pčelinje zajednice. Početkom zime u područjima s kontinentalnom klimom pčelinja matica prestane polagati jaja, ženke *V. destructor* ulaze u foretsku fazu životnog ciklusa dok na područjima s mediteranskom klimom pčele odgajaju leglo i tijekom zime, pa grinja ne prekida reproduktivnu fazu. Broj nametnika u pčelinjim zajednicama ovisi o dužini parazitiranja, te o uspješnosti suzbijanja bolesti tijekom prethodne godine. Taj broj je u proljeće uglavnom nizak. Reproduktivna faza *V. destructor* u područjima s kontinentalnom klimom započinje pojavom trutovskog i radiličkog legla, posljedično tome, trajanje uzgojnog razdoblja radiličkog legla i količina trutovskog legla znatno utječu na dinamiku populacije grinje unutar pčelinjih zajednica. Populacija grinje u zajednici doseže vrhunac krajem kolovoza i početkom rujna. U netretiranih i jako invadiranih zajednica broj grinja premašuje broj pčela što rezultira propadanjem zajednice.

Širenje grinja između pčelinjih zajednica odvija se neposrednim kontaktom do kojeg dolazi zalijetanjem pčela radilica ili trutova, grabežom i preko cvijeća. Zalijetanje u tuđe košnice iz invadiranih u zdrave veće je nego u suprotnom smjeru (PUŠKADIJA i sur., 2004.). *V. destructor* ima nagon prelaženja s uginulih na žive pčele te se tako na pčelinjacima koji nisu tretirani može dogoditi da se na slabim pčelama, skupi velik broj grinja, koje prelaze na pčele iz okolnih zajednica tijekom grabeža te se tako izazove jaka i neočekivana invazija. Rojenjem također dolazi do širenja varooze, te pčelar svojim radnjama kao što je premještanje okvira između zajednica i spajanje zajednica isto širi nametnika. Na veće udaljenosti se prenosi transportom i trgovinom.

2.5. Klinička slika varooze

Znakovi bolesti u početku se teško uočavaju. Znakovi bolesti postaju izraženiji tek kad su grinje invadirale svaku treću ili četvrtu pčelu, a to se događa najčešće tijekom ljeta i jeseni (SULIMANOVIĆ, 1985.). *V. destructor* se hrani hemolimfom s ventralne strane tijela ličinke i kukuljice, a na odraslim pčelama se najčešće hrani između kolutića zatka gdje probija intersegmentalnu membranu. Ako je ličinka napadnuta većim brojem nametnika, njezin razvoj bit

će poremećen. Invadirane ličinke pokazuju znakove nemira i često se prije vremena ispruže. Ukoliko se ličinke uspiju razviti u pčele, često im je tijelo nepravilno razvijeno ili trutovi nisu sposobni za parenje. Pčelinje kukuljice izgube 15 do 20% tjelesne mase, a iz njih nastaju sitne mlade pčele koje nisu u potpunosti integrirane u sustav podjele rada unutar zajednice. Pčele radilice koje su bile invadirane tijekom razvoja ranije postaju sakupljačice čime im se znatno skraćuje životni vijek (AMDAM i sur., 2004.). Trutovi izašli iz invadiranih stanica imaju 11 do 19% manju tjelesnu masu i oštećena krila što dovodi do smanjene ili potpuno zaostale sposobnosti letenja i mogućnosti parenja. Invadirane pčele sakupljačice pokazuju smanjenu sposobnost učenja, produženo im je vrijeme izbivanja iz košnice i manje ih se vraća u košnicu. Pčele su uznemirene, vrte se na jednom mjestu, pokušavaju poletjeti ili nogama skinuti nametnika s tijela. Na poklopcima saća napadnutog legla primjećuju se udubljenja i pukotine, a redovito su jače invadirane trutovske stanice.

Sposobnost za razmnožavanje pčelinjih zajednica invadiranih grinjama *V. destructor* je smanjena čak i kod umjerenih invazija. Trutovi izašli iz invadiranih stanica imaju značajno manju mogućnost za parenje, a invadirane pčelinje zajednice slabije se roje (VILLA i sur., 2008.). Umjerene invazije mogu dovesti do smanjenog razvoja pčelinje populacije, kao i do slabijeg prinosa meda, dok klinički simptomi ne moraju biti izraženi. Ugibanje pčela u jako invadiranim zajednicama događa se uglavnom u kasnu jesen, tijekom zime ili u rano proljeće. Potpuno propadanje zajednice povezano je s ″sindromom nametničke grinje″ koji uključuje nepravilno raspoređeno poklopljeno i nepoklopljeno leglo, puzanje pčela, prisutnost morfološki oštećenih pčela, te slabljenje zajednice. Smatra se da netretirane pčelinje zajednice kod kojih je stupanj invazije preko 30% odraslih pčela, nemaju mogućnost preživjeti sljedeću zimu (ROSENKRANZ i sur., 2010.).

V. destructor je mehanički, ali i biološki prijenosnik pčelinjih virusa. Do sada je izdvojeno oko dvadesetak virusa, a za širenje Kašmirskog pčelinjeg virusa (KBV), virusa mješinastog legla (SBV), virusa akutne pčelinje paralize (ABPV), Izraelskog pčelinjeg virusa akutne paralize (IAPV) i virusa izobličenih krila (DWV) je *V. destructor* dokazani prijenosnik (BOECKING i GENERSCH, 2008.). Pretpostavlja se da je konačno propadanje zajednice s vidljivim simptomima (raštrkano leglo, izobličena krila i drugi morfološki nedostaci, nemogućnost koordiniranog

kretanja i letenja, promjene ponašanja te slabljenje zajednice) uglavnom posljedica virusnih infekcija, a ne izravnog djelovanja varooze.

Slika 6. Invadirana pčela izobličenih krila (http://www.waldeneffect.org/blog/Treating_varroa_mites_organically/). Pristupljeno 6. kolovoza 2016.

2.6. Dijagnostika varooze

Uspjeh liječenja, kontroliranja i suzbijanja varooze ovisi o ranom utvrđivanju prisutnosti i stupnja invadiranosti pčelinjih zajednica u pčelinjaku. Postupke dijagnostike najčešće provodimo početkom ljeta na reprezentativnom uzorku pčelinjih zajednica nekog pčelinjaka koji iznosi 10%. Metode za određivanje stupnja invadiranosti zajednice su: praćenje prirodnog dnevnog pada grinja kroz određeno razdoblje, otklapanje poklopaca saća nad trutovskim leglom, primjena šećera u prahu i višestruko ispiranje uzorka pčela u detergentu u laboratorijskim uvjetima. Određivanjem stupnja invadiranosti možemo procijeniti kada i koji akaricid upotrijebiti u tretiranju varooze.

2.6.1. Praćenje prirodnog dnevnog pada V. destructor

Za provođenje ove metode potrebna je tzv. antivaroozna podnica (AV podnica) koja se postavlja ispod plodišnog nastavka košnice, a može se primjenjivati tokom cijele godine. AV podnica ima žičanu mrežu ispod koje se nalazi uložak koji se može izvući izvan okvira podnice da bi se mogle prebrojati otpale grinje. Osim za određivanje broja prirodno otpalih grinja ova podnica se koristi i za praćenje učinkovitosti tretmana akaricidima. Kod praćenja pada grinja potrebno je bilježiti broj otpalih grinja tijekom razdoblja praćenja. Jedna prirodno otpala grinja dnevno ukazuje na vjerojatnost prisutnosti 120 do 130 grinja u pčelinjoj zajednici.

Slika 7. AV podnica (http://www.olx.ba/artikal/21827836/kosnice-lr-podnjaca-podnica-av). Pristupljeno 6. kolovoza 2016.

2.6.2. Otklapanje trutovskog legla

Ova metoda se provodi kada su pčelinje kukuljice u stadiju ružičastih očiju. Pomoću vilice za otklapanje meda probode se odabrano područje trutovskog poklopljenog legla i kukuljice se izvlače jednim potezom. *V. destructor* se lako uočava, a da bi se točno odredio stupanj invadiranosti, treba otklopiti barem stotinjak stanica saća s leglom. Zatim se prebroji ukupan broj kukuljica i broj kukuljica na kojima je utvrđena prisutnost grinja, a rezultat se izražava u postotku invadiranih kukuljica. Ako je razina invadiranosti trutovskog legla manja od 5% nije potrebno tretiranje, no ako je invadiranost veća od 25% to ukazuje na vrlo veliku populaciju grinja i nužna

je provedba tretmana protiv varooze. U područjima gdje legla ima tijekom cijele godine potrebno je tretirati kada je invadirano 15% poklopljenog trutovskog legla.

2.6.3. Primjena šećera u prahu u terenskim uvjetima

Kod ove metode potrebno je uzorkovati žive pčele s perifernog okvira smještenog na poznatoj udaljenosti od pčelinjeg legla tako da se u posudu volumena 120 ml pčelarskom četkom pokupe pčele. Potrebno je najmanje 40 g pčela, odnosno 250 do 300 pčela. Zatim se pčele stave u specijalnu prozirnu plastičnu posudu s rešetkastim i punim poklopcem, a na njih se stavi 35 g šećera u prahu, zatvori se s oba poklopca i energično trese tijekom jedne minute što dovodi do oblaganja pčela šećerom i otpuštanja grinja. Nakon toga se otvara puni poklopac i na bijelu podlogu se istrese sadržaj šećera i otpalih grinja, a rešetkasti poklopac zadrži pčele koje se vrate u košnicu. Na podlozi prebrojimo otpale grinje i na temelju toga procjenjujemo postotak invadiranosti pojedine pčelinje zajednice. Ako stupanj invadiranosti iznosi više od 5 do 8% preporuča se tretiranje zajednice.

2.6.4. Višestruko ispiranje uzorka pčela u vodenoj otopini detergenta

Uzorak odraslih pčela za ovu metodu se uzima na način opisan u prethodnom poglavlju, ali se pretraga provodi nakon ugibanja pčela zbog čega se uzorak drži u zamrzivaču tijekom 24 sata. Uzorak se višekratno ispire vodenom otopinom detergenta za pranje posuđa nad dvostrukim sitom različitog promjera okanaca, gdje na rjeđem situ zaostaju pčele, a na gušćem prebrojavamo otpale grinje. Rezultate procjenjujemo kao i kod metode sa šećerom u prahu.

2.6.5. Slanje pčela na laboratorijsku pretragu

Na laboratorijsku pretragu se uobičajeno šalje uzorak živih odraslih pčela (250 do 300 pčela) tijekom aktivne pčelarske sezone. Uzorak se nakon uzimanja iz košnice stavi u zamrzivač preko noći, a sljedeći dan se šalje u laboratorij uz popratni obrazac za dostavu materijala na laboratorijsku pretragu. Može se slati i uzorak poklopljenog trutovskog ili radiličkog legla u saću dimenzija 15 x 15 centimetara. Tijekom zime i kod prvog pregleda nakon prezimljavanja šalju se uginule pčele i ostatci s podnice košnica.

2.7. Liječenje i kontroliranje varooze

Obzirom da je *V. destructor* prisutna već više od pola stoljeća na zajednicama europske medonosne pčele i uzrokuje velike gubitke pčelinjih zajednica, razvijeno je više metoda za suzbijanje i kontrolu varooze i to: od biotehničkih mjera, fizikalnih metoda pa do primjene akaricida na pčelinjim zajednicama.

2.7.1. Fizikalne metode u kontroli varooze

Od fizikalnih metoda u suzbijanju varooze koriste se toplina, energetski valovi koji potiču sposobnost čišćenja pčela (RANDY, 2008.) i ultrazvučni valovi koji ometaju komunikaciju i orijentaciju grinja (AUMEIER i sur., 2006.). Najčešće se koristi toplina jer grinje imaju nižu maksimalnu temperaturu preživljavanja od pčela. Tretiranje se provodi 15 minuta na temperaturi od 47° C ili 30 minuta na 45 °C. Navedene temperature ne smetaju pčelama, a grinje ugibaju. Može se primijeniti kada u zajednici nema legla.

2.7.2. Biotehničke mjere u kontroli varooze

Biotehničke metode temelje se na karakteristikama nosioca i nametnika, provode se u proljeće, ljeto i jesen. Postoji nekoliko metoda, no ni jedna ne može značajno smanjiti stupanj invadiranosti pčelinjih zajednica pa se preporuča istodobna primjena nekoliko metoda. Jedna od najstarijih metoda je izrezivanje trutovskog legla. Primjenjuje se tijekom proljeća i ljeta kada pčelinja zajednica odgaja trutovsko leglo. Leglo predstavlja klopku za grinje i ono se izrezuje i žrtvuje nakon poklapanja. Ta metoda je poboljšana umetanjem praznog okvira građevnjaka na periferni dio košnice i potiče pčelinji nagon za uzgoj trutova. Nakon poklapanja trutovsko leglo se izreže iz tog okvira, a on se vrati u košnicu. Stupanj invadiranosti se ovim metodama može smanjiti i za 50%. Žrtvovanje radiličkog legla provodi u kasnu jesen kada se ono fiziološki smanjuje. Obzirom da ta metoda usporava proljetni razvoj i slabi pčelinju zajednicu, rijetko se koristi. Jedna od metoda je rojenje i umjetno razrojavanje gdje se novo uspostavljene zajednice smještaju na okvire sa satnom osnovom i matice su najčešće neoplođene, te je potrebno određeno vrijeme za početak polaganja legla u novim zajednicama što usporava razvoj nametnika i smanjuje stupanj invadiranosti. Odabirom pojedinih pčelinjih zajednica pokušava se zadržati određene fenotipske i genotipske osobitosti (higijensko ponašanje, samočišćenje, kratak razvoj legla).

2.7.3. Primjena akaricida u kontroli varooze

Liječenje akaricidima je brže, učinkovitije i jednostavnije od svih prethodno opisanih metoda, no ima velike nedostatke – mogućnost pojave rezistencije kod višekratno primjenjivanih istih akaricida i moguće utvrđivanje rezidua u pčelinjim proizvodima. Akaricide dijelimo na organske kiseline, esencijalna ulja i kemijski sintetizirane spojeve. Prema načinu djelovanja podijeljeni su na: isparavajuća, kontaktna, aerosolna i dimna sredstva, te sistemike.

Prema podatcima iz dostupne literature od svih pretraživanih organskih kiselina najprihvatljivije za uporabu su mravlja, oksalna i mliječna kiselina. Mravlja kiselina je jedini akaricid koji uništava *V. destructor* u foretskoj i reproduktivnoj fazi. Koristi se kao tekućina u

koncentraciji od 60 do 80%. Najčešće se upotrebljava u ljetom tretmanu kad su temperature veće od 12 °C. Djeluje isparavanjem, a postavlja se na podnicu, na satonoše ili u isparivače. Mora se prije dobro rashladiti da bi polaganije isparavala, zatim se stavi na spužvastu krpu u dozi od 3 ml po jednom zaposjednutom okviru s pčelama, a na satonoše 2 ml. Dodaje se 3 do 4 puta tijekom 7 dana. Oksalna kiselina se upotrebljava uglavnom u zimskom suzbijanju *V. destructor* kada nema legla i dolazi u obliku kristala. Koristi se 3,5% -tna otopina kiseline koja se pripremi dodavanjem oko 60 g kristala oksalne kiseline u topli šećerni sirup (1:1). Primjenjuje se nakapavanjem u dozi od 5 ml po ulici pčela u zimskom klupku. Djeluje kontaktno. Mliječna kiselina najmanje je opasna za pčele i pčelara. Preporuča se korištenje vodene otopine u koncentraciji 15%. Primjenjuje se prskanjem pčela na okvirima u dozi od 16 ml po jednom okviru, a djeluje kontaktno.

Kontaktni sintetski akaricidi su izrazito liposolubilni te zaostaju u vosku u obliku rezidua. Danas su u Hrvatskoj registrirana dva kontaktna akaricida, jedan iz skupine piretroida (Bayvarol) i jedan iz skupine organofosfornih spojeva (Checkmite). Oba su proizvodi njemačke tvrtke Bayer. Bayvarol se sastoji od plastičnih traka impergniranih piretroidom flumetrinom u količini od 3,6 mg po traci. Primjenjuje se u ljetnom tretiranju postavljanjem četiri trake u plodišni nastavak košnice. Trake se postavljaju između okvira tako da vise sa satonoša prema podnici tijekom 42 dana. Djeluje kao kontaktni otrov na živčani sustav člankonožaca. Flumetrin se kontinuirano u niskoj koncentraciji otpušta i adherira na pčele, a zatim se resorbira kroz kutikulu grinja koje ugibaju i otpadnu s pčela. Checkmite se sastoji od PVC traka impregniranih organofosfornim spojem kumafos u količini od 1,36 mg po traci. Primjenjuje se u ljetnom tretiranju postavljanjem dvije trake u plodišni nastavak košnice. Djeluje kao kontaktno sredstvo i sistemik. Oplođene ženke grinja pričvršćene na pčele tijekom sisanja hemolimfe unose i kumafos koji inhibira djelovanje acetil-kolin-esteraze pa dolazi do grčeva, paralize i ugibanja grinja.

Esencijalna ulja su isparavajući akaricidi, a glavni predstavnik je timol. On se u obliku esencijalnog ulja dobiva od biljke timijan (*Thymus vulgaris*). Počeo se koristiti prije tridesetak godina, no veliki nedostatak mu je doziranje koje uvelike ovisi o vanjskoj temperaturi zraka jer pri visokim temperaturama počinje naglo isparavati pa postaje štetan za pčele i u koncentraciji većoj od 1,1 mg po kg meda mijenja okus meda. Kod prevelikih koncentracija timola u košnici pčele napuštaju odgajanje legla, mlado leglo stradava te pčele napuštaju košnicu, a pojavljuje se i tihi ili

masovni grabež na pčelinjaku. Danas su u Hrvatskoj registrirana tri VMP-a na bazi timola: Thymovar, ApiLife Var i Apiguard.

Thymovar je proizvod švicarske tvrtke Andermatt Bioccontrol AG. Sastoji se od spužvaste tkanine dimenzija 5 x 14,5 centimetara natopljene aktivnom tvari timolom u količini od 15 grama iz kojih postupno isparava pri temperaturama 15 do 25 °C tvoreći sublimat koji dovodi do otpuštanja i ugibanja nametnika s pčele. Trake se postavljaju nakon zadnjeg vrcanja meda na satonoše (ne preko otvorenog ili zatvorenog legla). Prvi dio tretmana traje tri 21 dan, nakon čega slijedi odstranjivanje eventualnih ostataka prve i postavljanje druge trake na jednako vremensko razdoblje. Najbolja učinkovitost se postiže kada su maksimalne dnevne temperature između 20 i 25 °C tijekom liječenja. Smanjena učinkovitost veterinarsko medicinskih proizvoda nastaje ako prosječna temperatura padne ispod 15 °C. Ne smije se primjenjivati ako temperatura zraka prelazi 30 °C. Tretiranje na temperaturi iznad 30 °C vodi u stres i može uzrokovati uginuće odraslih pčela i legla. Sve košnice u pčelinjaku treba tretirati u isto vrijeme kako bi se izbjegla grabež.

ApiLife Var je proizvod talijanske tvrtke Chemical LAIF. To je prvi registrirani proizvod baziran na eteričnim uljima. Sastoji se od tableta vermikulita (porozna keramička spužva) dimenzija 5 x 9 x 1 centimetar koje su natopljene mješavinom timola (76%), eukaliptola (16,4%), mentola (16,4%) i kamfora (3,8%). Primjenjuje se u ljetnom tretmanu postavljanjem jedne tablete na satonoše plodišta tijekom sedam dana, a kada se postupak ponavlja još tri puta, ukupni tretman traje 28 dana. Preporuča se tretirati pčelinje zajednice kada je temperatura zraka 15 do 30 °C.

Apiguard je proizvod britanske tvrtke VITA Europe. Sadrži 12,5 grama timola u obliku gela. Primjenjuje se u ljetnom tretiranju postavljanjem aluminijske plitice na satonoše plodišta tijekom 14 dana, a zatim se postupak ponavlja, te ukupno tretman traje 28 dana. Preporučena temperatura zraka za vrijeme tretmana je 15 do 38 °C. Djeluje na dva načina koji se međusobno nadopunjuju. Prvi način je da djeluje tako da se pare timola ventiliranjem pčela šire pčelinjom zajednicom te inhalativno djeluje na grinje. Drugi način je da djeluje tako da se socijalnim ponašanjem pčela radilica gel raznosi zajednicom kad do izražaja dolazi kontaktno djelovanje lijeka. U vrijeme tretiranja može doći do blagog nemira pčela, čak se može umanjiti razvoj mladog legla, ali to je prolazna pojava.

a.

b.

c.

Slika 8. Thymovar (a), ApiLife Var (b), Apiguard (c). https://pcelinaskolica.wordpress.com/radionica/lijekovi-za-pcele. Pristupljeno 6. kolovoza 2016.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Smještaj pčelinjaka, tip košnica i okolišni uvjeti

Testni pčelinjak 1 (TP1) smješten je u Svetom Križu Začretju u Krapinsko - zagorskoj županiji (GPS koordinate: x=4605599, y=1553903), odnosno u sjeverozapadnoj regiji Hrvatske u području s kontinentalnom klimom. U razdoblju između 15. i 30. rujna 2013. godine pregledane su sve pčelinje zajednice i pri tome je u pojedinačnoj zajednici utvrđeno prosječno četiri okvira s leglom, a prosječna zaliha meda (hrane za zimovanje) po pčelinjoj zajednici iznosila je osam kilograma, te su pčele bile u dobroj kondiciji. Tijekom zime 2013. / 2014. godine uginulo je osam pčelinjih zajednica (redni br. 6, 7, 9, 14, 24, 26, 27 i 29), a nadomještene su rojevima tijekom svibnja i lipnja 2014. godine.

Slika 9. Testni pčelinjak 1 (TP1), Sveti Križ Začretje.

Testni pčelinjak 2 (TP2) smješten je na Jarčevu Brdu kod Popovca u Osječko – baranjskoj županiji (GPS koordinate: x=4547121, y=01840818). U razdoblju između 15. i 30. rujna 2013. godine pregledane su sve pčelinje zajednice i pri tome je prosječno utvrđeno tri do četiri okvira s leglom, a prosječna zaliha meda (hrane za zimovanje) po pčelinjoj zajednici iznosila je 12 kg, te su pčele bile u dobroj kondiciji. Tijekom zime 2013. / 2014. godine nije uginula nijedna pčelinja zajednica.

Slika 10. Testni pčelinjak 2 (TP2), Popovac.

Testni pčelinjak 3 (TP3) smješten je na Velanovom Brijegu kod Pazina u Istarskoj županiji (GPS koordinate: x=5417403, y=5009728). U razdoblju između 15. i 30. rujna 2013. godine pregledane su sve pčelinje zajednice i pri tome je prosječno utvrđeno po četiri okvira s leglom, a prosječna zaliha meda (hrane za zimovanje) po pčelinjoj zajednici iznosila je 15 kg, te su pčele bile u dobroj kondiciji. Tijekom zime 2013. / 2014. godine uginulo je pet pčelinjih zajednica (redni br. 6, 7, 8, 9 i 11), a nadomještene su rojevima tijekom aktivne pčelarske sezone.

Slika 11. Testni pčelinjak 3 (TP3), Pazin.

Testni pčelinjak 4 (TP4) smješten je u Malom Žitniku kod Gospića u Ličko – senjskoj županiji (GPS koordinate: x=44364473, y=15210499). U razdoblju između 15. i 30. rujna 2013.

godine pregledane su sve zajednice i pri tome je utvrđeno prosječno po tri okvira s leglom, a prosječna zaliha meda (hrane za zimovanje) po pčelinjoj zajednici iznosila je 15 kg, te su pčele bile u dobroj kondiciji. Tijekom zime 2013. / 2014. godine uginulo je pet pčelinjih zajednica (redni br. 2, 9, 10, 17 i 24), a nadomještene su rojevima tijekom aktivne pčelarske sezone.

Slika 12. Testni pčelinjak 4 (TP4), Mali Žitnik.

Testni pčelinjak 5 (TP5) smješten je u Vinaliću kod Vrlike u Splitsko – dalmatinskoj županiji (GPS koordinate: x=5615871, y=4863756). U razdoblju između 15. i 30. rujna 2013. godine pregledane su sve zajednice i pri tome je prosječno utvrđeno po četiri okvira s leglom, a prosječna zaliha meda (hrane za zimovanje) po pčelinjoj zajednici iznosila je 10 kg, te su pčele bile u dobroj kondiciji. Tijekom zime 2013. / 2014. godine uginule su četiri pčelinje zajednice (redni br. 1, 14, 18 i 29), a nadomještene su rojevima tijekom aktivne pčelarske sezone.

Slika 13. Testni pčelinjak 5 (TP5), Vrlika.

Svi testni pčelinjaci su uspostavljeni 2013. godine od paketnih rojeva i umjetno razrojenih pčelinjih zajednica. Svaki testni pčelinjak je sastavljen od 30 pčelinjih zajednica. Košnice su Langstroth Root (LR) tipa, označene rednim brojevima od 1. do 30. Sve košnice opremljene su hranilicama i AV podnicama. Testni pčelinjaci su u svrhu istraživanja podijeljeni na pet pokusnih i jednu kontrolnu skupinu od kojih je svaka sadržavala pet pčelinjih zajednica. Pčelinje zajednice triju pokusnih skupina (15) na svakom pčelinjaku su u prvom ljetnom obveznom kontroliranju prema uputama proizvođača tretirane uporabom tri različita registrirana VMP – a na bazi timola: Thymovar, ApiLife Var i Apiguard. Prije tretiranja sve pčelinje zajednice su imale maticu. Tijekom aktivne pčelarske sezone praćene su i vrijednosti temperature i relativne vlage zraka.

3.2. Praćenje pada *V. destructor* na AV podnici

Opadanje grinja *V. destructor* praćeno je tijekom dva razdoblja unutar aktivne pčelarske sezone. Prirodni pad grinja utvrđivan je u razdoblju od 01. lipnja do početka tretiranja akaricidima na bazi timola (razdoblje pretretmana), a zatim je praćena učinkovitost primjene istraživanih akaricida tijekom aktivne pčelarske sezone. Svakodnevno se provodilo brojanje i upisivan je broj utvrđenih grinja na svakoj pojedinoj AV podnici svake pčelinje zajednice na svakom pčelinjaku. Prije početka praćenja te poslije svakog brojanja otpalih grinja očišćen je uložak AV podnice.

3.3. Određivanje jačine pčelinjih zajednica metodom po Liebefeldu

Jačina pčelinjih zajednica je ovisno o klimatskim prilikama na pojedinom testnom pčelinjaku određivana višekratno (tijekom proljetnog razvoja i prije tretmana) Liebefeld metodom. Metoda se temelji na vizualnoj procjeni broja pčela i površine legla na svakoj strani pojedinog okvira, a izražava se u kvadratnim decimetrima. Jedna strana LR okvira dimenzija 43 cm x 23 cm ima površinu saća 8,8 dm^2. U jednom se kvadratnom decimetru prosječno nalazi oko 130 pčela i 400 stanica s leglom, iz čega proizlazi da jedna puna strana LR okvira ima oko 1100 pčela.

Prilikom pregleda pčelinje zajednice kreće se od prvog perifernog okvira, bilo s lijeve ili s desne strane, pa sve do krajnjega, desetog okvira u pojedinom nastavku. U tu svrhu LR okvir košnice se podijeli virtualno u osam jednakih polja. Prilikom pregleda pojedinog okvira procjenjuje se broj dm^2 zaposjednutih pčelama i leglom te se vrijednosti zapišu u prethodno pripremljenu tablicu. Zbrajanjem svih dobivenih dm^2 i množenjem s 130 dobije se broj pčela u pojedinoj pčelinjoj zajednici. Množenjem ukupne površine u dm^2 koju zauzima leglo s brojem 400 dobije se broj pčela u leglu. Tijekom pregleda svaki okvir se vraća na početnu poziciju.

3.4. Meteorološki uvjeti

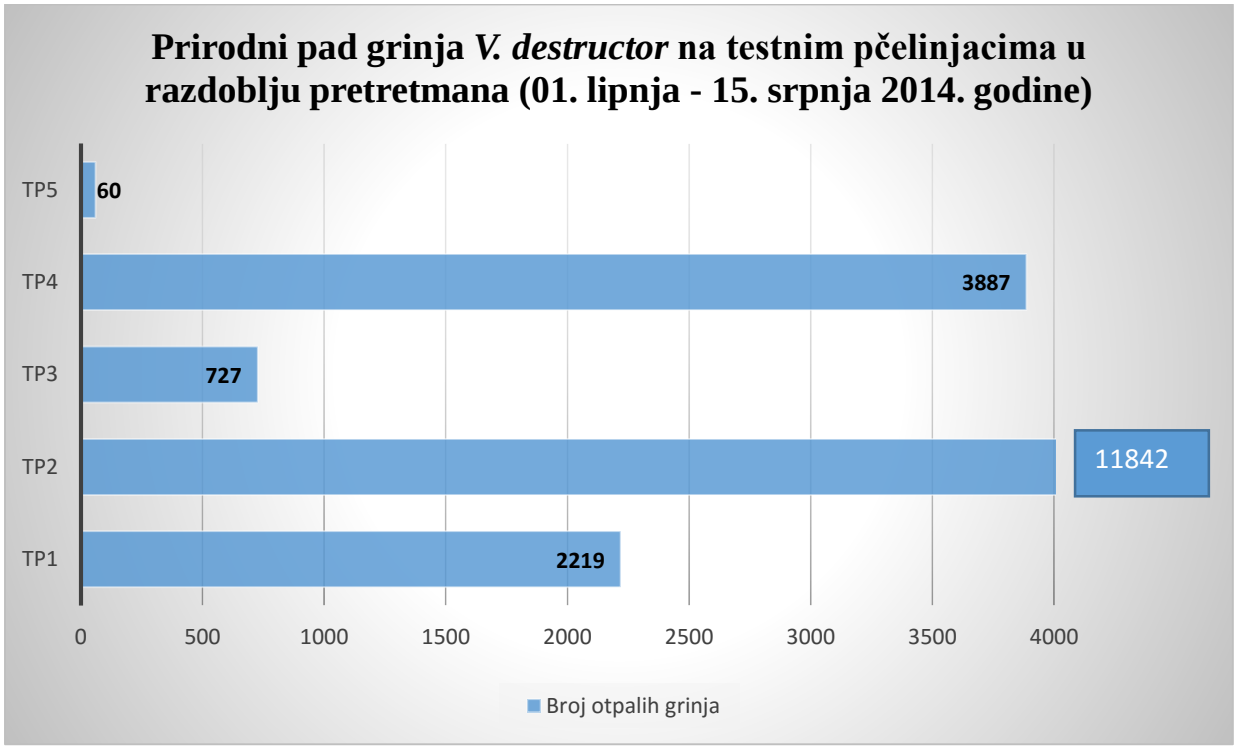
Podatke o potrebnim meteorološkim uvjetima dobiveni su od djelatnika Hrvatskog hidrometeorološkog zavoda, Klimatsko – meteorološkog sektora Zagreb za postaje Krapina, Osijek, Pazin, Gospić i Sinj.

3.5. VMP – i na bazi timola primijenjeni u istraživanju

U istraživanju su korištena tri veterinarsko medicinska proizvoda na bazi timola: Apiguard, ApiLifeVar i Thymovar. Sva tri VMP-a su stavljena u testni pčelinjak 1 - 18. srpnja 2014. godine, testni pčelinjak 2 - 26. srpnja 2014. godine, testni pčelinjak 3 i 4 – 16. srpnja 2014. godine te testni pčelinjak 5 – 15. srpnja 2014. godine prema uputama proizvođača. Tijekom cijelog razdoblja ljetnog tretmana svakodnevno su prebrojavane otpale grinje *V. destructor* na ulošku AV podnice pojedine pčelinje zajednice na pojedinom testnom pčelinjaku. Nakon tretmana primijenjeni akaricidi izvađeni su iz košnica s pčelinjim zajednicama i pravilno zbrinuti.

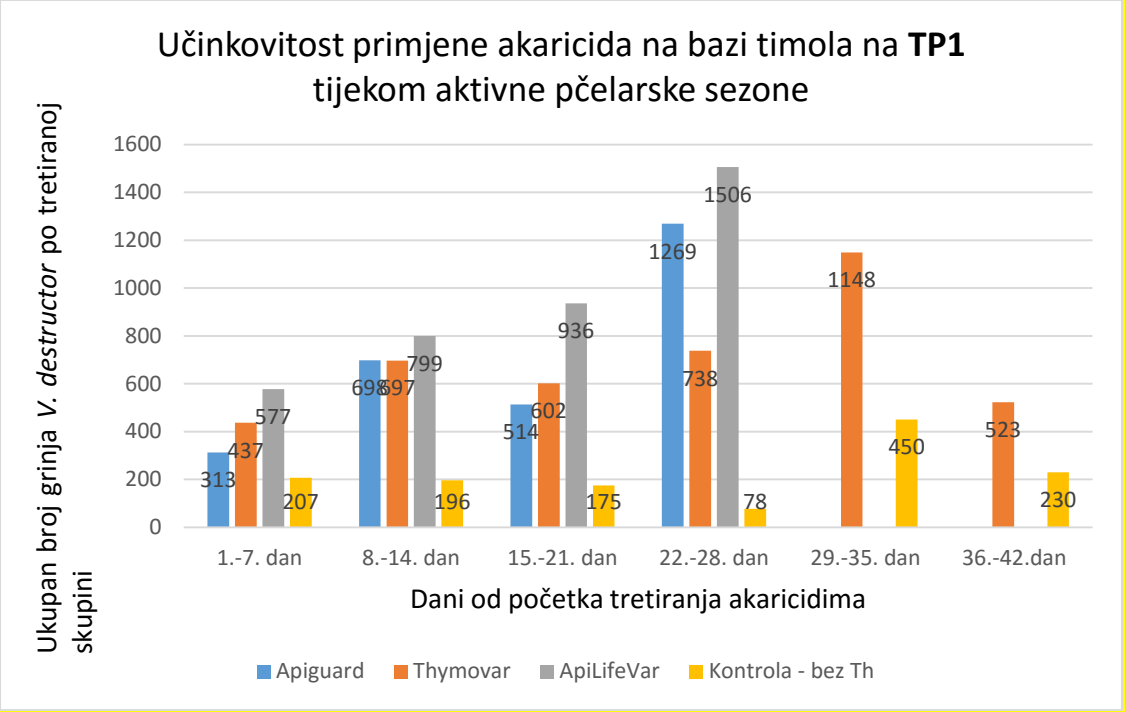
4. REZULTATI

Praćenjem prirodnog pada grinja *V. destructor* u razdoblju pretretmana (od 01. lipnja do 15. srpnja 2014. godine) najmanji broj jedinki je izbrojen na testnom pčelinjaku 5 u Vrliki (60 jedinki), a najviše je izbrojeno na testnom pčelinjaku 2 u Popovcu (11842 jedinke).

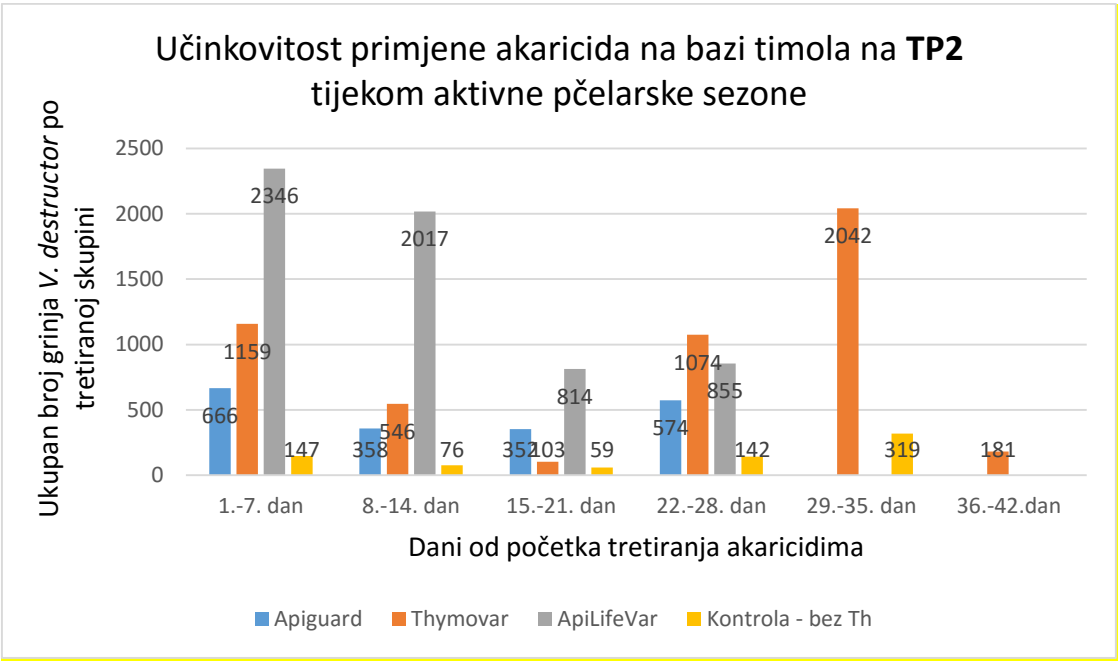


Grafikon 1. Prikaz prirodnog pada grinja *V. destructor* na testnim pčelinjacima u razdoblju pretretmana (01. lipnja – 15. srpnja 2014. godine).

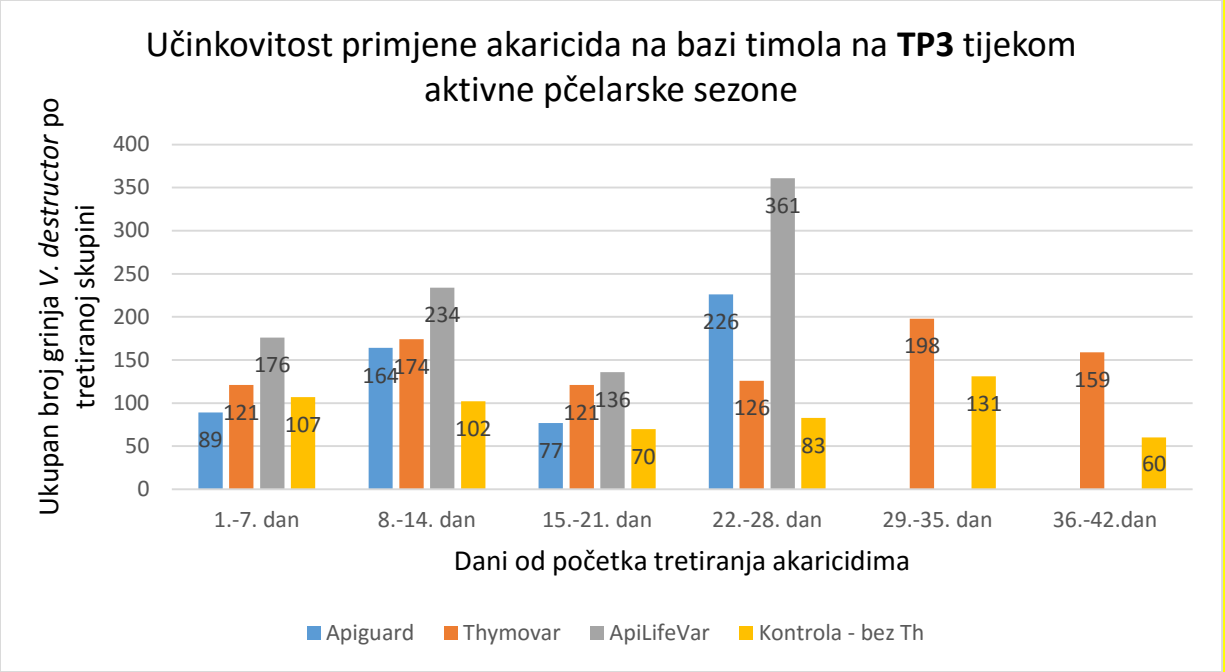
Praćenjem učinkovitosti istraživanih akaricida na bazi timola u kontroliranju varooze u ljetnom tretmanu od postavljanja akaricida u košnice do kraja tretmana koji je propisan u uputama proizvođača na testnom pčelinjaku 1 izbrojeno je 12093 jedinki grinja, na testnom pčelinjaku 2 - 13830 jedinki, na testnom pčelinjaku 3 - 2915 jedinki, na testnom pčelinjaku 4 - 3333 jedinki te na testnom pčelinjaku 5 – 1126 jedinki.



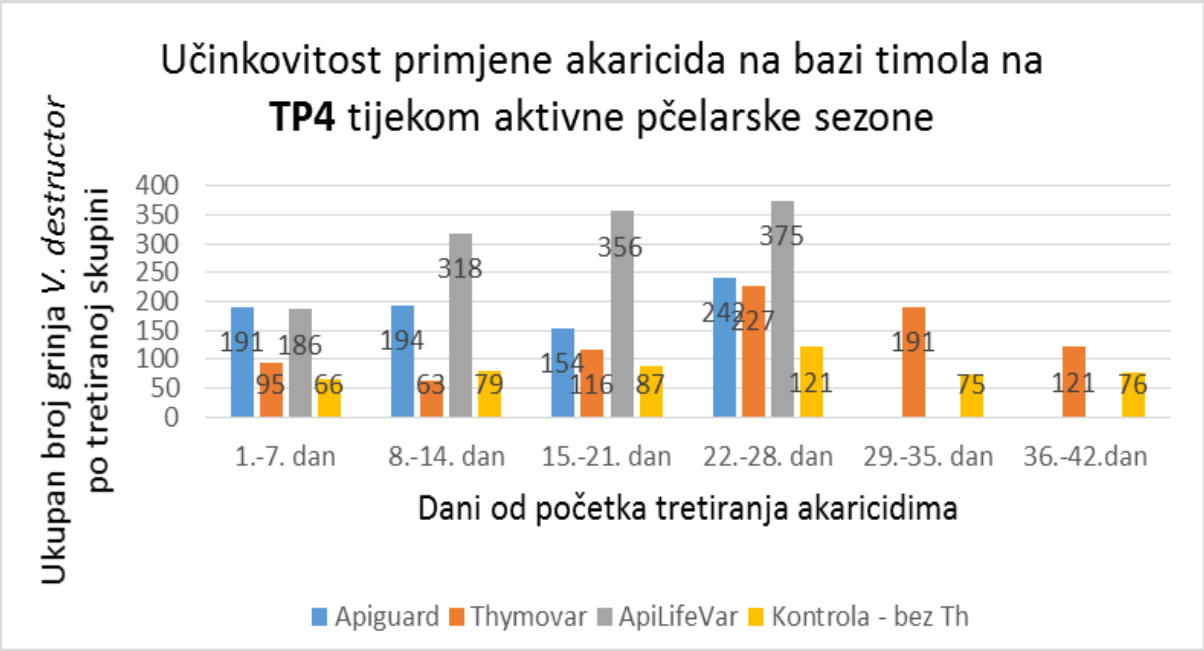
Grafikon 2. Prikaz učinkovitosti primjene akaricida na bazi timola na TP1 tijekom aktivne pčelarske sezone.



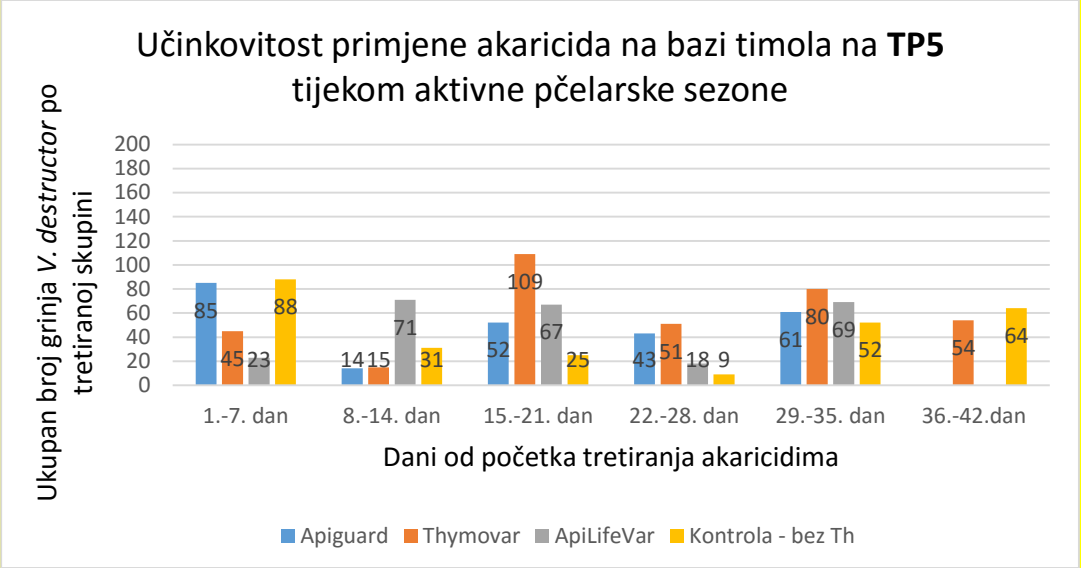
Grafikon 3. Prikaz učinkovitosti primjene akaricida na bazi timola na TP2 tijekom aktivne pčelarske sezone.



Grafikon 4. Prikaz učinkovitosti primjene akaricida na bazi timola na TP3 tijekom aktivne pčelarske sezone.

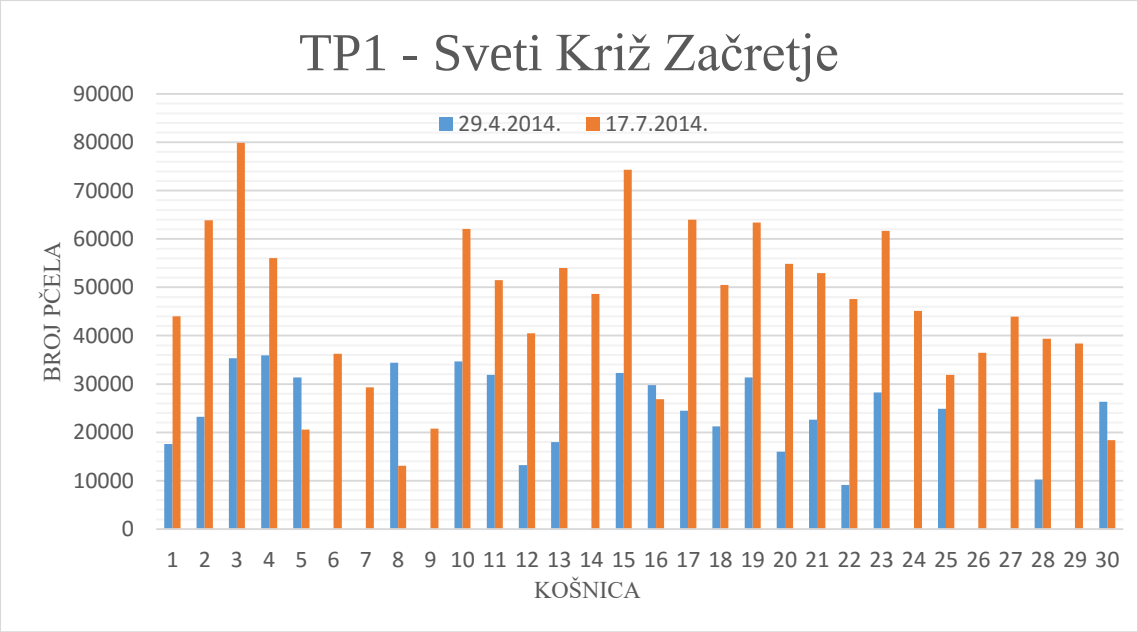


Grafikon 5. Prikaz učinkovitosti primjene akaricida na bazi timola na TP4 tijekom aktivne pčelarske sezone.

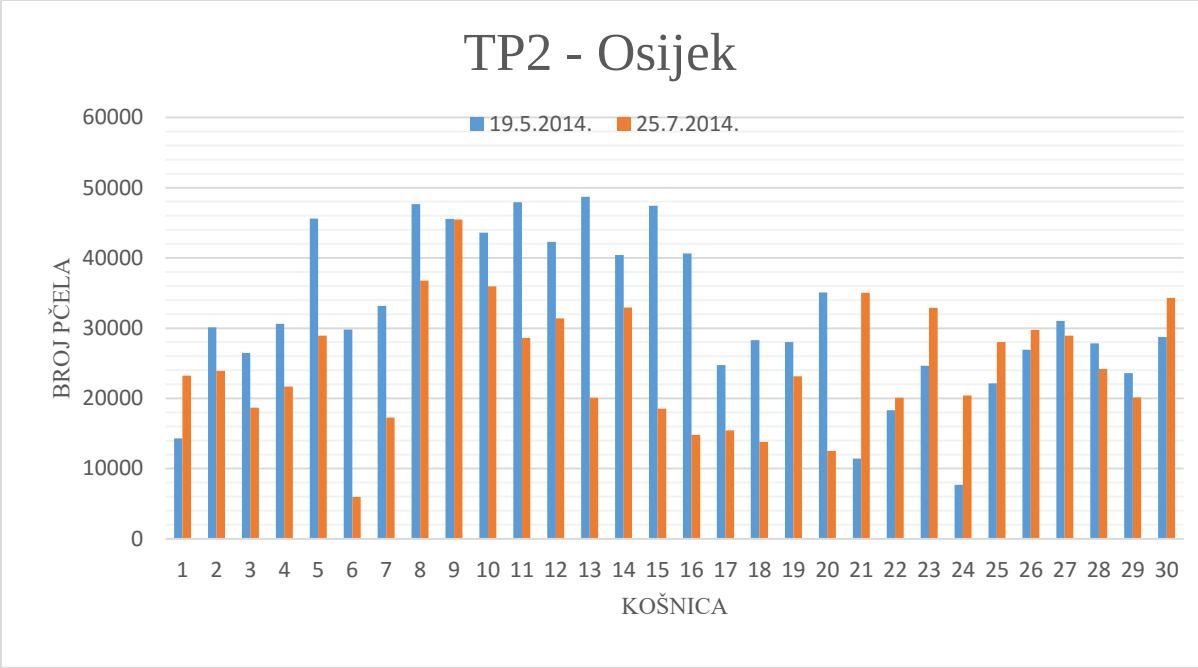


Grafikon 6. Prikaz učinkovitosti primjene akaricida na bazi timola na TP5 tijekom aktivne pčelarske sezone.

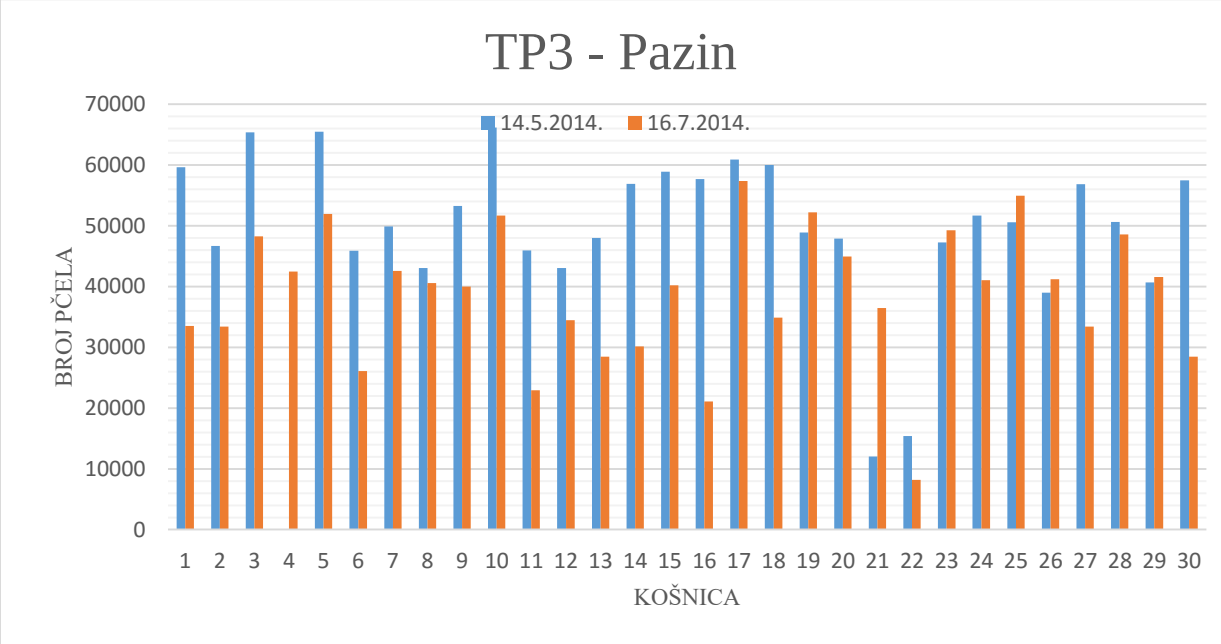
Određivanjem jačine pčelinjih zajednica prema Liebefeldu, najveći prosječni broj pčela po pčelinjoj zajednici prije tretmana utvrđen je na testnom pčelinjaku 5 (Vrlika), a najmanji na testnom pčelinjaku 2 (Popovac, Osijek).



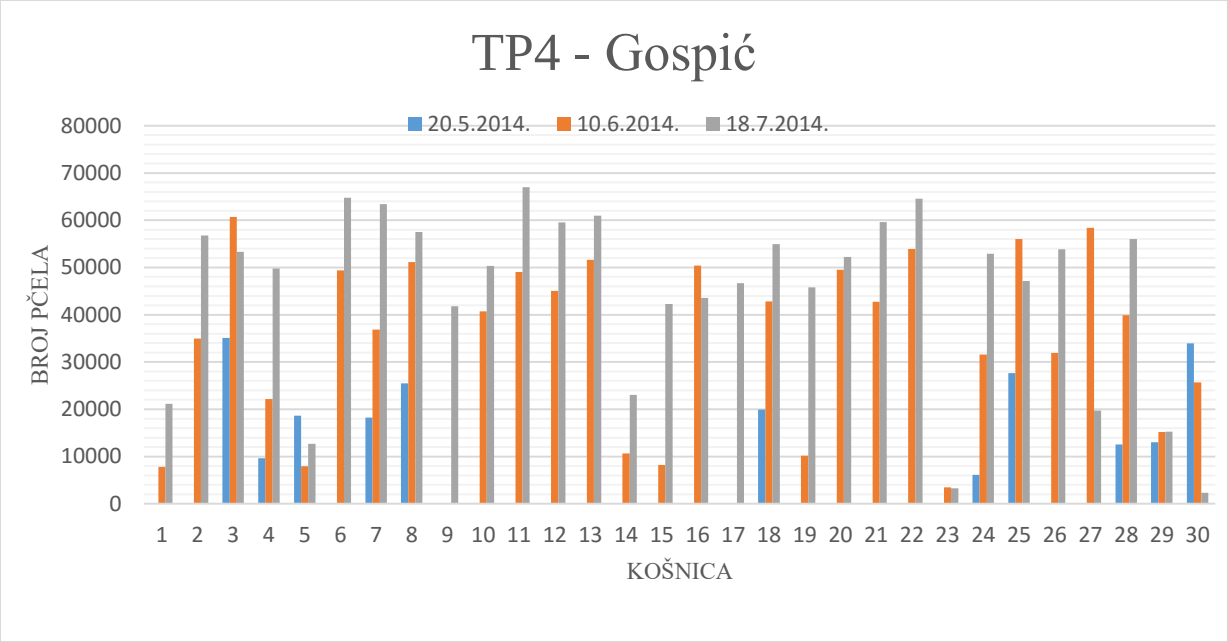
Grafikon 7. Prikaz procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici metodom po Liebefeldu na TP1.



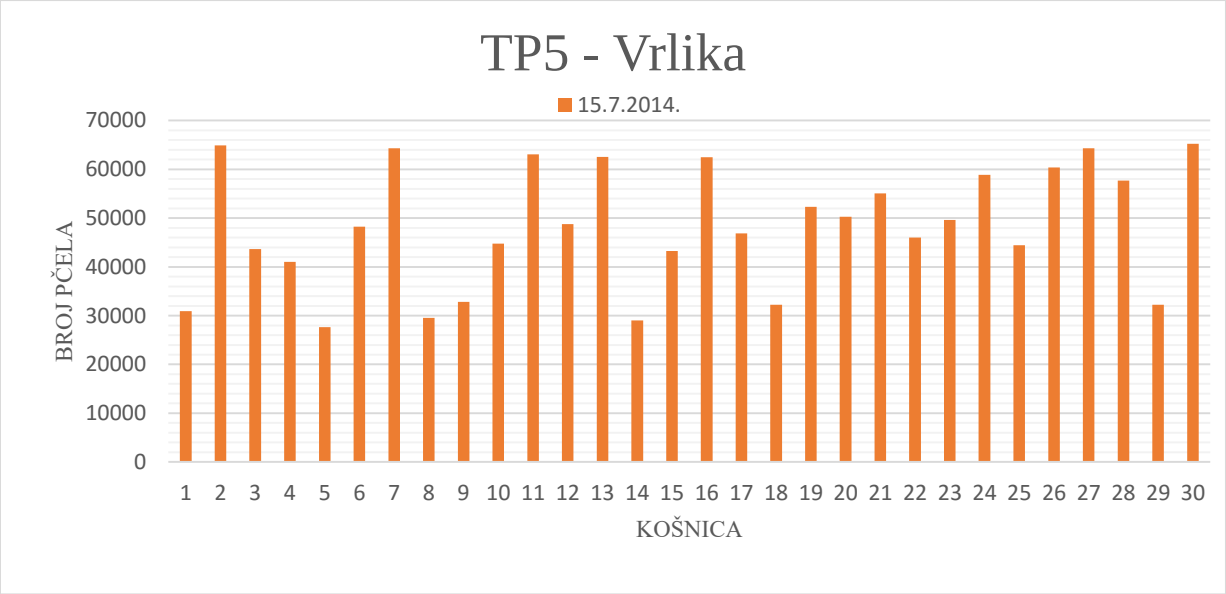
Grafikon 8. Prikaz procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici metodom po Liebefeldu na TP2.



Grafikon 9. Prikaz procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici metodom po Liebefeldu na TP3.



Grafikon 10. Prikaz procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici metodom po Liebefeldu na TP4.



Grafikon 11. Prikaz procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici prije tretiranja akaricidima metodom po Liebefeldu na TP5.

Tablica 1. Prikaz prosječne vrijednosti procijenjenog broja pčela po pčelinjoj zajednici metodom po Liebefeldu na testnim pčelinjacima.

LOKACIJA TESTNOG PČELINJAKA	DATUM PREBROJAVANJA	PROSJEČAN BROJ PČELA U ZAJEDNICI
Vrlika	15.07.2014.	48420
Pazin	14.05.2014.	49821
	16.07.2014.	38668
Osijek	19.05.2014.	31760
	25.07.2014.	24761
Sveti Križ Začretje	29.04.2014.	25100
	17.07.2014.	45674
Gospić	20.05.2014.	20020
	10.06.2014.	32937
	18.07.2014.	44737

Tablica 2. Prikaz prosječnih vrijednosti temperature i relativne vlage zraka te učestalosti padalina tijekom aktivne pčelarske sezone 2014. godine za meteorološke postaje Krapina, Osijek, Pazin, Gospić i Sinj (nedostaje vlaga i kišoviti dani).

METEOROLOŠKE PRILIKE (prosječne mjesečne vrijednosti)															
Mjesec 2014. godina	**Krapina (TP1)**			**Osijek (TP2)**			**Pazin (TP3)**			**Gospić (TP4)**			**Sinj (TP5)**		
	T (°C)	**RV (%)**	**KD**	**T (°C)**	**RV (%)**	**KD**	**T (°C)**	**RV (%)**	**KD**	**T (°C)**	**RV (%)**	**KD**	**T (°C)**	**RV (%)**	**KD**
Ožujak	9,9	65	8	9,5	74	9	8,9	67	5	7,0	69	10	9,5	-	-
Travanj	12,9	73	12	13,2	74	11	11,9	74	8	10,5	72	10	12,6	-	-
Svibanj	14,9	69	18	16,1	73	11	14,4	72	3	12,9	66	7	15,1	-	-
Lipanj	19,2	74	9	20,5	67	3	19,6	66	2	17,7	67	4	20,1	-	-
Srpanj	20,7	76	10	21,8	74	3	20,0	78	6	18,6	73	10	21,1	-	-
Kolovoz	19,1	79	11	20,8	76	6	19,4	79	8	18,3	72	2	20,9	-	-
Rujan	15,6	86	17	17,0	82	10	15,7	81	11	13,7	84	13	16,7	-	-
Listopad	12,8	85	9	13,3	82	9	13,3	83	8	11,2	79	7	13,7	-	-
Studeni	8,6	89	17	8,3	87	3	11,0	87	16	8,5	86	13	10,9	-	-

T = temperatura u °C; RV = relativna vlaga zraka u %; KD = broj kišovitih dana

5. RASPRAVA

U Republici Hrvatskoj propisano je obvezno prvo ljetno tretiranje pčelinjih zajednica protiv varooze u skladu sa Nacionalnim pčelarskim Programom za razdoblje od 2014. do 2016. godine (ANON, 2013.), a posljedično i Programom o suzbijanju i kontroliranju varooze u 2016. godini (ANON, 2016.). Propisan je model suzbijanja varooze koji podrazumijeva istodobnu primjenu registriranih VMP-a u svim pčelinjim zajednicama na određenim područjima istih zemljopisnih, klimatskih i pašnih prilika. Obzirom da varooza nanosi izravne i neizravne štete, pčelinjim je zajednicama u vrijeme intenzivnog uzgoja legla i mladih pčela nužno osigurati uvjete za normalan razvoj da bi ostvarile zadovoljavajuće prinose i uspješno prezimile narednu zimu. Zbog toga je redovito tretiranje i kontroliranje broja grinja *V. destructor* neophodno ako želimo govoriti o dobroj pčelarskoj praksi.

Rezultati praćenja prirodnog broja grinja otpalih na AV podnicama tijekom razdoblja predtretiranja u ovom istraživanju upućuju na promjenjivu jačinu invazije varoozom, pa je zbog toga provedeno tretiranje primjenom registriranih akaricida na bazi timola na testnim pčelinjacima, a da bi se omogućilo davanje preporuka o izboru VMP-a kao i o pravodobnosti početka tretiranja na istraživanim područjima. Podaci o meteorološkim prilikama tijekom aktivne pčelarske sezone 2014. godine prikazani u Tablici 2., a prikazuju izuzetno atipičnu pčelarsku godinu i to dosta nepovoljnu za pčelare. Tijekom pčelarski medonosne sezone velik broj dana padala je kiša, a kroz cijelu godinu su temperature zraka bile dosta niske, a tome je još i prethodila vrlo blaga zima. Zbog takvih vremenskih prilika razvoj pčelinjeg legla je počeo vrlo rano što je rezultiralo i ranijim početkom povećanja broja populacije grinja prisutnih u pčelinjim zajednicama. Razvoju invazije varooze tijekom godine pogodovale su relativno niske temperature zraka i dodatno smanjeni imunološki status zajednica uzrokovan utjecajem stresa izazvanog nedostatkom hrane u prirodi. Utjecaj vrlo nepovoljnih vanjskih čimbenika, nedostatak ili rani završetak glavnih paša i jaka invadiranost varoozom uzrokovali su nužnost relativno ranog početka prvog ljetnog tretiranja pčelinjih zajednica. Početak tretiranja pčelinjih zajednica iz kojih zbog malih zaliha u košnicama nije vrcan med, bio je već od 15. srpnja 2014. godine, jer je u istraživanim područjima već poduže trajalo bespašno razdoblje.

Ukupan broj grinja *V. destructor* otpalih nakon provedenog ljetnog tretmana VMP-ima na bazi timola – ApiLifeVar, Thymovar i Apiguard je bio statistički značajno veći ($p < 0,05$) uspoređujući s prirodnim padom grinja u razdoblju pretretmana. Tijekom tretmana navedenim akaricidima utvrđena je vrlo slična dinamika otpadanja grinja *V. destructor*. Svi VMP-i su uzrokovali postepeno povećanje broja grinja na AV podnicama tijekom prve polovice tretmana, najviše tijekom trećeg i četvrtog tjedna tretmana na testnim pčelinjacima TP 1 i 4, na testnom pčelinjaku TP 2 veći pad grinja je bio 1. i 2. tjedan tretmana dok se 3. i 4. tjedan smanjio, na testnom pčelinjaku TP3 je uočen manji pad grinja tijekom 1. i 3. tjedna tretmana nego u 2. i 4. tjednu dok je na testnom pčelinjaku TP 5 bilo obrnuto. Budući da tretman Apiguardom i ApiLifeVarom traje 28 dana, ti VMP - i su tada i izvađeni iz košnica, ali praćenje opadanja grinja nastavljeno do 42. dana, te je na testnom pčelinjaku TP 5 utvrđen pad grinja tjedan dana nakon vađenja navedenih VPA – a, pa se smatra da je uočeno produženo odnosno rezidualno djelovanje akaricida. Tretman Thymovarom traje 42 dana, pa je na testnim pčelinjacima TP 1, 2 i 3 najveći pad grinja uočen u petom tjednu tretmana, na testnom pčelinjaku TP 4 najveći pad je bio 4. i 5. tjedan, a na testnom pčelinjaku TP 5 tijekom 3. i 5. tjedna tretmana. Ovakvi nejednoliki rezultati na pojedinim pčelinjacima su rezultat različitih vanjskih temperatura tijekom tretmana s obzirom da je u pitanju aktivna tvar timol i / ili esencijalna ulja čiji intenzitet isparavanja ovisi o temperaturi zraka.

Prema rezultatima provedenog istraživanja, na testnim pčelinjacima TP 1 i 5 (prosječna dnevna temperatura zraka u vrijeme tretmana od 19 do 21 °C) najveći pad grinja je utvrđen kod primjene Thymovara (najbolja učinkovitost na temperaturi od 20 do 25 °C), dok je na testnim pčelinjacima TP 2, 3 i 4 (prosječna temperatura u rasponu od 18 do 22 C°) najveći pad grinja zabilježen nakon primjene ApiLifeVara (pogodna temperatura od 15 do 30 °C).

Ovi VMP- i su posljednjih godina prihvatljiviji za tretiranje pčelinjih zajednica jer su prirodniji, jeftiniji i manje opasni za okoliš no oni su uobičajeno slabije učinkoviti od sintetskih akaricida, ali ipak je ovim istraživanjem dokazana njihova značajna učinkovitost što je vjerojatno posljedica nižih temperatura zraka u razdoblju tretmana koja se kretala u najpovoljnijem rasponu za primjenu timolnih VMP-a.

6. ZAKLJUČCI

- Ukupni broj otpalih grinja *V. destructor* nakon provedenog ljetnog tretmana VMP-ima na bazi timola (Thymovar, Apiguard i ApiLifeVar) na testnim pčelinjacima bio je statistički značajno veći ($p < 0,05$), a uspoređujući ga s prirodnim padom grinja u razdoblju pretretmana i s kontrolnom skupinom.

- Na testnim pčelinjacima TP 1 i 4 najveći pad grinja *V. destructor* je zabilježen u 3. i 4. tjednu tretmana, na testnom pčelinjaku TP 2 tijekom 1. i 2. tjedna tretmana, na testnom pčelinjaku TP 3 tijekom 2. i 4. tjedna tretmana, dok je na testnom pčelinjaku TP 5 najintenzivnije opadanje grinja uočeno tijekom 1. i 3. tjedna tretmana.

- Na testnom pčelinjaku TP 5 utvrđeno je produženo odnosno rezidualno djelovanje akaricida Apiguard i ApiLifeVar.

- Kod tretmana Thymovarom najveći pad grinja zabilježen je u 5. tjednu na testnim pčelinjacima TP 1, 2 i 3, na testnom pčelinjaku TP 4 u 4. i 5. tjednu te na testnom pčelinjaku TP 5 u 3. i 5. tjednu tretmana.

- Na testnim pčelinjacima TP 1 i 5 najveći pad grinja je zabilježen nakon primjene Thymovara, a na testnim pčelinjacima TP 2, 3, i 4 nakon primjene ApiLifeVar-a.

- Obzirom na meteorološke prilike, odnosno niže temperature zraka u vrijeme tretmana koje su pogodovale primjeni timolnih VMP-a možemo reći da je dokazana značajna učinkovitost timolnih preparata na istraživanim područjima.

7. POPIS LITERATURE

1. ABD EL – WAHAB, T. E. , I. M. A. EBADAH, E. W. ZIDAN (2012): Control of *Varroa* mite by esential oils and formic acid with their effects on grooming behavior of honey bee colonies. J. Basic and Appl. Sci. Res. 2, 7674 – 7678.

2. AKYOL, E., H. YENINAR (2008): Controling *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies by using Thymovar and BeeVital. Italian J. Anim. Sci. 7, 237 – 242.

3. AMDAM, G. V., K. HARTFELDER, K. NORBERG, A. HAGEN, S. W. OMHOLT (2014): Altered Physiology in Worker Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) Infested with the Mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): A Factor in Colony Loss During Overwintering?. J. Econ. Entomol. 97, 3, 741 – 747.

4. ANDERSON, D. L., SUKARISH (1996): Changed *Varroa jacobsoni* reproduction in *Apis mellifera* colonies in Java. Apidologie 27, 461 – 466.

5. ANDERSON, D. L., J. W. H. TRUEMAN (2000): *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. Exp. Appl. Acarol. 24, 165-189.

6. ANON (2007): https://www.flickr.com/photos/13494188@N08/1468407192). Pristupljeno 5. kolovoza 2016.

7. ANON (2010.): http://entnemdept.ufl.edu/creatures/misc/bees/varroa_mite.htm). Pristupljeno: 5. kolovoza 2016.

8. ANON (2011): http://www.waldeneffect.org/blog/Treating_varroa_mites_organically/). Pristupljeno 6. kolovoza 2016.

9. ANON (2013): Nacionalni pčelarski Program za razdoblje od 2014. do 2016. godine. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja.

10. ANON (2015): Naredba o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju od 1. siječnja do 31. ožujka 2016. godine. N. N. 141/2015.

11. ANON (2016): Program kontrole i suzbijanja varooze u 2016. godini. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja.

12. ANON (2016) (http://www.olx.ba/artikal/21827836/kosnice-lr-podnjaca-podnica-av). Pristupljeno 6. kolovoza 2016.

13. AUMEIER, P., W. H. KIRCHNER, G. LIEBIG (2006): Topsy – turvy combs – Impact on population dynamics of honey bees (*Apis mellifera* L.) and *Varroa destructor*. EurBee, Proceedings of the Second European Conference of Apidology 2006, p. 46.

14. BOECKING, O., E. GENERSCH (2008): Varroosis – the ongoing crisis in bee keeping. J. Consum. Protect. Food Safety 3, 2, 221 – 228.

15. DE GUZMAN, L. I., M. DELGINADO – BAKER (1996): A new species of *Varroa* (Acari: Varroidae) associated with *Apis Koschevnikovi* (Apidae: Hymenoptera) in Borneo. Int. J. Acarol. 22, 23 – 27.

16. DE GUZMAN, L. I., T. E. RINDERER (1999): Indentification and comparation of *Varroa* species infesting honey bees. Apidologie 30, 85 – 95.

17. DELFINADO – BAKER, M., K. AGGARWAL (1987): A new *Varroa* (Acari: Varroidae) from the nest of *Apis cerana* (Apidae). Int. J. Acarol. 13, 233 – 237.

18. ELLIS, A. M., G. W. HAYES, J. D. ELLIS (2009): The efficacy of dusting honey bee colonies with powdered sugar to reduce *Varroa* mite populations. J. Apicult. Res. 48, 1, 72 – 76.

19. FLORIS, I., A. SATTA, P. CABRAS, V. L. GARAU, A. ANGIONI (2004): Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: effectiveness, persistence and residues. J. Econ. Entomol. 97, 2, 187 – 191.

20. GAREDEW, A., E. SCHMOLZ, I. LAMPRECHT (2004): The energy and nutritional demand of the parasitic life of the mite *Varroa destructor*. Apidologie 35, 419 – 4390.

21. GREGORC, A., I. PLANINC (2004): The Dynamics of Falling *Varroa* Mites in Honeybee (*Apis mellifera*) Colonies after Oxalic Acid Treatments. Acta Vet. Brno 73, 395 - 401.

22. GREGORC, A. (2005): Efficacy of oxalic acid and Apiguard against *Varroa* mites in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. Acta Vet. Brno 74, 441 – 447.

23. GREGORC, A., I. PLANINC (2004): The control of *Varroa destructor* in honey bee colonies using the thymol – based acaricide – Apiguard. American Bee Journal, 672 – 675.

24. HOWIS, M., P. NOWAKOWSKI (2009): *Varroa destructor* removal efficiency using Beevital Hive Clean preparation. J. Apicult. Science 53, 15 – 18.

25. IMDORF, A., S. BOGDANOV, R. I. OCHOA, N. W. CALDERONE (1999): Use of essential oils for the control of Varroa jacobsoni Oud. in honey bees colonies. Apidologie 30, 209 – 228.

26. KOENIGER, N., G. KOENIGER, N. H. P. WIJAYAGUNASEKERA (1981): Observations of the adaption of *Varroa jacobsoni* ti its natural hospit *Apis cerana* in Sri Lanka. Apidologie 12, 37 – 40.

27. KULINČEVIĆ, J. (2008): Pčelarstvo. Partenon, Beograd.

28. MARTIN, S. J. (1995): Reproduction of *Varroa jacobsoni* in cells of *Apis mellifera* containing one or more mother mites and the distribution of these cells. J. Apicult. Res. 34, 187 – 196.

29. MILANI, N., R. NANNELLI (1988): The tarsal sense organ in *Varroa jacobsoni* Oud.: SEM observations. U: Proceedings of a Meeting of EC – Expert`s Group, Udine, Italy, 71 – 82.

30. MUNOZ, I., E. GARRIDO – BAILON, R. MARTIN – HERNANDEZ, A. MEANA, M. HIGES, P. DE LA RUA (2008): Genetic profile of *Varroa destructor* infesting *Apis mellifera iberiensis* colonies. J. Apicult. Res. 47, 4, 310 – 313.

31. OIE Terrestrial Manual (2008): Varrosis of hohey bees. Chapter 2. 2. 7., 424 – 430.

32. OUDEMANS, A. C. (1904): On a new genus and species of parasitic acari. Notes from the Leyden Museum 24, 216 – 222.

33. PATZOLD, S., W. RITTER (1989): Studies on the behaviour of the honey – bee mite *Varroa jacobsoni O*., in a temperature gradient, J. Appl. Ent. 107, 46 – 51.

34. PETRINEC, Z., I. RAČIĆ, Đ. SULIMANOVIĆ. Ž. KRPAN, N. ZUJIĆ, LJ. NARDELI, Z. ŠVER, N. FIJAN (1979): Prikaz raširenosti varooze u SR Hrvatskoj i njezino suzbijanje. Vet. Arhiv 49, 59 – 60.

35. PETTIS, J. S., A. M. COLLINS, M. F. FELDLAUFER, R. WILBANKS (2004): Effects of coumaphos on queen rearing in the honeybee *Apis mellifera*. Apidologie 35, 605 – 610.

36. PUŠKADIJA, Z., D. BUBALO, M. DRAŽIĆ, N. KEZIĆ (2004): Varooza – kontrola alternativnim pristupom. Poljoprivredni fakultet Osijek, Osijek.

37. RANDY, O. (2008): Powdered sugar dusting – sweet and safe, but does it really work? Am. Bee J. 150, 1077 – 1080.

38. RADEMACHER, E., M. HARZ (2006): Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies – a review. Apidologie 37, 98 – 120.

39. RICKLI, M., P. M. GUERIN, P. A. DIEHL (1992): Palmitic acid released from honeybee workwe larvae attracts the parasitic mite *Varroa jacobsoni* on a servosphere. Naturwissenschaften 79, 320 – 322.

40. ROSENKRANZ, P., P. AUMEIER, B. ZIEGELMANN (2010): Biology and control of Varroa destructor. J. Invertebr. Pathol. 103, 96 – 119.

41. RUTTNER, F., W. RITTER (1980): Das Eindringen von *Varroa jacobsoni* nach Europa in Ruckblick. Allg. Deut. Imkerz. 14, 130 – 134.

42. SHIMANUKI, H., D. A. KNOX (1991): Diagnosis of honeybee diseases. Agriculture handbook AH – 690. USDA, Washington D. C., USA.

43. STEINER, J. (1993): Verteilung von *Varroa jacobsoni* im drohnenfreien Bienenvolk (Apis Mellifera carnica). Apidologie 24, 1, 45 – 50.

44. SULIMANOVIĆ, Đ. (1978): Akaroza i varooza u SR Hrvatskoj. Pčela 97, 10, 262.

45. SULIMANOVIĆ, Đ. (1985): Varooza. Pčelarski savez Hrvatske.

46. SULIMANOVIĆ,D., LJ. ZEBA, J. MARKOVIĆ (1995): Prepoznavanje i suzbijanje pčelinjih bolesti. PIP, Zagreb.

47. VILLA, J. D., T. E. RINDERER (2008): Inheritance of resistance to *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in crosses between selected resistant Russian and selected susceptible US honey bees (Hymenoptera: Apidae). J. Econ. Entomol. 101, 6, 1756 – 1759.

48. WARRIT, N., D. R. SMITH, C. LEKPRAYOON (2006): Genetic subpopulations of *Varroa* mites and their *Apis cerana* hosts in Thailand. Apidologie 37, 19 – 30.

49. ZIEGELMANN, B., H. STEIDLE, A. LINDENMAYER, P. ROSENKRANZ (2008): Sex pheromones triger the mating behaviour of *Varroa destructor*. Apidologie 39, 598.

8. SAŽETAK

Varooza je nametnička bolest zajednica medonosne pčele (*Apis mellifera*) uzrokovana hematofagnom grinjom *Varroa destructor*. Obzirom da varooza uzrokuje velike gubitke u pčelarstvu, postoji nužnost i zakonska obveza kontroliranja bolesti. Prepoznavanje i praćenje epidemiološke slike varooze na nekom području je temelj za uspješno suzbijanje iste. Trenutačno su za primjenu u veterinarskoj medicini, za kontroliranje varooze registrirana su tri veterinarsko medicinska proizvoda na bazi timola (ApiLifeVar, Thymovar i Apiguard). Obzirom da je prvo ljetno tretiranje pčelinjih zajednica obvezno, utvrđivanje učinkovitosti navedenih akaricida omogućit će preporuku pčelarima o izboru primijenjenih VMP-a kao i pravodobnosti tretiranja na istraživanim područjima. Stoga je cilj ovog istraživanja bio utvrditi broj otpalih grinja *V. destructor* prije i tijekom obveznog ljetnog tretmana protiv varooze, usporediti učinkovitost pojedinog primijenjenog akaricida na svakom pčelinjaku, međusobno lokacije pčelinjaka te povezati s pašnim i klimatskim prilikama na svakoj.

Ključne riječi: varooza, pčelinje zajednice, testni pčelinjak, ljetni tretman, timol, ApiLifeVar, Apiguard, Thymovar.

9. SUMMARY

APPLIANCE OF THYMOL BASED ACARICIDES FOR TREATMENT OF HONEYBEE COLONIES AGAINST VAROOSIS

Varoosis is a parasitic disease of honey bees (*Apis mellifera*) caused by hematophagous mite *Varroa destructor*. Since varoosis causes great losses in beekeeping, there is a necessity and a legal obligation to control the disease. Identifying and monitoring the epidemiological picture of varoosis on a certain area is the precondition to prevent the disease. Currently, for use in veterinary medicine, for controlling varoosis, there are three registered veterinary medical products based on thymol (ApiLifeVar, Thymovar and Apiguard). Since the first summer treatment of bee colonies is required, determining the effectiveness of those acaricide will allow beekeepers the recommendation on the selection of applied VMP as well as the timeliness of treatment in the study area. The purpose of this study was to determine the number of fallen mites *V. destructor* before and during the compulsory summer treatments against varoosis, calculate the overall efficiency of each acaricide based on thymol, compare the effectiveness of each acaricide applied at each apiary, each apiary sites and connect with pasture and climate conditions on each.

Key words: varoosis, honeybee colonies, test apiary, summer treatment, thymol, ApiLifeVar, Apiguard, Thymovar.

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 21. svibnja 1990. godine u Zaboku. Osnovnu školu „Side Košutić“ pohađala sam u Radoboju. Nakon završene osnovne škole upisala sam smjer prirodoslovno – matematičke gimnazije u Srednjoj školi Krapina, gdje sam maturirala 2009. godine. Iste godine upisala sam Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu gdje sam apsolvirala 2015. godine.