



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Департман за ветеринарску медицину



Иван Копривица

НАЈЗНАЧАЈНИЈИ ЕТИОЛОШКИ
ФАКТОРИ У НАСТАНКУ СИНДРОМА
НЕСТАЈАЊА ПЧЕЛА

Нови Сад, 2019.



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Департман за ветеринарску медицину



Кандидат:
Иван Копривица

Ментор:
Др Нада Плавша

НАЈЗНАЧАЈНИЈИ ЕТИОЛОШКИ
ФАКТОРИ У НАСТАНКУ СИНДРОМА
НЕСТАЈАЊА ПЧЕЛА

Дипломски рад

Нови Сад, 2019.

**КОМИСИЈА ЗА ОЦЕНУ И ОДБРАНУ
ДИПЛОМСКОГ РАДА**

Др Нада Плавша, редовни професор - Ментор

за ужу научну област Болести животиња и хигијена анималних производа

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Департман за ветеринарску медицину

***Др Александар Поткоњак, ванредни професор - Председник
комисије***

за ужу научну област Ветеринарска микробиологија и заразне болести

животиња

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Департман за ветеринарску медицину

Др Драган Роган, редовни професор - члан

за ужу научну област Ветеринарска микробиологија и заразне болести

животиња

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Департман за ветеринарску медицину

Садржај

| | |
|---|----|
| 1. Увод | 1 |
| 2. Преглед литературе | 3 |
| 2.1. <i>Varroa destructor</i> | 3 |
| 2.1.1. Морфологија варое | 3 |
| 2.1.2. Биологија варое..... | 4 |
| 2.1.3. Патогени ефекти варое и њихов значај у настанку <i>CCD</i> -а..... | 5 |
| 2.1.4. Антиварозни третмани и њихов значај у настанку <i>CCD</i> -а..... | 6 |
| 2.1.5. Синергизам варое са другим потенцијалним факторим у настанку <i>CCD</i> -..... | 7 |
| 2.2. <i>Acarapis woodi</i> | 7 |
| 2.2.1. Морфологија <i>Acarapis woodi</i> -ја..... | 8 |
| 2.2.2. Биологија и циклус развоја акараписа..... | 8 |
| 2.2.3. Патогени ефекти акараписа и њихов значај у настанку <i>CCD</i> -а..... | 9 |
| 2.3. Израелски вирус акутне парализе пчела..... | 10 |
| 2.3.1 Структура вириона и карактеристике <i>IAPV</i> | 11 |
| 2.3.2. Патологија и трансмисија вируса | 11 |
| 2.3.3. Корелација израелског вируса акутне парализе пчела и синдрома нестјања | 12 |
| 2.4. Ноземоза | 13 |
| 2.4.1. <i>N. ceranae</i> -циклус развоја и патологија..... | 13 |
| 2.4.2. Утицај нозема на настанак <i>CCD</i> -а | 14 |
| 2.5. Кречно легло | 15 |
| 2.5.1. Фактори настанка кречног легла..... | 16 |
| 2.5.2. Кречно легло и <i>CCD</i> | 17 |
| 2.6. Америчка куга пчелињег легла | 17 |
| 2.6.1. Патогенеза и клиничка слика АКПЛ..... | 18 |
| 2.6.2. АКПЛ и <i>CCD</i> | 18 |
| 2.7. Антропогени фактори значајни за настанак <i>CCD</i> -а | 19 |
| 2.7.1. Апитехника..... | 20 |
| 2.7.2. Пестициди из групе неоникотиноида | 21 |

| | |
|---|----|
| 2.7.2.1. Ефекти неоникотиноида на репродукцију | 22 |
| 2.7.2.2. Ефекти неоникотиноида на понашање пчела | 22 |
| 2.7.3. Малнутриција..... | 23 |
| 2.7.3.1. Ризици везани за исхрану и настанак СНП..... | 24 |
| 2.7.4. Електромагнетно зрачење..... | 26 |
| 2.7.5. Климатске промене | 27 |
| 2.8. Еколошки ефекти синдрома нестајања пчела | 28 |
| 2.9. Економски ефекти синдрома нестајања пчела..... | 29 |
| 2.10. Губици пчелињих заједница у Србији | 29 |
| 2.11. Стратегије за сузбијање синдрома нестајања пчела..... | 30 |
| 3. Циљ и задатак рада..... | 32 |
| 4. Материјали и методе | 33 |
| 5. Закључак..... | 34 |
| 6. Литература | 34 |

Резиме

Почетком 21. века уочен је феномен прогресивног нестајања пчела нејасне етиологије. Овај феномен је детерминисан као синдром нестајања пчела- *Colony Collapse Disorder (CCD)*.

Синдром карактерише постепено нестајање радилица из пчелиње заједнице до те мере да у кошници остаје само неколицина пчела које прате матицу. Оно што је интересантно јесте да се у кошници и њеној непосредној околини не могу наћи угинуле пчеле иако оне ишчезавају из заједнице чак и поред задовољавајућих залиха хране.

Због комплексне етиологије овог синдрома, бројним научним студијама детерминисани су потенцијални узроци, међутим тачан узрок ове појаве до данас није одређен.

Детектовани потенцијални узроци се деле на две велике групе, биолошке и антропогене факторе. У биолошке факторе спадају *Varroa destructor*, *Acarapis woodi*, израелски вирус акутне парализе пчела, *Ascospheara apis*, *Nosema apis*, *Nosema ceranae*, *Paenibacillus larvae*. У антропогене факторе спадају фактори који негативно утичу на пчеле, а резултат су људске активности као што су: апитехника, неконтролисана употреба пестицида, климатске промене, електромагнетно зрачење,...

Самостално деловање неког од фактора не може да узрокује појаву синдрома нестајања пчела, али утицај два или више фактора може, због синергистичких и потенцирајућих ефеката појединих фактора.

Појавом овог синдрома угрожен је опстанак пчеле као врсте, а смањење популације пчела за собом повлачи негативне еколошке и социо-економске последице.

Кључне реч: синдром, нестајање, пчеле, вароа, пестициди

Abstract

At the beginning of the 21st century, the phenomenon of progressive disappearance of the bee of obscure etiology was noticed. This phenomenon is determined as the disappearance of bees- Colony Collapse Disorder (CCD).

The syndrome is characterized by the gradual disappearance of worker bees from the bee community to the extent that only a few bees that accompany the queen remain in the hive. What is interesting is that dead bees can not be found in the hive and its immediate surroundings, even though they disappear from the community, even in addition to satisfying food supplies.

Due to the complex etiology of this syndrome, numerous scientific studies have identified potential causes, but the exact cause of this phenomenon has not been determined to date.

Detected potential causes are divided into two large groups, biological and anthropogenic factors. The biological factors include *Varroa destructor*, *Acarapis woodi*, Israeli virus of acute paralysis of bees, *Ascospheera apis*, *Nosema apis*, *Nosema ceranae*, *Paenibacillus larvae*. Anthropogenic factors include factors that negatively affect bees, and result in human activities such as: commercial beekeeping, uncontrolled use of pesticides, climatic changes, electromagnetic radiation, ...

The independent action of one of the factors can not cause the appearance of a bee disappearing syndrome, but the influence of two or more factors can, due to the synergistic and potent effects of certain factors.

The occurrence of this syndrome is threatened by the survival of the bee as a species, and the decrease in the bee population is exacerbated by negative ecological and socio-economic consequences.

Key words: colony collapse disorder, varroa destructor, pesticides

1. Увод

Последњих деценија широм света је уочен феномен прогресивног нестајања пчела. Овај феномен је назван синдромом нестајања пчела - *Colony Collapse Disorder-CCD*. И поред великих напора да се разуме ова појава, *CCD* је и даље у великој мери нејасан широј научној заједници и самим пчеларима.

Сама улога пчела у различитим екосистемима је од изузетног значаја јер су пчеле главни полинатори у природи, и велики број биљних и животињских врста су директно или индиректно зависне од активности пчела. Такође човек као врста у великој мери зависи од пчела. Једна трећина хране која се произведе за хуману популацију зависи од полинаторске активности пчела.

CCD карактерише континуирано нестајање пчела радилица из пчелиње заједнице, при чему се у кошници и њеној непосредној околини не могу запазити угинуле пчеле. Губитак пчела може бити такав да на крају у кошници остане само један мањи кластер, од неколико десетина пчела, који прати матицу. Оно што овај поремећај чини интересантнијим јесте да се у кошници могу наћи значајне количине депонованог полена и меда.

Нозолошки опис овог синдрома је прилично једноставан, међутим етиологија овог обољења је изузетно комплексна и неразјашњена. Интезивним научноистраживачким радом одређени фактори су доведени у везу са овим обољењем и развијен је велики број теорија о настанку *CCD*-а. Фактори који су детерминисани као потенцијални се могу класификовати у две две велике групе а то су природни и антропогени фактори. Природни фактори су паразити (вароа, и различити патогени пчела, док у антропогене факторе спадају: прекомерна изложеност пчела пестицидима, веома интезивно пчеларење које премашује биолошка ограничења пчела, лоша исхрана пчелиње заједнице, артефицијална оплодња матице семеном недовољног генетичког варијабилитета,... Човек је за потребе пољопривредне производње, одузео пчелама велики део њиховог природног станишта. Такође постоје индиције да употреба мобилних телефона може утицати на имунолошке механизме пчела и да може да поремети њихов

систем за навигацију у природи због чега пчеле нису у стању да пронађу своју пчелињу заједницу.

Због тесне симбиотске повезаности између пчела и биљака, јасно је да је ова веза апсолутно нераскидива, међутим из ове симбиотске релације постоји и корист за друге специјесе па се због тога пчеле сматрају значајним фактором за одржавање биодиверзитета и представљају један од главних индикатора еколошке вредности. Смањењем броја пчела, постојање појединих биљних и животињских врста у оквиру екосистема би било угрожено.

CCD-а за собом повлачи значајне еколошке проблеме, међутим и поред еколошких проблема ситуација се додатно погоршава са појавом социоекономских проблема. Значајно смањење популације пчела би последично довело до смањене продукције хране, те би се јавила потреба за увозом хране, а последично би дошло до трговинског дефицита. Стога, јасно је да је *CCD* питање које је од државног значаја. Бољим разумевањем *CCD*-а омогућиће се развијање различитих стратегија за очување пчелињих заједница.

2. Преглед литературе

Велики број потенцијалних нокси које узрокују *CCD*, самостално не доводе до појаве синдрома, али у комбинацији са другим факторима провоцирају настанак тешког поремећаја чији је крајњи резултат пропаст читаве пчелиње заједнице.

2.1. *Varroa destructor*

Varroa destructor је примарни паразит пчела и данас представља велику претњу пчелама. Вароа је значајан проблем јер се ови крпељи брзо шире, а друштва слободна од варозе су данас раритети, изузев у Аустралији. Процењује се да уколико би изостали периодични антиварозни третмани, дошло би до значајног губитка пчелињих заједница већ за 2-3 године [1]. Разлог овоме је што је паразитски однос између пчеле и варое значајно нарушен интензивним пчеларством, јер се отпорност заједнице значајно смањује, а инвазивност крпеља повећава. Варое су уједно вектори различитих обољења.

2.1.1. Морфологија варое

Вароа је изузетно ситна, дужина женке је 1,5-1,99 милиметара, док је дужина мужјака 0,8-0,97 милиметара. Мужјаци су димензијама мањи од женки у свим развојним стадијумима. Тело је прекривено хитинским омотачем на коме се налазе израштаји у виду длачица [3]. Усни апарат је прилагођен за бодeње и сисање хемолимфе. Вароа као и све остале акарине поседује четири пара снажних ногу. Код варое је изражен полни диморфизам, а сама морфологија паразита је посебно прилагођена свом домаћину. Код мужјака и женке се налазе два добро дефинисана главна дела тела идиосом и гнатосом. Идиосом женке чине дорзални и вентрални штит, а идиосом је савршен и елипсоидног облика, а његова ширина је већа од његове дужине. Ноге женке су кратке и снажне, а на њима се налазе посебне структуре које омогућавају адхеренцију за домаћина тзв. апотеле [4]. Дорзални и вентрални штит су високо склеротизовани, а колоритет штитова је варијабилан и креће се од браон до црвене боје. Између штитова се налазе танке и фелксібилне мембране које се могу дилатирати приликом храњења и генезе јаја.

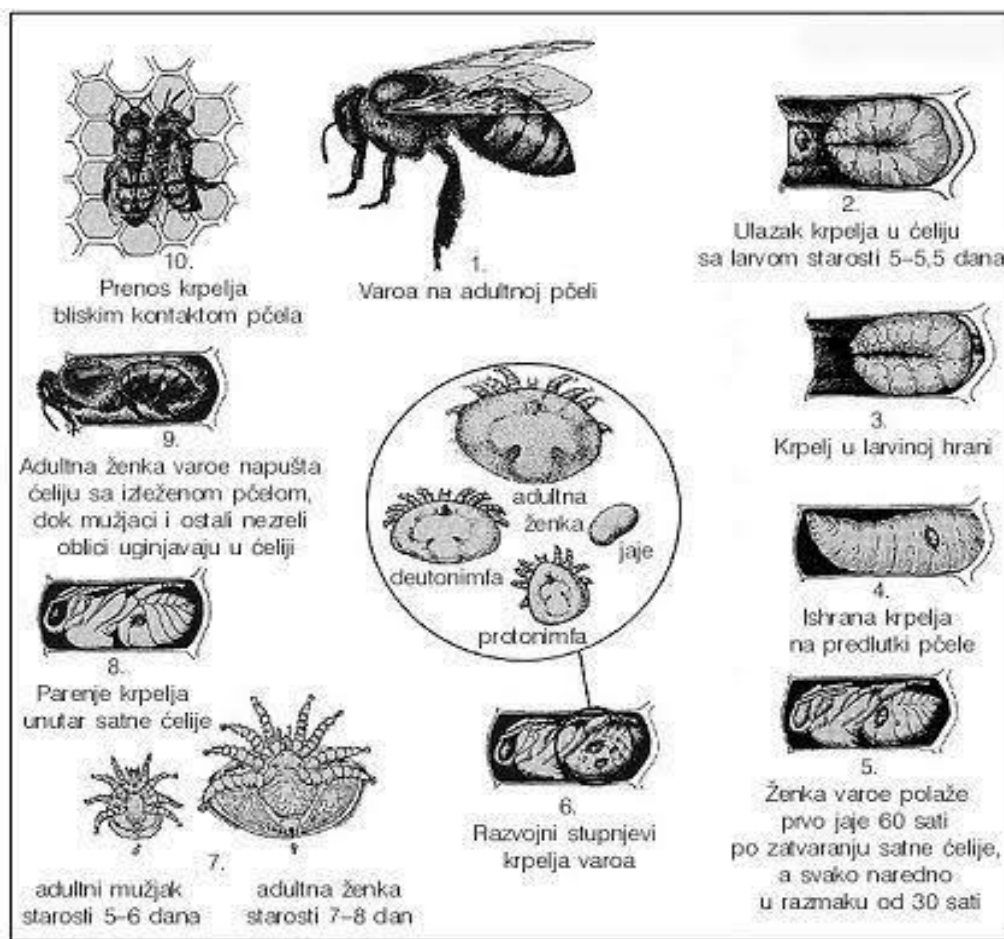
Ноге мужјака су дуже од ногу женки. Гнатосом мужјака формира усни део, на коме се налазе два сензорна педипалпа и две хелицере. Хелицере су тросегментне, а код женке је последњи сегмент покретан. Последњи сегмент код мужјака је трансформисан у сперматодактил, тј. једну цевасту структуру која омогућава администрацију семена у женски репродуктивни апарат.

Женски репродуктивни апарат чине јајник, утерус и вагина, а отвор гениталног система се налази између другог пара ногу на вентралној страни абдомена и на овом отвору се ослобађају јаја. Женка поседује и два соленостома тј. отвора који служе да прихватање семена које се потом депонује у сперматеци. Генитални систем мужака чини један тестис смештен у задњем делу тела. Из тестиса полазе две деферентна канала који се уливају у ејакулаторни дуктус [1].

2.1.2. Биологија варое

Живот варое је у тесној вези са животом пчеле, а код варое не постоје слободноживећи облици, стога вароа је облигатни паразит. Варое инфестирају пчеле и хране се њиховом хемолимфом [5], на одраслим пчелама се могу задржати дужи временски период, такође зимски период проводе на радилицама. Њихов хабитат су обично интесегментарни простори на абдомену [6].

Репродуктивни циклус започиње када варое напусте одрасле пчеле и када улазе у ћелије саћа у којима се налази легло. Ови паразити имају значајно већи афинитет ка трутовском леглу него ка радиличком леглу. Ћелије легла матица обично нису инвадирана, али се и то може догодити у случајевима тежих инфестација пчелиње заједнице [7]. Након уласка у ћелију саћа женка урања у храну ларве и ту остаје све док ћелија не буде поклопљена. Када се ћелија затвори вароа напада, сада већ развијену предлутку и почиње да се храни њеном хемолимфом. Након 60-70 сати женка варое положи неких 5-6 јаја у ћелији. Да би јаја се развила у адултне облике, циклус развоја чине и два јувенилна облика а то су облик протонимфе и деутонимфе (Слика 1) [8]. Из оплођених јаја се развијају женке а из неоплођених јаја се развијају мужјаци, по тзв. хапло-диплоидном типу размножавања [9]. Циклус развоја варое се упоредо завршава са развојем пчеле где ћелију напуштају адултне женке, док мужјаци обично пропадају у самој ћелији.



Слика 1: Упоредни развој вароје и пчеле

Извор <http://spov.info>

2.1.3. Патогени ефекти вароје и њихов значај у настанку CCD-а

Вароа има вишеструке утицаје на пчелу као јединку, самим тим и на пчелињу заједницу. Честим поновљеним храњењем вароје на ларвама и адултним јединкама долази до стварања лезија које крпељи механички праве.

Храњењем хемолимфом, пчелама се редукује значајна количина протеина у организму, затим долази до губитка воде а код ларви долази до нарушавања органогенезе [10],[11]. Синергистичким дејством паразита и појединих вируса које преносе, може доћи до значајних промена у морфологији пчеле, обично се јављају промене у виду деформисаних крила, скраћења абдомена и смањења величине пчеле. Ове промене значајно утичу на виталност и дуговечност пчела, такође се смањује и дужина трајања лета и смањује се оријентациона способност пчеле [10], [12], [13], [14], [15].

Крпељи својом активношћу, могу да смање активност имунолошког система, тако што блокирају експресију имунолошки зависних гена, што последично доводи до

имуносупресије и повећања титра вируса деформисаних крила. Оба ова ефекта смањују способност преживљавања радилица и нарушавају радну кондицију пчелиње заједнице [16],[17]. Пчеле које презимљавају живе краће уколико се на њима налазе варое, него пчеле које су слободне од варое, стога је *Varroa destructor* главни узрок зимских губитака. Такође масовно афектирана кошница није у стању да у пролеће формира снажну пчелињу заједницу што је један од разлога нестајања колонија [18].

Поред саме варое у настанку *CCD*-а, важно је напоменути и контролу варое акарицидима, који могу самостално или синергистички са другим директним или индиректним факторима допринети губитку колонија.

2.1.4. Антиварозни третмани и њихов значај у настанку *CCD*-а

Због инвазивности варое било је неопходно развити различите третмане који ће значајно редуковати паразитску инфестацију. Седамдесетих година прошлог века, препарати који су били најчешће коришћени у третману варое су бромпропилат, флувалинат, амитраз, кумафос и инсектициди из групе пиретроида. Међутим 1995. године на подручју европског континента уочена је појава резистенције варое на ове хемијске препарате. Због дуготрајне употребе ових препарата, који нису имали 100% ефикасност, фаворизовано је преживљавање вароа које су биле отпорније на ова хемијска једињења. Негативном селекцијом високоотпорних вароа, одређени препарати као што су флувалинат и пиретроиди постали су готово неупотребљиви у контроли варое [19],[20]. Упркос променама третмана који су коришћени у контроли варое, резистенција се постепено проширивала и на друге препарате као што су кумафос и амитраз [21],[22].

Смањење ефикасности акарицидних препарата довело је до тога да популације вароа нарасту до импозантних величина, а раст популације варое је у директној вези са синдромом нестајања пчела [23]. Међутим умењење ефикасности има и индиректне последице које су значајне за *CCD*. Повећање резистенције за собом повлачи повећање доза и учесталости апликовања акарицида, те последично долази до повећања концентрације резидуа примењених једињења. Количина и број различитих једињења, посебно липосолубилних, који се могу наћи у пчелињим производима је алармантан [24]. Проблем резистенције варое постаје све већи, али се повећава и осетљивост пчела

на токсичност акарицида, што додатно компликује ситуацију. Доказано је да су токсични ефекти флувалината значајно већи на младе пчеле уколико се примени у комбинацији са кумафосом, истовремено, или пак у различитим временским интервалима због заостајања резидуа [25].

Поред токсичних међусобних интеракција самих акарицида, они постају токсичнији и у комбинацији са пестицидима који се користе за различите третмане пољопривредних култура. Интеракција између акарицида и пестицида је неретко фатална за пчелињу заједницу [26].

2.1.5. Синергизам варое са другим потенцијалним фактором у настанку CCD-а

Поједине пчелиње заједнице угинуле са симптомима СНП су имале низак ниво инфестације вароама, па се из тог разлога овај синдром не може директно повезати и приписати само варои, јер је за настанак СНП неопходан синергизам са другим факторима [27]. Група научника је доказала да паразити *Varroa destructor* и *Acarapis woodi*, имају удружено паразитско деловање на пчелу као јединку, али и на нивоу пчелиње заједнице [28].

Од посебног значаја за настанак СНП је синергизам варое са вирусом. Од вируса који су најчешће налажени у крпељима су вирус деформисаних крила и вирус акутне парализе пчела. Вароа, поред тога што је вектор вируса, делује и имуносупресивно на одбрамбене механизме пчеле. Смањењем имунолошког надзора у телу пчеле, омогућена је слободна и несметана мултипликација вируса који својим умножавањем уништавају интегритет ћелија пчеле.

Инфестација вароом је метаболички веома исцрпна за пчелу, и поред смањења количине протеина у организму пчеле, смањује се и количина масти. Редукција количине липида је критична јер пчелу чини осетљивијом на деловање пестицида [23].

2.2. *Acarapis woodi*

Acarapis woodi је паразитска акрина пчела која се настањује у трахеалним цевчицама пчела. Не налази се као паразит код других врста осим код медоносне пчеле. Овај паразит има најзначајни утицај на пчеле радилице јер смањује њихове радне перформансе својим патогеним ефектима [28].

Акараписи веома брзо прелазе са пчеле на пчелу, те се брзо се шире и међу колинијама. Ова болест пчелиње заједнице први пут је откривена почетком двадесетог века и болест се до данас значајно проширила [29]. Тачан патогени ефекат на пчеле није у потпуности разјашњен јер се акариоза као самостална болест пчелиње заједнице ретко среће, обично акараписи имају потенцирајући патогени ефекат са другим паразитима пчела. Студија која је спроведена у Америци 2007. године када је идентификован велики губитак пчелињих заједница, је доказала акараписе у 24% узорака [30].

2.2.1. Морфологија *Acarapis woodi*-ја

Овај паразит припада фамилији *Tarsonemida*. Акарина је веома осетљива на услове спољашње средине и веома брзо пропада за свега 24-48 часова. Не постоје слободноживећи облици, већ се ради о облигатном паразиту. Акараписи су беличасти и овалног облика, имају глатку и сјајну кутикулу, а на телу и ногама имају неколико длака. Паразити је микроскопских димензија, дужина женке се креће од 123 до 180 микрометара док је ширина 76 до 100 микрометар.

Идиосом женке је овалног до крушколиког облика, дорзални штит је благо склеротизован са благим и нејасним пунктацијама на површини. Величина мужјака се креће од 86-116 микрометара, а његова ширина је од 60-85 микрометара [5].

Паразит је компактне грађе нема изражене сегментираниости, глава и груди чине једну целину која је означена као цефалоторакс. Као и све акарине, акарапис такође поседује четири пара ногу, од којих је последњи пар ногу закржљао. Ларвални стадијуми имају само три пара ногу. Усни апарат је кљунаст и издужен, адаптиран је за сисање хемолимфе пчела, паразити помоћу рила пробијају трахеалне зидове и доспевају до хемолимфе.

2.2.2. Биологија и циклус развоја акараписа

Acarapis woodi се среће у први торакалним трахеалним цевчицама (слика 2.), а неретко се налазе и у абдоминалним и торакалним ваздушним врећама пчеле. Паразит инфеситра радилице, трутове али и матицу. Одрасле женке паразита су облици који напуштају свог домаћина и проналазе нове пчеле. На инфестацију су најпријемчивије младе пчеле, сматра се да је разлог томе што након деветог дана живота пчеле, спиракуле постају непроходне за паразита те не може да дође до

инфестирања [31]. Пчеле које су млађе од четири данас су посебно атрактивне за женку крпеља, јер пчеле продукују одређена угљоводонична једињења који су снажни атранкти за акараписа. Женка акарапис се веом брзо закачи за спиракуле и брзо мигрира до трахеје. Након два дана од инфестирања, женка акараписа полаже 5 до 7 јаја. За три до четири дана из јаја се изводе хексаподни ларвални стадијум, који траје око недељу дана пре него што се ларва преобрази у нимфални облик. Мужјаци постижу зрелост након 11 до 12 дана од лежења из јајета, док женкама је потребно нешто више времена неких 14 до 15 дана пре него што достигну полну зрелост [32],[33],[34],[35].

Приликом анализе пчелињих друштава код сумње на акариозу, могу се наћи различити степени инфестираности пчелињег друштва а то се обично објашњава дужином животног века пчеле. Обично се код летњих пчела среће значајно мањи број паразита, из разлога што летње пчеле у просеку живе око месец дана, док пчеле које презимљавају имају животно век од 5 до 6 месеци. Код зимских пчела може да се смени више од 6 генерација крпеља, те се у трахејама могу наћи стотине паразита.

Сви развојни облици паразита се налазе у трахеји и ту перзистирају, изузев женки које могу да напусте свог тренутног домаћина како би пронашле новог. Иако женке акараписа могу да напусте пчелу, ван домаћина живе свега пар сати тако да брзо морају да нађу нови хабитат. Ширење паразита унутар заједници се због тога одвија најчешће директним контактом јединки.

Међу колонијама трансимисија се обично обавља посредством трутова, али у преносу паразита значајан је и антропогени фактор. На трутовима се налази већи број мигрирајућих женки и различитих развојних стадијума паразита у односу на пчеле радилице [36].

2.2.3. Патогени ефекти акараписа и њихов значај у настанку CCD-а

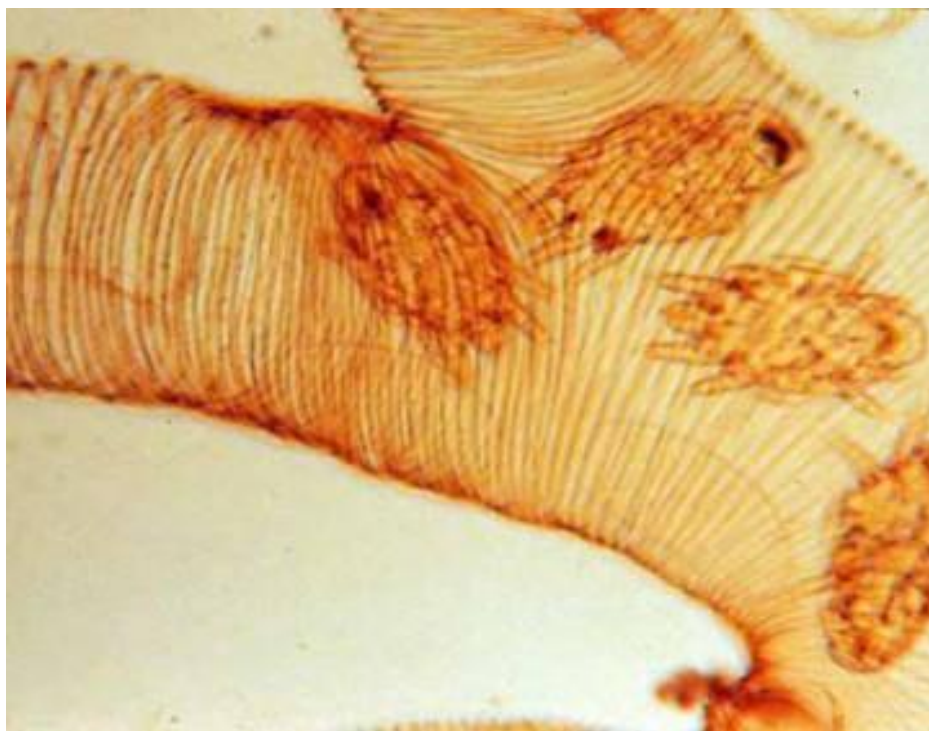
Акараписи се хране хемолимфом и значајно редукују виталност пчеле и њену радну способност. Пчеле се обично некоординисано крећу и скакућу. Животно век пчеле се скраћује, те друштво није у стању да произведе довољан број нових пчела па се и сама колонија смањује.

Акараписи пенетрирају кроз зидове трахеја и на тај начин омогућавају и пролазак бактеријама у хемолимфу пчела, пчеле које имају већи број бактерија у

хемолимфи су подложније другим обољењима, како бактеријским тако и вирусним [5].

Тежина инфестације је у директној вези са зимским губицима јер пчеле не могу да преживе зиму, због паразита који свој циклус развоја наставља и током зиме [37].

Већ је дефинисано даје *CCD* мултикаузалне етиологије. Као један од етиолошких агенаса наведен је и *Acarapis woodi* због синергистичких потенцирајућих односа са другим патогеним факторима. Акараписи смањују број пчела радилица, али се смањује и број ларви у кошници. Стимулишу губитак зимског кластера пчела, смањују мишићну функцију пчела и њихову способност летења али и одржавања температуре у кошници што је од посебног значаја током зимског периода, Каскада одвих ефеката има за последицу смањење кохезије пчелиње заједнице што резултује њеним крајњим колапсом [38].



Слика 2: Адултни облици акараписа у трахеалним цевчицама пчеле

Извор: beeaware.org.au

2.3. Израелски вирус акутне парализе пчела

Ранија истраживања здравих и колонија афектираних *CCD*-ем, у Сједињеним Америчким Државама, доказала су значајну корелацију између *CCD*-

а и израелског вируса акутне парализе пчела (Israeli acute paralysis virus-IAPV) [30]. Вирус је први пут идентификован 2004. године [39].

Инфекција IAPV узрокује скраћење животног века пчеле, чиме се угрожава и опстанак целокупне пчелиње заједнице. Такође је доказано да инфекција овим вирусом смањује оријентациону способност пчеле те оне имају проблема у проналажењу кошнице приликом повратка са паше [40]. Вирус се веома брзо шири, а ширењу вирус значајно доприноси његов биолошки вектор вароа [41].

2.3.1 Структура вириона и карактеристике IAPV

Израелски вирус акутне парализе пчела је РНК вирус, припада фамилији *Dicistroviridae*. Геном вируса чини линеаран, једноланчани, позитивно оријентисани РНК. РНК геном се састоји од 8500-10200 нуклеотида [42]. У геному се налазе две одвојене зоне које ОРФ-1 и ОРФ-2, које су одговорне за кодирање структурних тзв. капсидо-формирајућих јединица али и неких неструктурних полипротеинских компоненти. Полипротеини који се синтетишу, синтетишу се обично у нефункционалном облику, те вирусне протеазе врше посттранслационе модификације образујући функционалне компоненте.

Капсид је икозоедралне симетрије, протеинске структуре, а основу капсида чини протомер. Протомери су подељени у четири субјединице које су означене као VP1, VP2, VP3 и VP4 [43].

Да би дошло до инфекције ћелије домаћина мора доћи до ослобађања вирусног геном из вириона. Потом, мора доћи до транспорта вириона преко биолошке мембране у цитоплазму ћелије домаћина. Не постоји довољно информација о начину инфичирања, али се сматра да вирион доживљава одређене структурне промене те долази до рецепторских интеракција између вириона и ћелије домаћина, а потом с формира ендозом који служи за доставу вирусног генома у ћелију домаћина [43].

2.3.2. Патологија и трансмисија вируса

Израелски вирус акутне парализе пчела (ИВАП) се обичо среће у ниском титру код појединих пчела али и на нивоу колоније, не узрокујући значајне клиничке промене Израелски вирус акутне парализе пчела је типичан вирус из

фамилије дицистровируса, те га као и већину припадника ове фамилије карактерише висока вируленција када се артефицијелно ињектира у ларве или одрасле пчеле, са мање од 100 вирусних партикула долази брзо до смрти [44],[45],[46],[47].

Код одраслих пчела које су инфициране леталном дозом вируса, долази до смрти, али пре угињавања долази до појаве симптома као што су: прогресивна парализа, дрхтање, смањена способност оријентације, немогућност летења, губитак длачица са торакса и абдомена и постепено тамњење тела пчеле [44],[47],[39].

Најзначајнији начин преноса вируса јесте индиректни пут, посредством биолошког вектора *Varroa-e destructor* [29]. Вирус у пчеле доспева приликом храњења варое и то је главни пут преноса вирус. Вароа својим патогеним ефектима доприноси лакшем инфицирању пчела. Други начини преноса вируса су међусобни физички контакт одраслих пчела, затим када инфицирана пчела храни легло те долази до ране инфекције или у случају када пчеле хигијеничарке избацују пчеле угинуле од ИВАП [29].

2.3.3. Корелација израелског вируса акутне парализе пчела и синдрома нестајања

Веза између ИВАП и *CCD*-а је доста комплексна. Копије вирусног генома се могу наћи у кошницама захваћеним *CCD*-ем, али се вирус може наћи и у кошницама које нису захваћене *CCD*-ем, што значи да корелација између вируса и *CCD*-а и није значајна [48]. Међутим, филогенетске анализе су ипак доказале да је ИВАП значајан као узрок настанка *CCD*-а [49]. Разлог доношења закључака који су у међусобној супротности међу научницима је тај што вирусне инфекције у пчелињој заједници неретко могу да остану неоткривене и у субклиничкој форми. Различити стресогени фактори који утичу на имунитет пчела доводе до активације вирусних инфекција при чему постају клинички манифестне инфекције [50],[51]. Најчешћи активатори инфекције вирусима су инсектициди [52], климатски стресогени фактори, коинфекције или инфестације различитим паразитима [50],[53]. Због тога постоји недоумица да ли колоније које су захваћене *CCD*-ем подложније вирусним инфекцијама те се лако инфицирају или је вирусно оптерећење радилица узрок *CCD*-а.

Ситуацију додатно компликује генетска варијабилност ИАПВ јер је изолован велики број различитих сојева у различитим случајевима појаве *CCD*-а.

Објављен је велики број студија у којима је вирус ИАПВ изолован као доминантан патоген из кошница које су манифестовале симптоме CCD-а [54],[49],[55],[56],[57],[58],[59]. Међутим, једна студија у којој су здраве колоније вештачки инфициране вирусом ИАПВ су почеле да пропадају, али експеримент није успео да репродукује симптоме CCD-а, јер су мртве пчеле нађене у непосредној околини кошница [60]. Ово је доказ да је израелски вирус акутне парализе пчела значајан етиолошки чинилац, али су неопходни и други етиолошки фактори.

2.4. Ноземоза

Ноземоза је гљивично обољење узроковано микроспоридијама. Узрочници ноземозе су *Nosema apis* и *Nosema ceranae*. Ова два паразита раније су сврставана у протозое али су детаљним анализама генома рекласификована у гљивице. Оно што је главна карактеристика нозема је њихов начин живота, оне живе као облигатни интрацелуларни паразити. Ноземе живе и репликују се у епителним ћелијама средњег црева, а њихова главна разлика је та што *N. ceranae* за разлику од *N. apis* инвадира и друге органе и значајно је патогенија и инвазивнија, с тога *N. ceranae* је значајнија у патогенези CCD-а.

2.4.1. *N. ceranae*-циклус развоја и патологија

Пчеле се ноземама заразе ингестијом инфективних спора. Споре потом доспевају у вољку где се стварају повољни услови, те долази до њихове герминације, а потом инвазије епителних ћелија. Циклус развоја нозема је доста комплексан и одвија се унутар епителних ћелија средњег црева, а развојни циклус се завршава за свега пет дана [5] У току умножавања нозема долази до смене мерогоније и спорогоније (Слика 3).

Први развојни облик јесте примарни меронт двоједарне структуре [61] из кога потом настаје примарни споронт који се надаље развија у примарни споробласт а затим у примарну спору. Мерогонијалну фазу карактерише веома брз развој гранулираног ендоплазматичног ретикулума [62] што указује на изузетну метаболичку активност паразита. Овде се завршава први део циклуса и започиње се друга фаза развоја. Прва етапа у другој фази развоја јесте формирање секундарног меронта, затим се формира секундарни споронт. Из

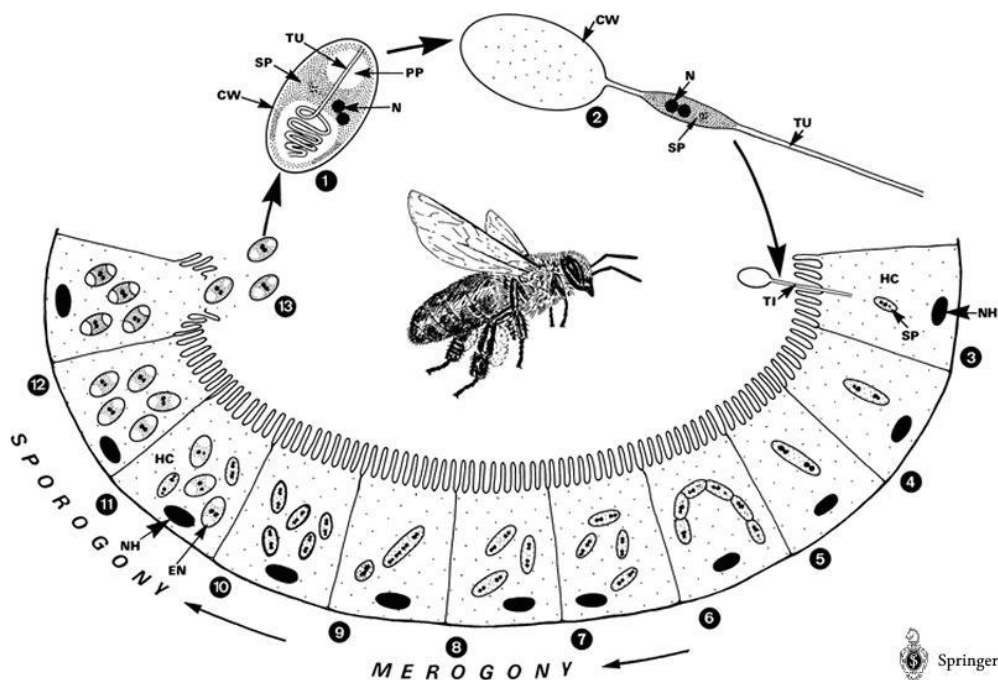
споронта као и у првом делу циклуса настаје секундарни споробласт који пуца и ослобађа споре које су инфективне. Споре су овалног и прилично униформног облика [61] и поседују покретни поларни филамент. Број навоја који поседује поларни филамент је једна од осбина која се користи за детерминацију врсте [63]. *N. ceranae* поседује 18-21 навоја [62] док *N. apis* поседује 30 навоја [64]. Ове споре се елиминишу у спољашњу средину путем фецеса контаминирајући околину, а пчеле уносе споре ингестијом и циклус развоја се наставља. Споре не могу да инфицирају преадултне стадијуме пчела.

Патолошке промене у највећој мери захватају средње црево, међутим код *N. ceranae* копије генома се помоћу PCR-а могу детектовати у хипофарингеалним и плувачним жлездама, Малипигијевим тубулима и у масном ткиву [61] иако на њима не долази примарно до развоја патолошких промена.

Клинички знаци су везани за поремећај дигестивног система. Абдомен је обично увећан, јавља се течан дизентеричан измет, жутосмеђе боје, непријатног и оштрог мириса. Такође се јављају и поремећаји везани за кретање пчела, а у кошници се с пролећа може наћи велики број угинулих јединки [5].

2.4.2. Утицај нозема на настанак CCD-а

Од момента открића да *N. ceranae* може да инфицира европску медоносну пчелу и да је прескочила баријеру врсте са *Apis ceranae*, ноземоза је била обично повезивана са тешким клинички манифестним обољењем. С тога велики зимски губици пчелињих заједница обично су били приписивани баш овом патогену [65]. Када се ноземе у гастроинтестиналном тракту нађу у великом броју могу да доведу до дезорјентације пчеле што може бити у вези са CCD [66]. Овај ендопаразит доводи до повећања нивоа енергетског стреса што резултира веома високом конзумацијом хране [67], те пчеле због недостатка хранљивих материја напуштају кошнице чак и у лошим временским условима што доприноси смањењу њиховог броја.



Слика 3. Схематски приказ развојног циклуса нозема

Извор: <http://scientificbeekeeping.com>

2.5. Кречно легло

Кречно легло је заразно обољење пчела узроковано ентомопатогеном гљивицом *Ascosphaera apis*. Сматра се да је болест у тесној вези са стресогеним факторима, с тога се ово обољење сматра и индикатором стреса.

На тежину обољења значајно утиче вируленција самог изолата али и интеракција са другим паразитима пчела и ноксама различитог порекла [68]. Гљивица инфицира пчелиње ларве при чему растом гљивице долази до мумификације ларве. Обољење слаби колонију пчела и смањује продукцију меда, тако што се постепено смањује број радилица, стога је обољење значајно и са економског аспекта [69].

Кречно легло је обољење које се шири великом брзином и постепено постаје проблем глобалног карактера. Разлог експанзије овог обољења јесте веома интензивно пчеларење које подразумева селидбу кошница на велике удаљености при чему се дистрибуирају и споре ове гљивице које су веома отпорне и своју дормантност могу да сачувају и 15 година [34].

2.5.1. Фактори настанка кречног легла

До инфекције ларви долази приликом њихове исхране од стране пчела хранитељица које су контаминиранине инфективним спорама *Ascospheara apis*. Обично се инфицирају ларве старости 2 до 4 дана, а како оне расту појачано стварају угљен-диоксид при чему стварају повољне анаеробне услове за герминацију спора, а гљивица започиње са стварањем и растом хифа. Хифе почињу интензивно да расту и пенетрирају интестинални епител, а инвазија епитела је посредована ензимским реакцијама и механичким силама [70],[71]. Хифе након што прођу кроз интестинални епител инвадирају и друга ткива, која потом разарају и користе за даљи сопствени раст. Постоје три главне ставке које одређују тежину клиничке слике: стресогени околине, интеракција са другим паразитима пчела, однос резистенције домаћина и вируленције паразита [68].

Највећа вероватноћа појаве кречног легла је када пчеле нису у стању да одрже оптималну температуру у кошници и када не могу на адекватан начин да се брину о леглу. Када услед деловања неког стресогеног фактора пчеле нису у могућности да одрже адекватну температуру у кошници, те дође до расхлађивања легла, последично долази до стресом индукованог одговора ларви и стварају се повољни услови за настанак инфекције [72].

Избијање обољења је најчешће код интензивног раста колоније, када се повећава број ларви, а број радилица је исти или чак и мањи, у таквој ситуацији нема довољно пчела које би одржавале температуру кошнице на адекватном нивоу, а и нема довољно пчела које би се бринуле о леглу.

Интензивна пољопривреда је довела до редукције количине и разноврсности биљака које пчеле користе у својој исхрани, овај проблем у комбинацији са преоптерећењем пољопривредних култура различитим пестицидима делују изузетно стресогено на пчеле што последично доводи до имунолошке компромитације пчела [73],[74], а смањене способности пчела за бригу о леглу. У оваквим ситуацијама патогенеза кречног легла је веома слична патогенези *CCD*-а. Исхрана ларви разноврсним поленом омогућава да већа количина симбионтских микроба пружи заштиту од гљивица због антифунгалне активности [75]. С тога следи да употреба различитих антибиотика у терапији обољења пчела може да има негативан ефекат на пчелињу заједницу због редукције симбионата стварајући повољне услове за продор гљивица.

Различити сојеви *A. apis* имају различиту вируленцију, али тежина клиничке слике ће зависити и од резистенције домаћина. Резистенција пчела на аскосфере се разликује код различитих колонија. Сматра се да су разлике у пријемчивости, између осталог, генетски детерминисане. Одређени нуклеотиди који кодирају хитиназу, испољавају различити степен полиморфизма, те је активност хитиназе различита, а продукција хитина у цревима је од великог значаја јер хитин представља прву линију одбране од инвазије [76].

Појава кречног легла је у позитивној корелацији са појавом вароозе и ноземозе [77]. Сматра се да варое могу бити механички вектори овог обољења, али као и ноземе индукује стресни одговор при чему се стварају услови за настанак кречног легла али и других обољења.

2.5.2. Кречно легло и CCD

Повезаност CCD и појаве кречног легла је дискутабилна, научници и данас покушавају да утврде неку статистичку корелацију, али резултати су већином опречни. Кречно легло није директно повезано са CCD [66], међутим индиректна веза је веома значајна. Кречно легло доводи до супресије имунолошког система пчела, смањења броја радилица, смањења квалитетне исхране, смањења хигијенских услова у кошници што су веома важни фактори у настанку CCD [78],[79],[80].

2.6. Америчка куга пчелињег легла

Америчка куга је бактеријско обољење пчелињег легла које разматрано као један од потенцијалних фактора за настанак CCD-а. Узрочник америчке куге пчелињег легла (АКПЛ) је *Paenibacillus larvae*. Ова инфективна болест има значајан ефекат на апикултуру јер се веома брзо преноси и веома је тешко обољење пчелиње заједница при чему долази до леталног исхода.

Патоген је веома отпоран на услове спољашње средине те се болест неретко задржава дужи временски период на одређеном подручју.

2.6.1. Патогенеза и клиничка слика АКПЛ

Paenibacillus larvae је грам позитиван штапић, који поседује вегетативни и спорогени облик. Спора је у спољашњој средини изузетно отпорна и у старим кошницама инфективност може задржати и до 35 година [78],[79],[80].

Клинички знаци се преодминантно појављују код пчелињег легла. Пчелиње ларве се инфицирају најчешће спорогеним облицима приликом њихове исхране [5]. Како се ларва развија и када дође до поклапања ћелије долази до исклијавања споре при чему се развија високопатогени вегетативни облик. Озбиљност инфекције ће пре свега зависити од броја развијених вегетативних облика ове бактерије. Споре се из инфициране кошнице могу лако преносити на друге пчелиње заједнице преко грабежи, варое, прибора, пчелињих производа,...

Умножавањем пенибацилуса долази до смрти ларве при чему легло постаје прошарано. Инфициране ларве губе своју седефасто белу боју, затим добијају сиво-жућу боју која тамни све до браон боје. Ларве губе свој карактеристичан српаст изглед и претварају се у тамну аморфну масу (Слика 3.). Дезинтеграција ларви траје 60 дана. На исход обољења утиче више фактора, а један од тих фактора је и сам сој који је изолован. Детектована су четири соја (ERIC I, ERIC II, ERIC III and ERIC IV) који се међусобно разликују пре свега по патогености и другим културелним особинама.

Иако ово обољење не погађа одрасле пчеле, осећају се значајни ефекти ове болести на целу пчелињу заједницу. Недовољна продукција младих пчела у кошници доводи до њеног постепеног пропадања, јер нема замене старих пчела, те долази до разрушавања хијерархијског устројства пчелиње заједнице и неадекватне расподеле послова. Оболеле колоније се не лече већ се уништавају, употреба антибиотика у терапији АКПЛ је забрањена.

2.6.2. АКПЛ и CCD

АКПЛ сама по себи не доводи до CCD. Постојање АКПЛ у некој блажој варијанти или латентној форми засигурно може допринети настанку CCD. Пре свега *Paenibacillus larvae* значајно ослаби имунолошки систем пчеле при чему заједница постаје подложнија другим обољењима. Смањењем број пчела у кошници и нарушавањем старосне структуре допринеће лошој исхрани легла и лошим хигијенским условима што доприноси настанку CCD-а [81].



Слика: Ларва претворена у аморфну масу

Извор: <https://www.agrotv.ne>

2.7. Антропогени фактори значајни за настанак *CCD*-а

У етиологији настанка синдрома нестајања пчела веома важно место заузимају антропогени фактори. Утицај човека на природну средину временом је постао све израженији при чему је дошло до озбиљних турбуленција у оквиру складних и самодрживих екосистема. Пошто пчеле чине веома важан део екосистема, човек је различитим механизмима директним или индиректним путем значајно компромитовао живот пчела.

Неки од најзначајнијих активности човека које утичу на пчеле јесте претварање природних станишта у пољопривредно земљиште, смањење диверзитета биљака које пчеле користе у исхрани, интензивно пчеларење и сеоба пчелињих заједница на велике удаљености, смањење генетске варијабилности пчела услед селективне вештачке инцеминације матица, употреба велике количине пестицида у пољопривреди, употреба различитих хемијских препарата у терапији појединих обољења, различити видови електромагнетног зрачења које човек генерише за своје потребе,...

Антропогени фактори у највећем броју случајева сами по себи не узрокују синдром нестјања пчела иако имају доказан негативан утицај на колоније пчела. Проблем настаје када деловањем појединих фактора долази да смањене отпорности пчела те оне постају подложније различитим инфестацијама од стране биолошких патогена. Сумирањем различитих негативних ефеката који су последица деловања биолошких и антропогених фактора долази до постепеног слабљења заједнице са израженим губитком одраслих пчела да би на крају дошло до комплетне пропасти колоније.

Веза ових фактора са епизоотиолошког становишта је изузетно комплексна и недовољно истражена.

2.7.1. Апитехника

Пчеле су најбољи опрашивачи већине пољопривредних култура и данас заузимају посебно место у самој пољопривреди. Кошнице се могу транспортовати на велике удаљености у релативно кратком временском периоду и то у моменту цветања појединих пољопривредних култура. Опрашивањем култура доводе до значајног повећања рентабилности пољопривредне производње, у Америци, у савезној држави Калифорнија, где је засађено више хиљада хектара бадема, 2004. године је процењено да је за опрашивање култивисаних бадема непоходно око 550 хиљада кошница, а сматра се да ће се овај број у будућности повећавати [82].

Проблем транспорта на балканском подручју и није толико изражен углавном због кратких релација на које се пчеле транспортују те се транспорт обави обично током ноћи. Међутим на америчком континенту транспорт се врши чак и по неколико дана где се кошнице селе хиљадама километара даље при чему се пролази кроз више временских зона а све ово доводи до супресије имунолошког система пчеле [83].

У једној студији извршено је испитивања утицаја транспорта на физиологију пчеле. Тестиране колоније су подељене у две групе, прва група је чинила стационарну групу док је друга група чинила транспортовану групу. У ове две групе поређени су различити параметри. Један од параметара јесте титар јувенилних хормона, где је доказано да транспорт не утиче на продукцију ових хормона. Други параметар који је праћен јесте садржај протеина у телу пчеле, при чему је доказано да је код транспортоване групе дошло до значајног смањења садржаја протеина у телу. Трећи параметар који је праћен је садржај липида у

абдомену, при чему није нађена статистички значајна разлика у испитиваним групама. Најзначајније запажање у овој студији јесте да услед транспорта долази до недовољног развоја ацинуса хипофарингеалних жлезда [84]. Проблем смањеног развоја хипофарингеалне гландуле је веома значајан, јер пчеле са хипопластичним жлездама немају адекватне могућности за одгој наредне генерације пчела, при чему ће бити одгојен мањи број пчела што последично доводи до слабљења колоније и смањења броја одраслих пчела. Оваква заједница постаје подложнија деловању других негативних ефеката што синергистички може довести до развоја синдрома.

2.7.2. Пестициди из групе неоникотиноида

Данашња модерна индустријализовна пољопривреда, како би обезбедила високе приносе, ослања се на употребу великог броја хемикалија које штите усеве од различитих намесника. Неконтролисана употреба пестицида омогућила је да велика количина хемикалија се нађе у културама које пчеле опрашују. Због неселективно дејства на инсекте овим пестицидима су угоржене и пчеле које поседују одређене филогенетске карактеристике као и инсекти паразити пољопривредних култура.

Због веома велике ефикасности пестициди из групе неоникотиноида су се нашли у широкој употреби, а због специфичног дејства нашли су се у жижи интересовања научника јер је деловање неоникотиноида могло да објасни поједине симптоме *CCD*-а, стога су сматрани главним узроком појаве овог феномена [85]. Главни представник инсектицида из групе неоникотиноида је имидаклоприд, а поред њега се налазе и тиаметоксам, клотианидин, нитенпирам, ацетамиприд и динотефуран[86]. Неоникотиноиди су веома штетни инсектициди јер припадају класи такозваних неуроактивних инсектицида. Значајни су пре свега јер доводе до нарушавања бихејвиоралног система али и имунолошког система пчеле, оба ова система су кључна за добробит пчела [48].

Неоникотиноиди се карактеришу високом инсектицидном активношћу и ниском токсичношћу сисара. Неурофизиолошким студијама је утврђено да имидаклоприд и други неоникотиноиди делују као агонисти постсинаптичких никотинских ацетилхолинских рецептора. Првенствено доводе до стимулације

постсинаптичких мембрана, а затим долази до парализе преноса нервних импулса. Оваква хемијска узурпација нервног система инсеката доводи до угинућа.

Неоникотиноиди се у пољопривреди примењују тако што се наносе на семенски материјал, а како касније биљка расте они се системски дистрибуирају у биљци и остају у њој све до краја њеног вегетативног циклуса. Такође се депонују и у земљишту и у њему се дуго задржавају чак и након уклањања третиране културе [48]. Иако ови пестициди нису намењени пчелама, пчеле их узимају са третираних биљака приликом полинације [87].

На токсичност неоникотиноида утиче више фактора. Један од фактора јесте начин експозиције. Нпр. контактна експозиција је значајно мања у односу на оралну експозицију [88]. У различитим студијама о утицаја неоникотиноида на пчеле доказано је да постоји велика разлика и у оралној токсичности те су вредности LD₅₀ показале одређену варијабилност [89],[90]. Сматра се да различита осетљивост не имидаклоприд јесте последица процеса трофилаксије која потразумева размену хране међу припадницима исте колоније. Још један од фактора који утиче на токсичност јесте сам пестицид. Неоникотиноиди који садрже нитро групу у својој хемијској структури (имидаклоприд, клотианидин, тиаметоскам, нитенпирам и динетофуран) су токсичнији у односу на неоникотиноиде који у својој хемијској структури поседују цијано групу (ацетамиприд и тиаклоприд) [90],[91]. Разлог ниже токсичности неоникотиноида са цијано групом јесте њихова брза биотрансформација и елиминација [92],[93].

2.7.2.1. Ефекти неоникотиноида на репродукцију

Репродукција је веома важан процес који осигурава постојање колоније. За колонију је увек тежи губитак легла него одраслих пчела [89]. Бројне студије су доказале негативне ефекте на развој ларви, који су последица излагања имидаклоприду [94],[95],[96]. Последице које су се јављале обично су биле продужено време потребно за матурацију ларви у адултне облике, али је уочена и значајна редукација легла. Последица је свакако смањење броја радилица и слабљење колоније што је веома значајан фактор за настанак СНП.

2.7.2.2. Ефекти неоникотиноида на понашање пчела

Неоникотиноиди као неуротоксини могу значајно да поремете функционисање нервног система пчеле. Симптоми који се уочавају су обично

падање пчела, дрхтање, некоординисани покрети, хиперактивност. Симптоми се лако уочавају у случајевима када је доза интоксикације већа. Код сублеталних доза уочавање симптома је значајно теже. Још један важан ефекат неоникотиноида јесте што смањују способност учења пчела и редукују њихову меморију [97]. Група истраживача је дошла до закључка да имидаклоприд доводи до повећања активности цитохром оксидазе, а повећање њене активности је у корелацији са настанком аберација на фунгиформним телима нервног система пчеле [98]. Такође је доказано да неоникотиноиди могу значајно да отичу на способност оријентације пчеле у природи [89]. Моменат смањене способности оријентације пчеле је веома важан у патогенези *CCD* где се сматра да пчеле које су интоксициране неоникотиноидим нису у стању да се врате у кошницу приликом повратка са паше те остају изгубљене у природи.

2.7.3. Малнутриција

Почетком 21. века губитак великог броја пчела изазвао је забринутост због угрожене полинације биљака које се користе у исхрани људи. Како би се објаснио феномен нестајања пчела постављен је велики број различитих хипотеза. Једна од хипотеза јесте да исхрана пчела игра велику улогу у настанку *CCD*-а. Исхрану као фактор у настанку *CCD*-а, готово је немогуће раздвојити од осталих фактора јер су међусобно повезани и испреплетани. Па тако пчеле које су инфициране са ноземама имају значајно веће енергетске потребе у односу на неинфициране пчеле те су изложене стресу енергетског дефицита [99]. Нутритивни дефицит обично приморава пчеле да прелазе веће дистанце у потрази за храном, што носи ризик да пчела не стигне назад до кошнице након потраге за храном.

Код акарозе, пчеле су изложене хипоксији те због ограничене количине кисеоника, поједине активности које захтевају високу метаболичку активност су ограничене или пак онемогућене, с тога пчеле најчешће имају проблема са летењем, одржавањем температуре у хладном периоду и слично [100].

У оквиру пчелиње заједнице понашање везано за исхрану је комплексно, где неутритивни статус једне пчеле није у директној вези са количином ускладиштене хране у кошници. Па тако велики број пчела може бити у нутритивном дефициту иако у кошници постоји велика количина хране [101],[102]. Нутритивни стрес јединке може објаснити постепено нестајање пчела

[103], а губитак и нестајање пчела је највеће кад пчеле немају доступну храну у непосредној близини.

Снажна веза између исхране и имунитета је присутна у свим организмима па и у пчелама, то се може најбоље уочити приликом енергетског дефицита [104],[105]. Протеини које пчеле добијају из полена обезбеђују есенцијалне аминокиселине које су неопходне за синтезу различитих пептида који су укључени у бројне имунолошке механизме [106],[107]. Угљени хидрати из меда и нектара обезбеђују енергију која је потребна за одвијање хуморалних и целуларних имунолошких реакција, док поједини биљни секундарни метаболити који се налазе у храни су веома значајни са аспекта имунологије пчеле јер доста њих поседује добру антимикуробну активност [108].

Однос између исхране и имунитета се компромитује различитим факторима, један од главних фактора који нарушава ову равнотежу је вароа. Радилице које су инфициране вароама имају значајно нижи садржај протеина у свом организму и у случајевима када је количина полена задовољавајућа [109]. Иста ситуација погађа и легло, те због слабљења услед деловања вароа успорава се и развој легла.

2.7.3.1. Ризици везани за исхрану и настанак CCD

Исхрана је од кључног значаја за одржавање јаке и снажне колоније која поседује задовољавајући степен имунокомпетентности како би се одупрла деловању различитих нокси и како би сачувала свој интегритет. Поремећаји у исхрани аутоматски за собом повлаче друге проблеме који су везани за имунолошки систем пчеле, виталност пчела, дужину живота пчела, хијерархију колоније, репродукцију заједнице,...

Недостатак хране у заједници је један од најчешћих разлога зимских губитака колонија, неретко се дешава да након врцања меда колонији не остаје довољна количина хране те такве заједнице обично не преживљавају зиму [110]. Недовољна количина хране у заједници, посебно протеина, значајно утиче и на понашање пчела. Када се колонија нађе у нутритивном дефициту долази до нарушавања расподеле послова у кошници, јер сад младе пчеле излазе из кошнице и иду у потрагу за храном [101].

Мед пчела представља продукт који је добијен исхраном пчела на различитим биљкама и као такав обезбеђује пчелама балансирану и разнолику

исхрану [111]. Пчеле које се користе за опрашивање пољопривредних култура (сунцокрет, уљана репица, бадем,...) неретко се суочавају са једноличном и неуравнотеженом исхраном, те пчеле остаје дефицитарне по питању неких нутријената. Пчеле са једноличном исхраном су изложене нутритивном стресу те се у таквим ситуацијама морају обезбедити додатни извори протеина пчелама, па се због тога пчелиња паша на монокултури сматра инфериорнијом у односу на пашу са више различитих биљака [73]. Пчеле на униформној исхрани, ако поседују довољну количину полена, бивају стимулисане на повећану потрошњу полена који је слабијег квалитета, те квалитативни недостатак покушавају да надоместе повећаним уносом хране. Овај нутритивни стрес, поред осталих фактора, може бити одговоран за масовно нестајање колонија [112]. Због тога је веома важно да исхрана пчелињих заједница буде задовољавајућа у квантитативном али и у квалитативном смислу. Проблем малнутриције је детектован код чак 50% колонија које су манифестовале знаке *CCD*-а, те се због тога исхране сматра једним од значајнијих фактора за настанак *CCD*. [27].

Још један веома важан фактор у настанку *CCD*-а је употреба различитих замена за мед и полен у исхрани пчела. Пчелари с пролећа за прихрану пчела користе замену за полен у виду сојиног брашна који није природна храна пчела. Ова замена за полен је веома проблематична из разлога што се у соји могу наћи угљени хидрати који су токсични за пчеле али и за ларвлане стадијуме. Пчеле нису у стању да сваре угљене хидрате из соје као што су раминоза, ксилоза, маноза и рафиноза. У исхрани пчела користе се и сирупи који су богати фруктозом, проблем са овим заменама је у томе што ове замена доводе до повећања концентрације хидроксиетилфурфурала који може бити токсичан за пчеле у већим концентрацијама узрокујући велик морталитет [113].

Полифлорална исхрана пчела је од великог значаја за правилно функционисање имунолошког система али и ензимских система који су одговорни за детоксикацију организма пчеле. Веома значајна компонента природног меда је кумаринска киселина. Кумаринска киселина омогућава активацију гена који су одговорни за детоксикацију али и активацију гена који кодирају синтезу одређених антимикуробних пептида. Недостатак ове киселине у заменским хранивима може бити један од узрока *CCD*-а јер пчелиња заједница постаје осетљивија на деловање пестицида и различитих патогених микроорганизама [114].

2.7.4. Електромагнетно зрачење

Масовни нестанак пчела последњих деценија побудио је научно интересовање за откривањем разлога, бројни потенцијални разлози су већ наведени, а међу откривеним факторима наводи се и зрачење. Разлог томе је што пчеле имају посебан навигациони систем који детектује магнетне силе и омогућава им да се крећу помоћу сопственог компаса. Сматра се да зрачење које је пореклом од бежичних телефона може да поремети важне животне функције пчела и њихово понашање.

Пчеле као социјални инсекти имају строгу поделу послова унутар своје заједнице. Овако висока орагнизованост захтева добро разрађен систем међусобне комуникације, како би колонија као целина обезбедила себи опстанак. Сматра се да радијација коју емитују бежични телефони има значајан утицај на навигациони систем пчела при чему пчеле након напуштања колоније нису у стању да по повратку нађу своју заједницу. Радијација засигурно има негативан ефекат и на репродуктивне способности колоније при чему је интегритет заједнице угрожен.

Шармал и Кумар су проучавали ефекте мобилних телефона праћењем следећих фактора: величина зоне легла, плодност матице, ефикасност у прикупљању полена, активност летења, способност повратка у колонију, складиштење меда, складиштење полена, и раст колоније. Резултати које су добили су доказали да су се зона легла и сама колонија смањиле, смањен је број положених јаја, а број пчела који напушта кошницу и враћа се је такође смањен. Способност складиштења меда и нектара је у овој студији била смањена [115].

У Индији је спроведена студија о утицају мобилних телефона на пчелињу заједницу, у студији колоније су били изложене зрачењу мобилних телефона од 900 MHz, 10 минута, током десет дана. Праћен је животни циклус пчела при чему је посматрана продуктивност пчела, полагање јаја, летачке активности и повратак. И у овој студији је доказано значајно смањење свих наведених функција [116].

Због специфичних ефеката које узрокује електромагнетно зрачење, могуће је довести у везу зрачење које емитују релејни торњеви који се користе у мобилној комуникацији са нестанком пчела.

Упркос бројним студијама које су објављене у којима се доказује штетан ефекат електромагнетног зрачења и његова улога у настанку CCD-а, објављене су

и поједине студије које говоре супротно. Миксон и сарадници су доказали да глобални систем за мобилну телекомуникацију (ГСМ) нема утицаја на пчеле упркос изложености зрачењу. У њиховој студији је доказано да, иако су пчеле били изложене радијацији, није било ефеката на агресивност пчела, хранидбено понашање и на навигациону способност пчела, те је мало вероватно да овај тип зрачења има утицаја на здравље колоније [117].

2.7.5. Климатске промене

Климатске промене могу имати директне или индиректне ефекте на пчелиње заједнице. Под директним ефектима подразумева се првенствено промена у физиологији и понашању пчела, док се под индиректним ефектом подразумева промена флоралне конституције околине у којој пчеле обитавају.

Клима утиче пре свега не биљке које пчеле користе у својој исхрани и самим тим је у вези са количином доступног нектара и полена од којих ће зависити активност и развој колоније [118]. Пчеле морају током сезоне цветања биљака да обезбеде и акумулирају довољну количину хране за одгој легла, али и за зимски период. Количина падавина је један од важних фактора који утиче на способност цветања и преживљавања медоносног биља. На пример велика количина кише приликом цветања багрема има негативан утицај на атрактивност ове биљке за пчеле јер киша разређује нектар те га пчеле нерадо прикупљају са багрема, док у случају екстремне суше цветови лаванде уопште не продукују нектар [119].

Сушни периоди су веома критични за пчеле из разлога што у таквим ситуацијама у природи пчеле не могу да пронађу довољну количину квалитетних хранива те су пчеле у квалитативном и квантитативном нутритивном дефициту. Нутритивни стрес је један од значајнијих у патогенези настанка *CCD*-а, а климатске промене као потенцијални фактор *CCD*-а су у тесној вези са малнутрицијом која има имуносупресиван ефекат, пчеле постају подложније патогенима и значајно им се скраћује животни век.

Широко распрострањени синдром нестајања пчела који се појављује и на различитим континентима је доказ угрожености пчеле као врсте чији опстанак зависи од околине. Климатске промене као фактор настанка *CCD*-а, су у тесној

спрези са осталим факторима и имају потенцирајући ефекат на друге ноксе као што су малнутриција, патогени агенси, пестициди, модификација животне средине,... Због тога је веома тешко раздвојити ове факторе и утврдити најзначајнији због њихове тесне повезаности.

2.8. Еколошки ефекти синдрома нестајања пчела

Пчеле су веома значајне за различите екосистеме и представљају један од главних индикатора виталности одређеног екосистема. Значај пчела се пре свега огледа у њиховој полинаторској активности у оквиру неког екосистема. Пчеле омогућавају опрашивање различитих биљних врста чиме обезбеђују њихову даљу репродукцију и помажу у одржавању генетске разноликости великог броја биљака. Очување биолошког диверзитета је од великог значаја за еколошке системе јер се на тај начин обезбеђује конкуренција и природна селекција различитих биљних врста чиме се смањује ризик за обољевање биљних врста од различитих патогена. Биљке обезбеђују великом броју животињских врста склониште и храну из чега се види комплексност релација између пчела, биљака и различитих животиња[81]. Ако се који случајем изгубе витални опрашивачи као што су пчеле, еколошки ефекти ће бити штетни за читав екосистем. Пчеле су значајне јер се сматрају индексним врстама и могу указати на стање животне средине. Масовно нестајање пчела мора сугерисати на постојање одређене неуравнотжености у оквиру екосистема. Анализом самих пчела и њихових производа могу се добити значајне информације о: кретању пестицида у оквиру екосистема, контаминацији раионуклидима и тешким металима [120]. Велики број биљних врста је зависан од својих опрашивача, те је репродукција тих биљака зависна од броја полинатора. Смањење броја полинатора, биљке могу краткорочно компензовати нпр. клоналним ширењем, међутим дугорочно гледано популације биљака могу бити значајно оштећене због недовољног опрашивања, што је доказала студија у којој је обухваћено 89 биљних врста [121].

Поред природних екосистема, смањење броја полинатора свакако може да угрози и аграрне екосистеме, јер велики број биљних врста које се користе у исхрани људи зависи од опрашивача, мада постоје и биљне врсте које ветар опрашује нпр. пшеница и пиринач. У једној студији статистичком анализом донесен је закључак да у случају потпуног губитка полинатора производња у

односу на тренутне нивое потрошње била би дефицитарна за 12% за воће и 6% за поврће [122].

2.9. Економски ефекти синдрома нестајања пчела

Економски ефекти синдрома нестајања пчела су вишеструки, директни или пак индиректни. Пре свега *CCD*-а доводи до смањења броја кошница, сматра се да је у Сједињеним Америчким Државама од 2007. до 2014. године изгубљено 29,6%, што је готово трећина укупне популације пчела [123].

Негативне економске последице *CCD*-а првенствено ће се одразити на пчеларе. Губитком колонија пчелари морају да надоместе изгубљене, да ли куповином нових друштава или рођењем постојећих. Мањи број друштава подразумева и мању производњу а самим тим и већу цену пчелињих производа. У случају надокнаде изгубљених колонија рођењем, новонастала друшта захтевају нове матице, те већа потражња за матицама условиће и њихову већу тржишну вредност што је додатно повећање трошкова за пчеларе [123].

Пчелари из САД имају праксу услужног опрашивања усева, те изнајмљују пчеле које опрашују пољопривредне културе како би се обезбедила профитабилнија пољопривредна производња. Уколико би се наставио масовни тренд нестајања пчелињих друштава засигурно би и цена ове услуге порасла, али и приноси биљних култура би били мањи. Смањење броја пчела ће приморати пољопривредне произвођаче да се окрену културама које су независне од опрашивања пчела [124].

2.10. Губици пчелињих заједница у Србији

Релевантнији подаци о губитку пчелињих заједница у Србији не постоје из разлога што организовани мониторинг друштава не постоји, а такође и не постоји нека референтна лабораторија која би се бавила детљним анализирањем нестајања пчела.

Најзначајнији подаци о нестанку пчелињих заједница су још из зиме 2007./2008. године када је дошло до масовног страдавања пчелињих друштава највероватније као последица климатских промена када је изузетно блага зима изазвала појаву раног легла (Слика 4.). Наредних година дешавали су се масовни

помори у различитима крајевима који су били највероватније последица тровања пчела, међутим неки званични подаци о губицима нису објављени [125].

У Војводини, 2015. године, се догодило масовно угинуће пчела на сунцокретој паши када је страдало око 40.000 пчелињих друштава, а материјална штета је процењена на више од пола милиона евра [125]. Иако је ветеринарска инспекција правовремено деловала, узела узорке, резултати анализа су били неупотребљиви јер у пчелама идентификовано 158 отрова, међутим није идентификован отров који је био одговоран за помор пчела, наредне године забрањен је увоз семена сунцокрета који је третиран неоникотиноидима [125].

Последњих година пчелари у Србији скраћују пчелињу пашу на сунцокрету, а неки су је у потпуности избацили из разлога што пчеле које су биле на сунцекретој паши не дочекају касну јесен већ страдају почетком октобра, а оне које преживе зиму с пролећа имају веома спор развој. Пчеле које нису биле на сунцокретој паши нису имале оваквих проблема [125].

Систематично прикупљање података о губитку пчела не постоји, губитке обично евидентира Савез пчеларских организација Србије (СПОС), а према њиховим наводима 2015. године у јулу због прскања жита у Пријеполу је страдало 700 кошница. У Сурдулици, јуна 2015. године изгубљено је неких 200 кошница због несавесног прскања купине инсектицидима. Иако су пчелари пријавили тровање надлежним институцијама, ветеринарска и пољопривредна инспекција нису изашле на увиђај. У Ковачици је 2014. године изгубљено 129 кошница и 53 нуклеуса на маковој паши али у овом случају је утврђено који је пестицид одговоран [125].

2.11. Стратегије за сузбијање синдрома нестајања пчела

Због мултикаузалне етиологије развој јединственог система за сузбијање *CCD*-а је практично немогућ. Неопходно је сагледати велики број фактора који утичу на појаву овог феномена, те се мора применити велики број мера како би се постигли жељени резултати. Међутим постоји велики број ствари које би се могле учинити како би се спречио даљи развој овог поремећаја.

Ширење варое и нозема се мора ефикасније контролисати, посебно што је ширење ових болести условљено и транспортом кошница на велике удаљености.

Пре било каквог транспорта неопходно је утврдити количину присутних патогена у заједници [126], у случају тешких инфестација неопходно је обуставити даљи транспорт. Контролисана употреба митицида и развој нових препарата за терпаију ових болести би била од великог значаја, као и окретање биолошким методама контроле ових болести.

Развојем пољопривреде, велике површине природних станишта пчела су претворене у обрадива земљишта на којима се узгајају биљке у монокултури. Смањењем флоралног диверзитета пчелама је онемогућена разноврсна исхрана која је од кључног значаја за одржавање правилног функционисања имунолошког система [127]. Стога пољопривредне произвођаче треба стимулисати на заснивање разноврсних усева који су погоднији за пчеле од монокултуре.

Климатске промене су такође значајан фактор у настанку *CCD*-а, владе различитих држава морају да се позабаве смањењем емисије угљен-диоксида у атмосферу.

У условима интензивне пољопривреде пестициди су се показали као нужно зло. Забрана појединих пестицида би била од великог значаја за очување здраве средине за развој пчела и други дивљих полинатора. Контролисана и рационална употреба пестицида и забрана појединих хемијских производа пре свега из групе неоникотиноида би била кључ за заустављање прогресије *CCD*-а [128].

Неопходно је издвајање веће количине финансијских средстава за очување здравља пчела, за развој референтних лабораторија, за бољи мониторинг,...

3. Циљ и задатак рада

Основни циљ овог истраживања је да се да преглед масовних губитака пчелињих заједница, мере превенције, дијагноза и евентуална терапија *CCD*.

Правилним познавањем болести, анализом фактора који до ње доводе, може се на време реаговати и заштитити здравље пчелињих заједница, што представља значајан напредак, како економски за пчеларе, тако и са аспекта заштите најзначајнијих опрашивача.

Очекивани резултат овог рада је да се прегледом доступне литературе укаже на значај *CCD*, те да се предложи адекватна контрола и терапија, а све у циљу заштите здравља пчела.

4. Материјали и методе

У овом раду је извршена анализа великог броја актуелне научне литературе која се бави проблематиком *CCD*-а, али и етиолошким факторима појединачно.

Идентификовани су најзначајни фактори у настанку *CCD*-а на основу актуелних литературних података.

Анализирана је појава масовних губитака пчела, превентива, дијагностика, терапија као и последице *CCD*-а.

5. Закључак

- Синдром нестајања пчела има тенденцију ширења и напредовања, а опстанак пчеле као врсте је угрожен.
- Паразити и патогени микроорганизми се теже контролишу и значајно нарушавају интегритет пчелиње заједнице, пре свега због смањења природне отпорности пчела.
- Једнолична исхрана пчела на монокултурама доводи до имунодефицијенције и чини их пријемчивијим за друга обољења.
- Климатске промене доводе до промена у природном станишту пчела и до поремећаја у понашању самих пчела
- Пестициди изазивају штетне ефекте као што су дезоријентација и губитак памћења након поновљеног излагања ниским дозама.
- Електромагнетно зрачење утиче на понашање и исхрану пчела те се може сматрати значајним фактором у настанку синдрома нестајања пчела.
- Синергистичким дејством наведених фактора провоцира се настанак синдрома нестајања пчела.
- *CCD* има вишеструке негативне економске и еколошке последице.
- Непоходно је развијање детаљних стратегија за сузбијање феномена синдрома нестајања пчела.

6. Литература

1. Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B. (2010): "Biology and control of *Varroa destructor*" .University of Hohenheim, Apicultural State Institute, 70593 Stuttgart, Germany
2. Lalošević, V. (2012): Parazitologija
3. Bacić, D., Obrenović, S. (2016): „Praktikum iz bolesti pčela za studente veterinarske medicine“. Beograd.
4. De Ruijter, A., Kaas, J.P., (1983): "The anatomy of the *Varroa* mite". In: Cavalloro, R. (Ed.), *Varroa jacobsoni* Oud Affecting Honey Bees: Present Status and Needs. A.A. Balkema, Rotterdam, pp. 45–47.
5. Plavša, N., Pavlović, I., (2017): „Bolesti pčela“. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
6. MAF - Ministry of Agriculture and forestry (2001): Control of *Varroa* - A guide for New Zealand Beekeepers. ISBN 0-478-07958-3. Astra Print, Wellington.
7. Harizanis, P. C. (1991): " Infestation of queen cells by the mite *Varroa jacobsoni*". *Apidologie* 22:533-538;
8. Huang, Z. (2012):" *Varroa* Mite Reproductive Biology". Department of Entomology, Michigan State University.
9. Boot, W. J., Calis, N. M., Beetsma, J. (1992):" Differential periods of *Varroa* mite invasion into worker and drone brood cells of honey bees". *Experimental and Applied acarology* 16:295301
10. Schneider, P., Drescher, W. (1987): "The influence of *Varroa jacobsoni* Oud. on weight; development onweight and hypopharyngeal glands; and longevityof *Apis mellifera* L.,". *Apidologie* 18, 101–110.
11. Bowen-Walker, P.L., Gunn, A. (2001): "The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels". *Entomol. Exp. Appl.* 101, 207–217.
12. Koch, W., Ritter, W. (1991): "Experimental Examinations Concerning the Problem of Deformed Emerging Bees After Infestation with *Varroa jacobsoni*, *Zentralbl*". *Veterinarmed. B* 38, 337–344.
13. Romero-Vera, C., Otero-Colina, G. (2002): "Effect of single and successive infestation of *Varroa destructor* and *Acarapis woodi* on the longevity of worker honey bees *Apis mellifera*". *Am. Bee J.* 142, 54–57.
14. Garedew, A., Schmolz, E., Lamprecht, I. (2004): "The energy and nutritional demand of the parasitic life of the mite *Varroa destructor*". *Apidologie* 35, 419– 430.
15. Kralj J., Fuchs S. (2006) Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers, *Apidologie* 37, 577–587.
16. Yang, X.L., Cox-Foster, D.L. (2005): "Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 7470–7475.
17. Yang, X., Cox-Foster, D. (2007): "Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge". *Parasitology* 134, 405–412.
18. Boecking, O., Genersch, E. (2008): "Varroosis – the ongoing crisis in bee keeping". *J. Verbrauch. Lebensm.* 3, 221–228.
19. Milani, N. (1995): "The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to pyrethroids: A laboratory assay". *Apidologie* 26, 415–429.
20. Hillesheim, E., Ritter, W., Bassand, D. (1996): "First data on resistance mechanisms of *Varroa jacobsoni* (OUD.) against tau fluvalinate". *Exp. Appl. Acarol.* 20, 283–296.
21. Milani, N. (1999): "The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides". *Apidologie* 30, 229–234.
22. Elzen, P.J., Baxter, J.R., Spivak, M., Wilson, W.T. (2000): "Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos". *Apidologie* 31, 437–441.
23. Le Conte, Y., Ellis, M., Ritter, W. (2010): "*Varroa* mites and honey bee health: can *Varroa* explain part of the colony losses?"

24. Bogdanov, S. (2006): "Contaminants of bee products". *Apidologie* 37, 1–18.
25. Johnson, R.M., Pollock, H.S., Berenbaum, M.R. (2009): "Synergistic Interactions Between In-Hive Miticides in *Apis mellifera*". *J. Econ. Entomol.* 102,474–479.
26. Colin, M.E., Belzunces, L.P. (1992): "Evidence of synergy between prochloraz and deltamethrin in *Apis mellifera* L.". A convenient biological approach, *Pestic. Sci.* 36, 115–119.
27. vanEngelsdorp, D., Evans, J.D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B.K., Frazier, M., Frazier, J., Cox-Foster, D., Chen, Y., Underwood, R., Tarpy, D.R., Pettis, J.S. (2009): "Colony collapse disorder: a descriptive study". *PLoS One* 4, DOI:10.1371/journal.pone.0006481.
28. Caron, Dewey M. (2000): "*Tracheal Mites*". Mid-Atlantic Research and Extension Consortium. U.S. Department of Agriculture. 4.2, 1-3.
29. Sammataro, D., Gerson, U., Needham, G. (2000): "Parasitic Mites of Honey Bees: Life History, Implications, and Impact." *Annual Review of Entomology* 45.1 519-48.
30. Cox-Foster D.L., Conlan S., Holmes E.C. et al. (2007): "A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder". *Science* 5848:283–287
31. Fernández P.,G., et al., (1999):" Acarapodosis or tracheal acariosis". Bee disease diagnosis Zaragoza. CIHEAM Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches; pages 107-115
32. De Jong, D., Morse, A. and Eickwort, G.C. (1982): " Mite pests of honey bees". *Annual Review of Entomology*, 27: 229-252.
33. Royce, L.A., Krantz, G.W., Ibay, L.A., Burgerr, D.M. (1988): "Some observations on the biology and behaviour of *Acarapis woodi* and *Acarapis dorsalis* in Oregon. In *Africanized Honey Bees and Bee Mites*". Chichester, pp. 498-505
34. Bailey, L. and Ball, B.V. (1991). "*Honey Bee Pathology*". 2nd edn. Academic Press, London
35. Sammataro, D. and Needham, G.R. (1996):" How oil affects the behavior of tracheal mites". *American Bee Journal* 136:511-514
36. Dawicke, B.L., Otis, G.W., Scott-Dupree, C. and Nasr, M. (1992): "Host preference of the honey bee tracheal mite(*Acarapis woodi* Rennie)". *Experimental and Applied Acarology* 15:83-98
37. Otis, G.W., Scott-Dupree, C.D. (1992): "Effects of *Acarapis woodi* on overwintered colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in New York." *Journal of Economic Entomology* 85:40–46.
38. McMullan, J. B. and M. J. F. Brown (2009): "A qualitative model of mortality in Honeybee (*Apis mellifera*) colonies infested with tracheal mites (*Acarapis woodi*)."
Experimental and Applied Acarology 47(3): 225-234.
39. Maori, E., Lavi, S., Mozes-Koch, R., Gantman, Y., Peretz, Y., Edelbaum, O., Tanne, E., Sela, I., (2007): "Isolation and characterization of Israeli acute paralysis virus, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel: evidence for diversity due to intra and inter-species recombination". *J. Gen. Virol.* 88, 3428–3438.
40. Li, Z., Chen, Y., Zhang, S., Chen, S., Li, W., Yan, L., Shi, L., Wu, L., Sohr, A., Su, S., (2013): "Viral infection affects sucrose responsiveness and homing ability of forager honey bees, *Apis mellifera* L.". *PLoS One* 8-77354.
41. De Miranda, J.R., Cordini, G., Budge, G. (2010): "The acute bee paralysis virus-Kashmir bee virus-Israeli acute paralysis virus complex". *Journal Invertebrate Pathology* 103 S30–S47.
42. Le Gall, O., Christian, P., Fauquet, C.M., King, A.M., Knowles, N.J., Nakashima, N., Stanway, G., Gorbalenya, A.E. (2008): "Picornavirales, a proposed order of positive-sense single-stranded RNA viruses with a pseudo-T₃ virion architecture". *Arch Virol* 153:715–727.

43. Edukondalu, M., Pridal, A., Palkova, L., deMiranda J.R., Plevka, P. (2016): "Virion Structure of Israeli Acute Bee Paralysis Virus" *Journal of Virology*, volume 90, number 18.
44. Bailey, L., Gibbs, A.J., Woods, R.D., (1963): "Two viruses from adult honey bees (*Apis mellifera* Linnaeus)". *Virology* 21, 390–395
45. Dall, D.J., (1985): "Inapparent infection of honey bee pupae by Kashmir and Sacbrood bee viruses in Australia". *Ann. Appl. Biol.* 106, 461–468.
46. Bailey, L., Ball, B.V., (1991): "Honey Bee Pathology", second ed. Academic Press, London.
47. Ribiere, M., Ball, B.V., Aubert, M.F.A., (2008): "Natural history and geographic distribution of honey bee viruses". In: Aubert, M.F.A., Ball, B.V., Fries, I., Milani, N., Morritz, R.F.A. (Eds.), *Virology and the Honey Bee. VIth Framework. EC Publications*, Brussels, pp. 15–84.
48. Schacker, M. (2008): "A Spring without Bees: How Colony Collapse Disorder Has Endangered Our Food Supply". Guilford, Connecticut: The Lyons Press, 2008.
49. Palacios, G., J. Hui, P. L. Quan, A., Kalkstein, K. S., Honkavuori, A. V., Bussetti, S. Conlan, J., Evans, Y., P., Chen, D., VanEngelsdorp, H., Efrat, J., Pettis, D., Cox-Foster, E., C. Holmes, T., Briese, and W. I. Lipkin. (2008): "Genetic Analysis of Israel Acute Paralysis Virus: Distinct Clusters Are Circulating in the United States." *Journal of Virology* 82.13 (2008):6209-217.
50. Yang, X., Cox-Foster, D.L., (2005): "Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, 102, 7470–7475.
51. Locke, B., Forsgren, E., Fries, I., de Miranda, J.R. (2012): "Acaricide treatment affects viral dynamics in *Varroa destructor*-infested honey bee colonies via both host physiology and mite control". *App. Environ. Microbiol.* 2012, 78, 227–235.
52. Di Prisco, G., Cavaliere, V., Annoscia, D., Varricchio, P., Caprio, E., Nazzi, F., Gargiulo, G., Pennacchio, F. (2013): "Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2013, 110, 18466–18471.
53. Nazzi, F., Brown, S.P., Annoscia, D., Del Piccolo, F., Di Prisco, G., Varricchio, P., Della Vedova, G., Cattonaro, F., Caprio, E., Pennacchio, F. (2012): "Synergistic Parasite-Pathogen Interactions Mediated by Host Immunity Can Drive the Collapse of Honeybee Colonies". *PLoS Pathog.* 2012, 8, e1002735.
54. De Miranda, J.R., Cordonni, G., Budge, G. (2010): "The Acute bee paralysis virus-Kashmir bee virus-Israeli acute paralysis virus complex". *J. Invertebr. Pathol.* 2010, 103, S30–S47.
55. Blanchard, P., Schurr, F., Celle, O., Cougoule, N., Drajnudel, P., Thiéry, R., Faucon, J.P., Ribière, M. (2008): "First detection of Israeli acute paralysis virus (IAPV) in France, a dicistrovirus affecting honeybees (*Apis mellifera*)". *J. Invertebr. Pathol.* 2008, 99, 348–350
56. Özkirim, A., Schiesser, A. (2013): "Israeli acute paralysis virus (IAPV) in Turkish bees". *J. Apicult. Res.* 2013, 52, 56–57.
57. Reynaldi, F.J., Sguazza, G.H., Tizzano, M.A., Fuentealba, N., Galosi, C.M., Pecoraro, M.R. (2011): "First report of Israeli acute paralysis virus in asymptomatic hives of Argentina". *Revista Argentina de microbiología* 2011, 43, 84–86.
58. Soroker, V., Hetzroni, A., Yakobson, B., David, D., David, A., Voet, H., Slabetzki, Y., Efrat, H., Levski, S., Kamer, Y., et al.(2011): "Evaluation of colony losses in Israel in relation to the incidence of pathogens and pests". *Apidologie* 2011, 42, 192–199.
59. Vicente-Rubiano, M., Kukielka, D., de las Heras, A.I., Sanchez-Vizcaino, J.M. (2013): "Presence, quantification and phylogeny of Israeli acute paralysis virus of honeybees in Andalusia (Spain)". *Spanish J. Agricult. Res.* 2013, 11, 708–713.

60. Chunsheng H., Hadassah R., Slabezki Y., Chejanovsky N. (2014): "Dynamics of the Presence of Israeli Acute Paralysis Virus in Honey Bee Colonies with Colony Collapse Disorder" Entomology Department, Institute of Plant Protection
61. Yanping, P., Chen, J., Charles, E., Murphy, R., Gutell, M., Pettis, J., et al (2009): "Morphological, Molecular, and Phylogenetic Characterization of *Nosema ceranae*, a Microsporidian Parasite Isolated from the European Honey Bee, *Apis mellifera*" <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2008.00374.x>
62. Fries, I., Feng, F., Silva, A., Slemenda S.B., Pieniazek N.J. (1996): "Nosema ceranae n. sp. (Microspora, Nosematidae), Morphological and Molecular Characterization of a Microsporidian Parasite of the Asian Honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae)" *Europ. J. Protistology* 32, 356 - 365
63. Burges, H., Canning, D., Hulls, E.U. (1974): "Ultrastructure of *Nosema oryzaephili* and the taxonomic value of the polar filament". *J. Invertebr. Pathol.*, 23:135–139.
64. Liu, T.P. (1984): "Ultrastructure of the midgut of the worker honey *Apis mellifera* heavily infected with *Nosema apis*". *J. Invertebr. Pathol.*, 44:103–105.
65. Higes, M., Martin, R., Meana, A (2006): "Nosema ceranae, a new microsporidian parasite in honey bees in Europe". *Journal of Invertebrate Pathology* 92: 93-95.
66. Oldroyd, B.P. (2007): "What's killing American honey bees?" *PLoS Biology*, 5(6) 1195-1199.
67. Mayack, C., Naug, D. (2009): "Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection". *Journal of Invertebrate Pathology*, 100, 185-188.
68. Evison, S.E. (2015): "Chalkbrood: epidemiological perspectives from the host–parasite relationship". *Current Opinion in Insect Science* 2015, 10:65–70
69. Aizen, M.A., Garibaldi, L.A., Cunningham, S.A., Klein, A.M (2009): "How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production". *Ann Bot (Lond)* 2009, 103:1579-1588.
70. Theantana, T., Chantawannakul, P., (2008): "Protease and b-N-acetylglucosaminidase of honey bee chalkbrood pathogen *Ascospaera apis*". *J Apicult Res*, 47:68-76. 10.
71. Cornman, R.S., Bennett, A.K., Murray, K.D., Evans, J.D., Elsik, C.G., Aronstein, K.(2012): "Transcriptome analysis of the honey bee fungal pathogen, *Ascospaera apis*: implications for host pathogenesis". *BMC Genomics*, 13:285.
72. Vojvodic, S., Jensen, A.B., James, R.R., Boomsma, J.J., Eilenberg, J. (2011): "Temperature dependent virulence of obligate and facultative fungal pathogens of honey bee brood". *Vet Microbiol*, 149:200-205.
73. Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D., Le Conte, Y. (2010): "Diet effects on honeybee immunocompetence". *Biol Lett*, 6:562-565.
74. Sandrock, C., Tanadini, M., Fauser-Misslin, A., Potts, S.G., Neumann, P.(2014): "Impact of chronic neonicotinoid exposure on honeybee colony performance and queen supersedure". *PLoS One*, 9:e103592.
75. Omar, M.O.M., Moustafa, A.M., Ansari, M.J., Anwar, A.M., Fahmy, B.F., Al- Ghamdi, A., Nuru, A. (2014): "Antagonistic effect of gut bacteria in the hybrid carnolan honey bee *Apis mellifera carnica*, against *Ascospaera apis*, the causal organism of chalkbrood disease". *J Apicult Sci*, 58:17-27.
76. Holloway, B., Sylvester, H.A., Bourgeois, L., Rinderer, T.E.(2012): "Association of single nucleotide polymorphisms to resistance to chalkbrood in *Apis mellifera*". *J Apicult Res* , 51:154-163.
77. Hedtke, K., Jensen, A.B., Genersch, E. (2011): "Evidence for emerging parasites and pathogens influencing outbreaks of stress-related diseases like chalkbrood". *J Invert Pathol* , 108:167-173
78. Stanimirović, Z., Stevanović, J., Ćirković, D. (2008a): "Possible causes of the collony collapse disorder (CCD) I deo". *Pčelarski žurnal* 1, 2-7.
79. Stanimirović, Z., Stevanović, J., Ćirković, D. (2008b): "Possible causes of the collony collapse disorder (CCD) I deo". *Pčelarski žurnal* 2, 10-15.
80. Stanimirović, Z., Stevanović, J., Ćirković, D. (2008c): "Possible causes of the collony collapse disorder (CCD) III deo". *Pčelarski žurnal* 3, 21-25.

81. Gifford, C. (2011): Colony Collapse Disorder the vanishing honeybee (*Apis Mellifera*) University of Colorado at Boulder.
82. Sumner, D.A., Hayley B. (2006): "Bee-economics and the Leap in Pollination Fees." Giannini Foundation of Agricultural Economics. Department of Agriculture and Resource Economics at UC Davis
83. Stokstad, E. (2007): "ENTOMOLOGY: The Case of the Empty Hives." *Science* 316.5827 970-72.
84. Kiheung, A., Xie, X., Riddle J., Pettis J., Huang, Z. (2012): "Effects of Long Distance Transportation on Honey Bee Physiology". Hindawi Publishing Corporation *Psyche* Volume 2012, Article ID 193029.
85. Kaplan, J. K. (2008): "Colony Collapse Disorder: A Complex Buzz." *Agricultural Research* 56.5:8-11.
86. Broznic, D., Milin, C. (2014): "Neonikotinoidi - Agonisti nikotinskih acetilkolinskih receptora". Departman za kemiju i biokemiju, Sveučilište u Rijeci.
87. Theobald, T. (2010): "Do We Have a Pesticide Blowout?". *Bee Culture* 66-69.
88. Blacquière, T., Smagghe, G., van Gestel, A.M., Mommaerts, V. (2012): "Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment". *Ecotoxicology* (2012) 21:973–992
89. Decourtye, A., Devillers, J., Genecque, E., Le Menach, K., Budzinski, H., Cluzeau, S., Pham-Dele'gue, M.H. (2001): "Impairment of olfactory learning performances in the honey bee after long term ingestion of imidacloprid". In: Belzunces LP, Pellissier C, Lewis GB (eds) Hazard of pesticides to bees. INRA, Paris, pp 113–117
90. Laurino, D., Porporato, M., Patetta, A., Manino, A. (2011): "Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees laboratory tests". *Bull Insectol* 64:107–113
91. Iwasa, T., Motoyama, N., Ambrose, J.T., Roe, M.R. (2004): "Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*". *Crop Prot* 23:371–378
92. Suchail, S., Guez, D., Belzunces, L.P. (2000): "Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies". *Environ Toxicol Chem* 19:1901–1905
93. Brunet, J.L., Badiou, A., Belzunces, L.P. (2005): In vivo metabolic fate of [C-14]-acetamiprid in six biological compartments of the honeybee, *Apis mellifera* L". *Pest Manag Sci* 61:742–748
94. Decourtye, A., Devillers, J., Genecque, E., Le Menach, K., Budzinski, H., Cluzeau, S., Pham-Dele'gue, M.H. (2005) : "Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*". *Arch Environ Contam Toxicol* 48:242–250
95. Abbott, V.A., Nadeau, J.L., Higo, H.A., Winston, M.L. (2008): "Lethal and sublethal effects of imidacloprid on *Osmia lignaria* and clothianidin on *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae)". *J Econ Entomol* 101:784–796
96. Gregorc, A., Ellis, J.D. (2011): "Cell death localization in situ in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides". *Pest Biochem Physiol* 99:200–207
97. El Hassani, A.K., Dacher, M., Garry, V., Lambin, M., Gauthier, M., Armengaud, C. (2008): "Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*)". *Arch Environ Contam Toxicol* 54:653–661
98. Decourtye, A., Armengaud, C., Renou, M., Devillers, J., Cluzeau, S., Gauthier, M., Pham-Dele'gue, M.H. (2004): "Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.)". *Pest Biochem Physiol* 78:83–92
99. Mayack, C., Naug, D., (2009): "Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection". *Journal of Invertebrate Pathology* 100, 185–188.
100. Harrison, J.F., Camazine, S., Marden, J.H., Kirkton, S.D., Rozo, A., Yang, X., (2001): "Mites not make it home: tracheal mites reduce the safety margin for oxygen delivery of flying honeybees". *Journal of Experimental Biology* 204, 805–814.

101. Schulz, D.J., Huang, Z.Y., Robinson, G.E., 1998. Effects of colony food storage on behavioral development in honey bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 42, 295–303.
102. Toth, A.L., Kantarovich, S., Meisel, A.F., Robinson, G.E., (2005): “Nutritional status influences socially regulated foraging ontogeny in honey bees”. *Journal of Experimental Biology* 208, 4641–4649.
103. Naug, D. (2009): “Nutritional stress due to habitat loss may explain recent honeybee colony collapses”. Department of Biology, Colorado State University, Fort Collins USA
104. Cotter, S.C., Raubenheimer, S.S., Wilson, D.K. (2011): “Macronutrient balance mediates trade-offs between immune function and life history traits”. *Func Ecol* 2011, 25:186-198.
105. Franc, a, T.G.D., Zorzella-Pezavento, I.L., Chiuso-Minicucci, S.F.G., daCunha, F., Sartori (2009): “Impact of malnutrition on immunity and infection”. *J Venm Anim Toxins* 2009, 15:374-390.
106. Grimble, R.F. (2001): “Nutritional modulation of immune function”. *Proc Nutr Soc* 2001, 60:389-397.
107. Schmid-Hempel, P. (2005): “Evolutionary ecology of insect immune defenses”. *Annu Rev Entomol* 2005, 50:529-551.
108. Erler, S., Denner, A., Bobis, O., Forsgren, E., Moritz, R.F. (2014): “Diversity of honey stores and their impact on pathogenic bacteria of the honeybee, *Apis mellifera*”. *Ecol Evol* 2014, 4:3960-3967.
109. van Dooremalen, C., Stam, E., Gerritsen, L., Cornelissen, B., van der Steen, J., van Langevelde, F., Blacquiere, T. (2013): “Interactive effect of reduced pollen availability and *Varroa destructor* infestation limits growth and protein content of young honey bees”. *J Insect Physiol* 2013, 59:487-493.
110. Brodschneider, R., Moosbeckhofer, R., Crailsheim K. (2010): “Surveys as a tool to record winter losses of honey bee colonies – a 2 year case study in Austria and South Tyrol, Tyrol”. *J. Apic. Res.* 49, 23–30.
111. Brodschneider, R., Crailsheim, K. (2010): “Nutrition and health in honey bees”. *Apidologie*, Springer Verlag, 2010, 41 (3),
112. Naug, D. (2009): “Nutritional stress due to habitat loss may explain recent honeybee colony collapses”. *Biol. Conserv.* 142, 2369–2372.
113. LeBlanc, B.W., Eggleston, G., Sammataro, D., Cornett, C., Dufault, R., Deeby, T., Cyr, E.S. (2009): “Formation of hydroxymethylfurfural in domestic high- fructose corn syrup and its toxicity to the honey bee (*Apis mellifera*)”. *J Agric Food Chem* 57(16):7369–7376
114. Mao, W., Schuler, M.A., Berenbaum, M.R. (2013): "Honey constituents up-regulate detoxification and immunity genes in the western honey bee *Apis mellifera*". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 110 (29 April 2013): 8842–46
115. Sharmal, V. P., Kumar, N. R. (2010): “Changes in honeybee behaviour and biology under the influence of cellphone radiations”. *Current Science*, VOL. 98, NO. 10, pp. 1376-1378
116. Sahib, S. (2011): “Impact of mobile phones on the density of honeybees”. *Public Administration and Policy Research*, Vol. 3, pp. 131-117
117. Mixson, T.A., Abramson, C., Nolf, S.L., Johnson, G.A., Serrano, E., Wells, H. (2009): “Effect of GSM cellular phone radiation on the behavior of honey bees (*Apis mellifera*)”. *Science of Bee Culture*. 2009; 1(2):22-27.
118. Winston, M.L. (1987): “The biology of the honey bee”. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.

119. Le Conte, Y., Navajas M. (2008): "Climate change: Impact on honey bee populations and diseases". *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 2008, 27 (2), 499-510
120. Chauzat, Marie-Pierre (2006): "A Survey of Pesticide Residues in Pollen Loads Collected by Honey Bees in France." *Journal of Economic Entomology* 99.2: 253-62.
121. Aguilar, R., et al. (2006): "Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis". *Ecol. Lett.* 9, 968–980
122. Gallai, N. et al. (2009): "Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline". *Ecol. Econ.* 68, 810–821
123. Rucker, R., Thurman, N., Burgett M. (2016): "Colony collapse and the Economic Consequences of Bee Disease: Adaption of Environmental Changes". CEnREP working paper 16-018.
124. Munawar, M. S., Shazia R., Mahjabeen S., Niaz s., Amjad, M. (2009): "The Pollination by Honeybee (*Apis Mellifera* L.) Increases Yield of Canola (*Brassica Napus* L.)." *Pakistan Entomology* 31.2 (2009):103-06.
125. UPOREDNA ANALIZA STANJA U POGLEDU SINDROMA MISTERIOZNOG NESTAJANJA PČELA (CCD) U SRBIJI, CRNOJ GORI I BOSNI I HERCEGOVINI (2015) Projekat: Pčela=Biodiverzitet(B=B) Ref. 14_PA06-C1_B=B
126. U.S. Department of Agriculture (USDA). 2009. Colony Collapse Disorder Progress Report. CCD
127. Smart, M. D., Pettis, J. S., Euliss, N., & Spivak, M. S. (2016): "Land use in the Northern Great Plains region of the US influences the survival and productivity of honey bee colonies". *Agriculture Ecosystems & Environment*, 230, 139-149.
128. Matthew, Y. (2017): "Evaluation of Honeybee Declines in North America and Europe". *Environmental Studies* 190
129. <http://scientificbeekeeping.com/the-nosema-twins-part-1/>