



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Департман за ветеринарску медицину



Мирко Бозало

**ЗНАЧАЈ И КОНТРОЛА ГЉИВИЧНИХ
ИНФЕКЦИЈА ПЧЕЛА**

Дипломски рад

Нови Сад, 2026.



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Департман за ветеринарску медицину**



Кандидат

Бозало Мирко

Ментор

Проф. др Нада Плавша

**ЗНАЧАЈ И КОНТРОЛА ГЉИВИЧНИХ
ИНФЕКЦИЈА ПЧЕЛА**

Дипломски рад

Нови Сад, 2026.

**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 Николина Милошевић, редовни професор - председник
комисије***

за ужу научну област Болести животиња и хигијена анималних производа

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Департман за ветеринарску медицину

Др Ненад Стојанац, ванредни професор - члан

за ужу научну област Болести животиња и хигијена анималних производа

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Департман за ветеринарску медицину

КРАТАК САДРЖАЈ

Кречно и камено легло представљају веома тешка гљивична обољење легла свих каста пчела (матица, радилице и трутови) у пчелињој заједници. Обе врсте обољења карактерише перорална инфекција, тихо уношење у пчелињак, лагано ширење, упорно одржавање и коначно смрт пчелињег друштва. Ове болести су повезане са леглом, док одрасле пчеле не оболевају, али могу бити преносиоци болести.

За појаву болести нарочито значајну улогу имају неспецифични фактори, као што су микроклима у кошници, повећана влажност, прехлађено легло, недостатак хране, хладноћа, неконтролисана употреба антибиотика и акарицида, примена пестицида и др. Примарни извор заразе су угинуле пчелиње ларве на чијој површини су распрострањене гљивице. Пчеле углавном износе мумифициране ларве из ћелија саћа и изван кошнице неколико дана након појаве првих знакова болести, док споре још нису развијене. У том случају споре се стварају на избаченим мумијама испред лета кошница, одакле ветром могу бити разнесене по ближој и даљој околини пчелињака. Ношене ветром, споре могу доспети у нектар, полен и воду који тако постају секундарни извори заразе.

Кречно легло или аскосфероза је углавном бенигно обољење пчелињег легла изазвано гљивицом *Ascospaera apis*. Уобичајена је и распрострањена болест која може резултирати озбиљним смањењем броја радилица, а самим тим и укупном продуктивношћу пчелиње заједнице.

Камено легло је ретка болест легла коју изазивају гљивице из рода *Aspergillus* као што су *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* и *Aspergillus niger*. Разлог велике забринутости због присуства *Aspergillus-a* код медоносне пчеле је производња конидија у ваздуху, што може довести до алергијске бронхопулмоналне аспергилозе у плућном паренхиму људи, што указује да је ова болест пчела зоонозног карактера.

У раду ће бити анализирана најзначајнија гљивична обољења која угрожавају пчелиње заједнице и начин како извршити препознавање, узорковање и терапију ових обољења.

Кључне речи: пчеле, кречно легло, камено легло, неспецифични фактори

ABSTRACT

Chalbrood and stonebrood are very serious fungal diseases of brood of all castes of bees (queen, worker and drone) in the bee community. Both types of diseases are characterized by oral infection, silent introduction into the apiary, slow spread, persistent maintenance and finally death of the bee colony. These diseases are associated with the brood, while adult bees do not get sick, but they can be disease carriers.

Non-specific factors play a particularly important role in the occurrence of the disease, such as the microclimate in the hive, increased humidity, overcooled brood, lack of food, cold, uncontrolled use of antibiotics and acaricides, application of pesticides, etc. The primary source of infection is dead bee larvae on the surface of which fungi are widespread. Bees generally carry mummified larvae from the cells of the comb and out of the hive a few days after the first signs of the disease appear, while the spores have not yet developed. In this case, spores are produced on the mummies thrown out in front of the hives, from where they can be blown by the wind to the immediate and distant surroundings of the apiary. Carried by the wind, the spores can end up in nectar, pollen and water, which thus become secondary sources of infection.

Chalbrood or ascospheerosis is a generally benign disease of bee brood caused by the fungus *Ascospheera apis*. It is a common and widespread disease that can result in a serious reduction in the number of workers, and therefore the overall productivity of the bee community.

Stonebrood is a rare brood disease caused by fungi of the genus *Aspergillus* such as *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger*. The reason for great concern about the presence of *Aspergillus* in honey bees is the production of conidia in the air, which can lead to allergic bronchopulmonary aspergillosis in the lung parenchyma of humans, which indicates that this disease of bees is zoonotic in nature.

The paper will analyze the most important fungal diseases that threaten bee communities and how to recognize, sample and treat these diseases.

Keywords: honey bees, Chalbrood, Stonebrood, non-specific factors

САДРЖАЈ

1. УВОД.....	1
2. ЦИЉ И ЗАДАТАК РАДА	4
3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ	5
4. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ.....	6
4.1. БИОЛОГИЈА МЕДОНОСНЕ ПЧЕЛЕ.....	6
4.1.1. Организација пчелиње заједнице.....	6
4.1.2. Животни циклус и исхрана	7
4.1.3. Врсте медоносних пчела.....	8
4.1.4. Животни циклус медоносних пчела.....	8
4.2. ГЉИВИЧНЕ БОЛЕСТИ ПЧЕЛА	8
4.1.1. Кречно легло	9
4.1.1.1. Етиологија.....	9
4.1.1.2. Епизотиологија	10
4.1.1.3. Патогенеза	11
4.1.1.4. Клиничка слика.....	11
4.1.1.5. Промене на ларвама	12
4.1.1.6. Промена легла у целини.....	14
4.1.1.7. Дијагноза	15
4.1.1.9. Микроскопски преглед	15
4.1.1.10. Културелно испитивање	16
4.1.1.12. Терапија и профилакса.....	17
4.1.2. КАМЕНО ЛЕГЛО	18
4.1.2.1. Етиологија.....	18
4.1.2.2. Епизоотиологија	19
4.1.2.3. Патогенеза	20
4.1.2.4. Клиничка слика.....	20
4.1.2.4.1. Промене на леглу	20

4.1.2.4.2. Промене код одраслих пчела	21
4.1.2.5. Дијагноза	22
4.1.2.6. Микроскопски преглед	22
4.1.2.7. Културелно испитивање	23
4.1.2.8. Терапија и профилакса.....	25
4.1.3. ХИГИЈЕНСКО ПОНАШАЊЕ ПЧЕЛА	26
4.1.3.1. Pin test метода	27
4.1.3.2. Самочишћење пчела.....	29
5. ЗАКЉУЧАК	30
6. ЛИТЕРАТУРА	32

1. УВОД

Медоносне пчеле (*Apis mellifera*) представљају једну од најзначајнијих врста опрашивача на свету. Њихова улога у екосистемима и пољопривреди далеко превазилази производњу меда и осталих пчелињих производа – оне су кључни фактор у очувању биодиверзитета и одрживости многих биљних врста. Опрашивање је један од основних процеса у природи који доприноси одржавању екосистема. Око 75% цветница и више од 35% глобалне производње хране зависи од активности пчела и других опрашивача. У економском смислу, процењује се да је глобална вредност услуга које пчеле пружају кроз опрашивање већа од 500 милијарди долара годишње. Ово јасно указује на то да без пчела светска пољопривреда не би могла да функционише у истом обиму, што би угрозило сигурност хране и економију многих земаља. Бројност пчелињих заједница се из године у годину значајно смањује, а један од кључних фактора који доводи до слабљења и угинућа пчела су разни патогени микроорганизми (бактерије, вируси, паразити, али и гљивице).

Поред нутритивних фактора, на појаву гљивичних обољења пчела утичу и други фактори, јако захлађење и нагле и екстремне климатске промене, недостатак уноса хранљивих материја, јака инфестација вирусних и бактеријских честица, висока инфестација *Varroa destructor* и *Nosema ceranae*, изложеност токсичним супстанцама нарочито пестицидима из групе неоникотиноида, стреса изазваног транспортом кошница у комерцијалне сврхе, као и промена у животној средини. Ипак, нутритивни дефицит игра централну улогу, јер директно утиче на виталност пчела и њихову способност да се изборе са другим штетним факторима.

Кречно и камено легло представљају веома тешка обољења легла свих каста пчела (матица, радилице и трутови) у пчелињој заједници. Обе врсте обољења карактерише перорална инфекција, тихо уношење у пчелињак, лагано ширење, упорно одржавање и коначно смрт пчелињег друштва. Ове болести су повезане са леглом, док одрасле пчеле не оболевају, али могу бити преносиоци болести. Гљивице су способне да нападну своје домаћине (у нашем случају пчеле) и савладају њихов имуни систем доводећи до појаве болести и угинућа ларве. Гљивице које узрокују кречно легло имају узак круг домаћина и

јединствени пут инфекције, њихов развој се се обавља искључиво сексуалном репродукцијом и има многе специфичне адаптације на домаћина. Због тога се многе методе дијагностике уобичајене за патогене гљиве инсеката могу лако усвојити за проучавање кречног легла. Гљивице које узрокују камено легло су факултативни патогени са широким спектром домаћина, они производе асексуалне конидије и њихова биологија инфекције подсећа на многе добро познате патогене гљивице инсеката, што олакшава коначну дијагностику. Поред патогених гљивица које узрокују кречно и камено легло, познате су и две врсте микроспоридија, *Nosema apis* и *Nosema ceranae*, које инфицирају дигестивни тракт одраслих медоносних пчела, али оне нису део наших истраживања.

За појаву болести нарочито значајну улогу имају неспецифични фактори, као што су микроклима у кошници, повећана влажност, прехлађено легло, недостатак хране, хладноћа, неконтролисана употреба антибиотика и акарицида, примена пестицида и др. Примарни извор заразе су угинуле пчелиње ларве на чијој површини су распрострањене гљивице. Пчеле углавном износе мумифициране ларве из ћелија саћа и изван кошнице неколико дана након појаве првих знакова болести, док споре још нису развијене. У том случају споре се стварају на избаченим мумијама испред лета кошница, одакле ветром могу бити разнесене по ближој и даљој околини пчелињака. Ношене ветром, споре могу доспети у нектар, полен и воду који тако постају секундарни извори заразе.

Кречно легло или аскофероза је углавном бенигно обољење пчелињег легла изазвано гљивицом *Ascospaera apis*. Уобичајена је и распрострањена болест која може резултирати озбиљним смањењем броја радилица, а самим тим и укупном продуктивношћу пчелиње заједнице. Болест се не преноси на одрасле пчеле.

Камено легло је ретка болест легла коју изазивају гљивице из рода *Aspergillus* као што су *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* и *Aspergillus niger*. Гљивице су уобичајени становници земљишта и такође су патогене за друге инсекте, птице и сисаре. Болест је тешко идентификовати у раној фази инфекције. Разлог велике забринутости због присуства *Aspergillus-a* код медоносне пчеле је производња конидија у ваздуху, што може довести до алергијске бронхопулмоналне аспергилозе, плућног аспергилома или чак инвазивне аспергилозе у плућном паренхиму након удисања од стране људи, што указује да је ова болест пчела зоонозног карактера. Пчеле радилице чисте заражено легло и

пчелиња заједница се може опоравити у зависности од фактора као што су јачина друштва, ниво заразе и хигијенске карактеристике соја пчела.

Гљивична обољење су у мањој мери присутна код нас на терену, али имају тенденцију даљег ширења, пре свега због недовољне стручне контроле пчелињака и обавезног спровођења законских мера за откривање, сузбијање и искорењивање болести, неконтролисане сеобе пчелињих друштава на пчелиње паше као и неконтролисане примене антибиотика, што за последицу има остатке антибиотика у меду и другим пчелињим производима, као и веома значајан поремећај микрофлоре у дигестивном тракту пчела. Посебну пажњу у току прегледа пчелињих заједница треба посветити прегледу на камено легло, зато што је то болест зоонотског карактера.

У овом раду ћемо се осврнути на најзначајнија гљивична обољења која угрожавају пчелиње заједнице и начин како извршити препознавање, узорковање и терапију ових оболења.

2. ЦИЉ И ЗАДАТАК РАДА

Главни циљ овог рада је:

- извршити анализу утицаја гљивичних обољења пчела (кречног и каменог легла) на здравље пчелињих заједница, кроз преглед научне литературе и релевантних истраживања са терена.

Очекивани резултати укључују боље разумевање улоге предиспонирајућих фактора (влага, лоша пчеларска пракса, недостатак квалитетне хране, низак хигијенски статус матице и др.) у одржавању здравља пчела и предлоге за побољшање пчеларске праксе у циљу смањења негативних последица и настанка гљивичних болести пчела и пчелињег легла.

3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ

Анализирана је научна литература - чланци у научним часописима, приручници, водичи, уџбеници и друге прихваћене публикације из области које се тичу етиологоје, епизоотиологије, патогенезе, и клиничке слике коју узрокују гљивице *Ascosphaera apis* и *Aspergillus flavus* код пчела, уз посебан фокус на епизоотиолошку ситуацију као и мере контроле и сузбијања. Примењене су неексперименталне методе дескрипције, дедукције и компилације.

4. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

Постоји велики број паразита, бактерија, гљивица и вируса, који нападају пчелиње заједнице где оне да живе, од најхладнијих до најтоплијих предела Земљиног покривача. Пчела може да преживљава од -50 до $+50$ °C. Ове болести медоносних пчела наносе сваке године велике губитке пчеларству. О значају ових болести најбоље говори податак да је ОИЕ уврстила 7 болести пчела у своју легислативу - *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. За постављање коначне дијагнозе инфективних болести одраслих пчела, пчелињег легла, као и болести и аномалије матице у обзир се морају узети: епизоотиолошка анамнеза, клиничка слика, патоморфолошки налаз и лабораторијска дијагностика. Сумња на одређену болест се поставља на основу епизоотиолошке анамнезе, клиничке слике и патоморфолошког налаза, а коначна дијагноза се потврђује валидним лабораторијским методама. Заразне болести пчела имају велики економски значај и од брзине и тачности постављене дијагнозе зависи и ефикасност предузетих мера и терапије у њиховом сузбијању и искорењивању.

4.1. БИОЛОГИЈА МЕДОНОСНЕ ПЧЕЛЕ

Медоносне пчеле (*Apis mellifera*) су друштвени инсекти који живе у организованим заједницама и имају кључну улогу у опрашивању биљака. Њихова таксономска класификација сврстава их у ред *Hymenoptera*, фамилију *Apidae*, и род *Apis*, који обухвата више врста медоносних пчела прилагођених различитим климатским условима.

4.1.1. Организација пчелиње заједнице

Пчеле могу да живе само у сложеној заједници коју чине све три касте пчела (једна матица, више стотина до пар хиљада трутова у активном периоду године и више десетина хиљада радилица зависно од периода године:

- Матица – једина полно зрела женка, чија је главна улога полагање јаја и одржавање хемијске равнотеже кошнице путем феромона. Развој матице

траје 16 дана. Живи неколико година, али је њен потенцијал најбољи у првој, евентуално у другој години живота. Полаже јаја за све три касте пчела (оплођена и неоплођена) из којих се развијају ларве, лутке и одрасли инсекти. Матица полаже јаја у нашим климатским условима од фебруара до новембра. Број дневно положених јаја варира од неколико десетина до чак 2.000 јаја.

- Радилце – стерилне женке које обављају све активности у кошници, укључујући негу легла, сакупљање нектара и одбрану. Развој пчеле радилце траје 21 дан. После рођења пчела радилца обавља кућне послове у кошници (хигијена и исхрана легла, производња матичне млечи, производња воска, прерада и складиштење меда и полена које преузима од старијих пчела излетница, из природе. Од 18. дана постаје стражарица и после 21. дана постаје излетница када у кошницу доноси мед, полен, прополис и воду. Њихов животни век је кратак и износи максимално до 42 дана, мада истраживања потврђују да је животни век смањен на само тридасетак дана због последица пестицида и других штетних материја у исхрани пчела.
- Трутови – мужјаци чија је једина улога оплодња матице, након чега умињавају. Развој трута траје најдуже, и износи 24 дана. Уз оплодњу трутови имају улогу и у одржавању тоpline и радног расположења у кошници. Такође живе 40 до 50 дана као и радилце и у кошници су присутни само у активном периоду године.

4.1.2. Животни циклус и исхрана

Пчеле пролазе кроз фазе јајета, ларве, лутке и одрасле јединке. Од момента полагања јаја, до развоја пчеле радилце која је способна да буде излетница мора да прође 42 дана (21 дан траје развој, а 21 дан по рођењу пчеле радилце обављају послове искључиво у кошници). Исхрану ларви врше младе пчеле радилце, а она се заснива на комбинацији меда, полена и матичне млечи код свих каста осим матичних ларви које се хране само матичном млечи. Исхрана пчела се заснива на нектару и полену – мед служи као главни извор угљених хидрата, док полен обезбеђује неопходне протеине, витамине и минерале.

4.1.3. Врсте медоносних пчела

Поред *Apis mellifera*, најпознатије врсте укључују:

- *Apis cerana* – азијска медоносна пчела, отпорнија на неке болести.
- *Apis dorsata* – гигантска пчела, гради гнезда на отвореним површинама.
- *Apis florea* – патуљаста пчела, насељава тропске пределе.

Поред рода *Apis*, важну улогу у опрашивању имају и дивље пчеле попут бумбара (*Bombus*), масонских пчела (*Osmia*) и других самотарских врста.

4.1.4. Животни циклус медоносних пчела

Животни циклус медоносних пчела започиње полагањем јајета у ћелију саћа. После три дана, из јајета се излеже ларва која се храни матичним млечем, а затим поленом и медом. После неколико дана, радилице затварају ћелију воском, а унутар ње се ларва пресвлачи и претвара у лутку. Након одређеног периода (16 дана за матицу, 21 дан за радилицу и 24 дана за трута), одрасла пчела излази из ћелије и започиње свој живот у кошници.

4.2. ГЉИВИЧНЕ БОЛЕСТИ ПЧЕЛА

Кречно и камено легло су две гљивичне болести медоносне пчеле повезане са леглом.

Кречно легло или аскосфероза је углавном бенигно обољење пчелињег легла изазвано гљивицом *Ascospaera apis*. Уобичајена је и распрострањена болест која може резултирати озбиљним смањењем броја радилица, а самим тим и укупном продуктивношћу пчелиње заједнице. Болест се не преноси на одрасле пчеле.

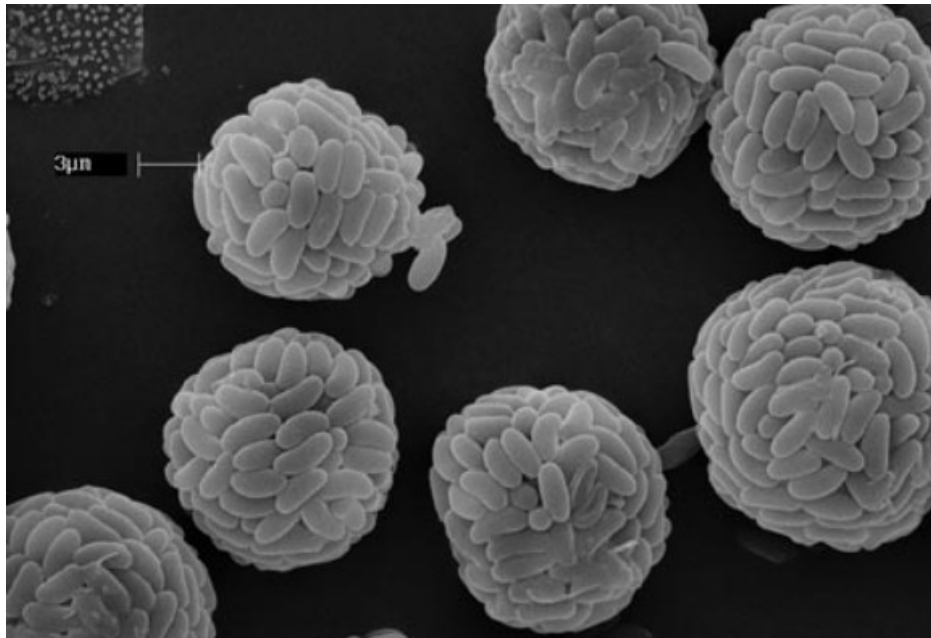
Камено легло је ретка болест легла коју изазивају гљивице из рода *Aspergillus* као што су *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* и *Aspergillus niger*. Гљивице су уобичајени становници земљишта и такође су патогене за друге инсекте, птице и сисаре. Болест је тешко идентификовати у раној фази инфекције. Разлог велике забринутости због присуства *Aspergillus-a* код медоносне пчеле је производња конидија у ваздуху, што може довести до алергијске

бронхопулмоналне аспергилозе, плућног аспергилома или чак инвазивне аспергилозе у плућном паренхиму након удисања од стране људи, што указује да је ова болест пчела зоонозног карактера. Пчеле радилице чисте заражено легло и пчелиња заједница се може опоравити у зависности од фактора као што су јачина друштва, ниво заразе и хигијенске навике соја пчела.

4.1.1. Кречно легло

4.1.1.1. Етиологија

Ascospaera apis је хетероталусна гљивица која припада фамилији *Ascosphaeraceae* и обухвата преко 30 родова. Има способност да ствара мушки и женски мицелијум, а спајањем полова стварају се округли фруктификациони органи у виду округлих циста које су испуњене спорама. Цисте су светложуте до тамно браон боје, а понекад смеђе зелене. Пуцањем циста ослобађају се споре овалног облика код којих након 24 часа нагло расте мицелијумски пупољак (исклијавање споре). Пречник цисте у којој се налазе споре износи од 9.0 до 19 μm док су појединачне споре дужине 3.0 до 4.0 μm и ширине 1.4 до 2.0 μm [1].



Слика 1. Споре *Ascospaera apis*
Извор: [2]

Узрочник кречног легла веома је распрострањен у природи и веома је отпоран. Дуго преживљава у земљишту, води, мумифицираним лешевима ларви,

где остаје инфективан и више од 20 година. Гљивице преживљавају у средњем цреву и садржају медног мехура одраслих пчела, а могу да се одржавају у млечу [3].

4.1.1.2. Епизотиологија

Кречно легло се углавном појављује спорадично. У светској пчеларској индустрији болест је први пут описана 1911. године у Немачкој [4]. Године 1969. болест је први пут забележена код медоносних пчела у Калифорнији и од тада се налази у већини држава и провинција Сједињених Америчких Држава и Канаде [5,6] Болест је дијагностикована и у нашој земљи. Појављује се углавном у пролеће када температура легла опада са нормалних 35°C на 30°C, а као последица смањеног укупног броја пчела.

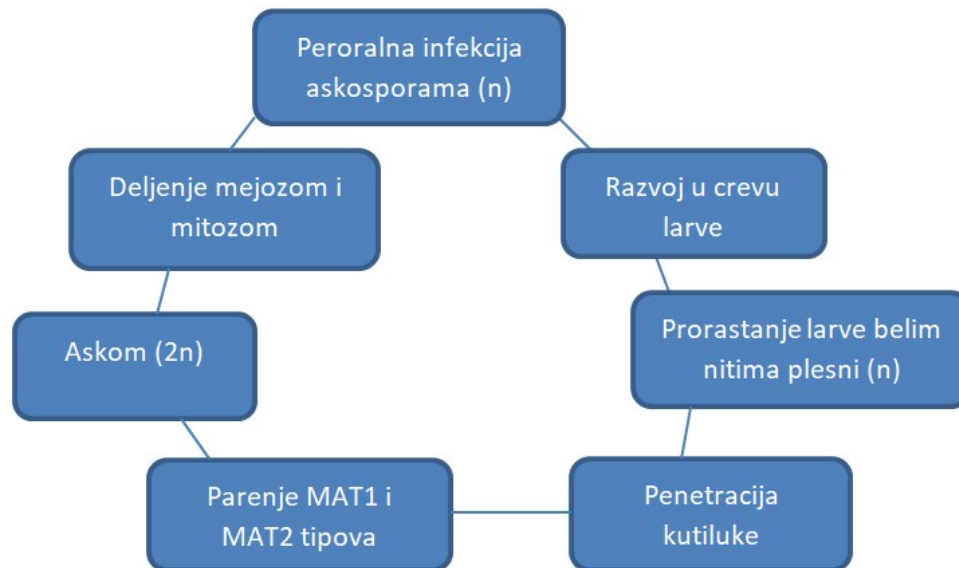
За појаву болести нарочито значајну улогу имају неспецифични фактори, као што су микроклима у кошници, повећана влажност, прехлађено легло, недостатак хране, хладноћа, неконтролисана употреба антибиотика и акарицида, примена пестицида и др. [3]. Примарни извор заразе су угинуле пчелиње ларве на чијој површини су развијена расплодна тела са узрочницима болести. Пчеле углавном износе мумифициране ларве из ћелија саћа и изван кошнице неколико дана након појаве првих знакова болести, док споре још нису развијене. У том случају споре се стварају на избаченим мумијама испред лета кошница, одакле ветром могу бити разнесене по ближој и даљој околини пчелињака. Ношене ветром, споре могу доспети у нектар, полен и воду који тако постају секундарни извори заразе [7].

Заражене матице такође могу преносити и ширити споре узрочника кречног легла. Ако из било којег разлога пчеле не одстране мумифициране ларве из кошнице док су још беле, на њиховој површини стварају се споре које пчеле разносе по саћу и деловима кошнице. Пчелари могу преносити и ширити болест уношењем матица, радилица, прибором, прихрањивањем зараженим медом и поленом те уношењем поклопљеног и непоклопљеног легла из заражене у незаражену заједницу [7].

4.1.1.3. Патогенеза

Инфекција ларви спорама *Ascospaera apis* настаје најчешће перорално преко контаминиране хране и воде, а ретко преко површине тела [10]. На почетку инфекције оболевају трutowске, а затим и радиличке ларве. Од кречног легла оболевају ларве старе два до четири дана [9]. Прогутане споре проклијају у цреву заражене ларве и продиру кроз зид црева у тело ларве. Беле нити плесни прорасту цело тело ларве па она на крају угине, обично два дана након испружања и поклапања [11].

Новија истраживања указују на улазак узрочника кречног легла кроз кожу ларве при чему гриња *Varroa sp.* служи као вектор у преношењу и уношењу спора у пчелињу ларву. Убадањем ларви, *Varroa* може унети узрочника старијим пчелињим развојним облицима који су, иначе, отпорнији на болест. Из таквих заражених ларви развијају се младе пчеле са тешким променама на летном мишићу због којих не могу летети [7].



Слика 2. Животни циклус узрочника кречног легла

Извор: [12]

4.1.1.4. Клиничка слика

Промене се појављују на леглу у целини и на ларвама. Симптоми болести у колонијама могу се видети по присуству мумија испред улаза на поду или на тлу, испод кошнице [13]. Болест се појављује у инапаратној и акутној форми.

Код инапаратне форме не настаје значајно угинуће ларви, али је узрочник присутан у меду, саћу и дигестивном тракту ларви. Акутна форма болести настаје снижењем температуре и повећањем влажности у кошници и спољашњој средини (крај априла и почетак маја). Ларве угину после поклапања легла.



Слика 3. Мумије испред улаза у кошницу

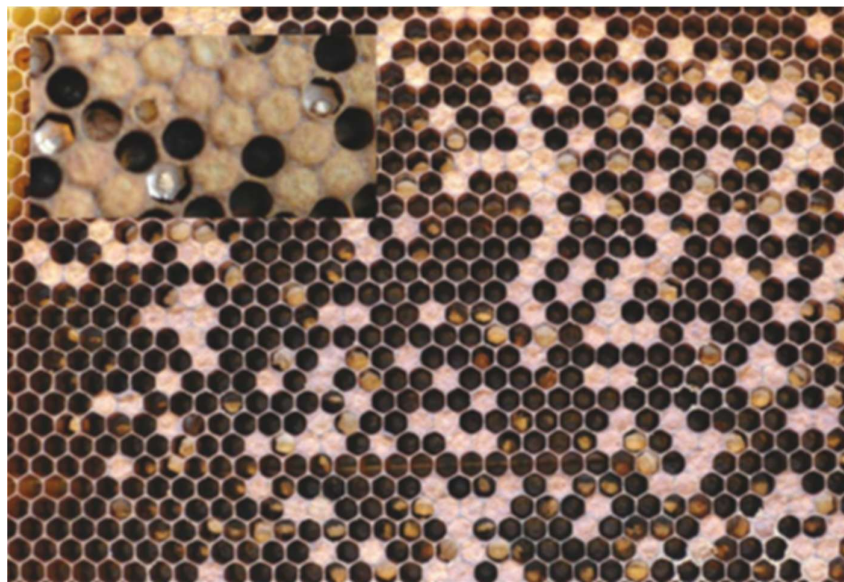
Извор: <https://www.bee-safe.eu/articles/bee-thoughts/honey-bee-health-management/>



Слика 4. Мумифициране ларве на тлу
Извор: www.beeAware.org

4.1.1.5. Промене на ларвама

На почетку болести ларве су седефасто беле, касније беложућкасте боје, меке и глатке. Временом ларвице постају хрпаве, крте, ломљиве и подсећају на гомилице креча сиво-беле боје. Према [1]. заражене ларве умиру у прва два дана након затварања и убрзо наком умирања се шире и почињу прекривати белим мицелијумом гљивица.



Слика 5. Оквир са леглом из колоније медоносних пчела са клиничким симптомима кречног легла и крупним планом свежих мумија¹. Фотографија [9].

У каснијој фази болести неке ларве остају беле, док друге постају смеђе или сиве и на крају црне и такви остаци могу се наћи и на покопљеним и непоклопљеним ћелијама саћа. Уколико се стресе саће у којем има старог кречног легла, јасно се чује како тврде ларве ударају у зидове ћелија [7].

¹ У многим ћелијама, мумије кречног легла су делимично уклоњене од стране пчела радлица



Слика 6. Мумифициране ларве у саћу

Извор: <https://doi.org/10.1590/S1519-9940210332020>



Слика 7. Оболеле ларве

Извор: <https://doi.org/10.1590/S1519-9940210332020>

4.1.1.6. Промена легла у целини

Младе инфициране ларве се налазе раштркане међу здравим леглом, док се старије, већ мумифициране ларве, налазе у поклопљеним ћелијама које су пчеле отвориле. Поклопци ћелија су углавном нормалног изгледа или могу да буду благо улегнути са белим пегамма по површини. Када се ножем пресече поклопљено легло, мумифициране ларве лако испадају из ћелија. Када мицелијум *Ascosphaera apis* прође кроз поклопце ћелија, прерасте и прекрије спољашњу површину поклопаца, затворено легло има изглед као да је посуто брашном или кречом [3].



Слика 8. Промене на леглу

Извор: <http://www.honey.org.au/chalk-brood/>

4.1.1.7. Дијагноза

Сумња на кречно легло се поставља на основу изгледа легла, епизоотиолошке анамнезе и времена појављивања [8]. Тачна дијагноза поставља се у лабораторији, микроскопским прегледом мумифицираних ларви или изоловањем *Ascospharea apis* на вештачким хранљивим подлогама, за шта се доставља саће са промењеним леглом, величине 10x10 центиметара, или мумифициране ларве (свеже или суве, беле или тамнозелене боје). Коначна дијагноза се потврђује важећим молекуларним методама.

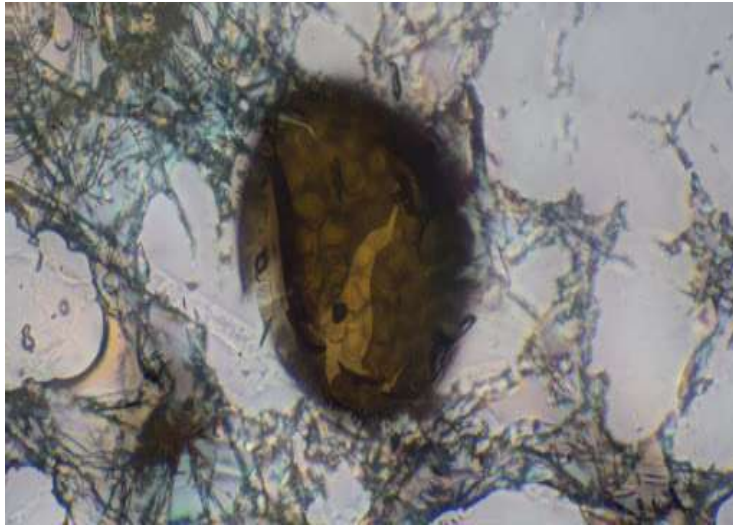
4.1.1.8. Макроскопска дијагноза

Типични симптоми уочени у пчелињој заједници погођеној кречним леглом су неправилни воштани поклопци преко легла и отворене ћелије разасуте по рамовима са леглом. Поклопци ћелија такође могу имати мале рупе или изгледати благо спљоштено. Мумије кречног легла често се могу видети у саћу, на улазу у кошницу или на подњачи. Посматрање саћа може открити различите фазе болести: свеже лешеве ларви прекривене белим мицелијумом налик памуку и исушене мумије које изгледају као беле, чврсте грудвице налик кречу или комбинацију оба. Беле исушене мумије изгледају као мали комадићи креде, што је дало име болести, а тамне мумије су обојене плодиштима гљиввице. Дијагноза на терену се углавном заснива на присуству мумија кречног легла (као што је горе описано). Након теренске дијагнозе, обично је потребан микроскопски преглед како би се потврдило присуство циста са спорама у узорцима помоћу технике размаза на микроскопској плочици. Споре се могу монтирати на микроскопску плочицу са капљицом дестиловане воде и посматрати под увећањем од 100–400 пута [9].

4.1.1.9. Микроскопски преглед

За прављење нативног препарата потребне су епрувете, стаклени штапић, физиолошки раствор, предметне плочице и покровне љуспице. Неколико угинулих ларви се стави у епрувету, прелије са 0.5 до 1 ml физиолошког раствора и лагано промеша. Стакленим штапићем се кап припремљеног материјала пренесе на микроскопску плочицу и прекрије покровном љуспицом, а препарат се посматра под увећањем од 400x (пута). Налаз спора или мешкова

светложуте до тамнобраон боје који су испуњени спорама указује да се ради о болести кречног легла [3].



Слика 9. Цисте *A. apis* испуњене мешковима
Izvor: <http://windowbee.com/ascospheara-apis/>

4.1.1.10. Културелно испитивање

Многе технике су коришћене за гајење *Ascospheara apis* у истраживачке сврхе. Неки од најчешће коришћених медија су кромпир-декстрозни агар (PDA), квасац-глукозно-скробни агар (YGPSA), Sabouraud декстрозни агар, али врло добро расту и на подлогама са високим садржајем шећера (MY-20) [1,15]. *Ascospheara apis* може да расте у широком температурном опсегу од 22°C до 37°C са оптималним растом на 30°C [14,16,18].

4.1.1.11. Молекуларне методе

Коначна дијагноза кречног легла поставља се применом молекуларних метода детекције *Ascospheara apis*. Ланчана реакција полимеразе (PCR) се све више користи за детекцију микроорганизама у хуманој и анималној популацији, па тако и гљивичних обољења пчела. Регион унутрашњег транскрибованог сепаратора (ITS) јединице нуклеарног рибозомалног понављања је локус који се најчешће користи за молекуларну идентификацију врста гљива [19] и сада је прихваћен као општи бар-код маркер за гљиве [20]. У ITS региону откривена је

готово никаква варијација међу сојевима *A. apis* [17; 9] и дизајнирано је неколико специфичних прајмера за врсту *A. apis* који циљају ITS. Без обзира на то који се прајмери користе, присуство траке након PCR амплификације указује на присуство ДНК *A. apis*. ДНК се може екстраховати стандардним комплетима као што су DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen), Ultra Clean plant DNA isolation kits (Mo Bio Laboratories) или PrepMan Ultra reagent (Applied Biosystems) користећи протоколе произвођача [21].

4.1.1.12. Терапија и профилакса

У нашој земљи налазе се у продаји неки лекови намењени сузбијању кречног легла, који су углавном на бази нистатина и неких других хемикалија. Нистатин се примењује у храни за пчеле и прскањем саћа са болесним леглом. Саће са кречним леглом и унутрашњост кошнице болесне заједнице прска се са 0.5% воденом суспензијом нистатина (5 грама на литар воде) два пута у размаку од пет до седам дана. Поступак би требало поновити након седам дана после нестанка знакова болести [7].

За сузбијање кречног легла могу се примењивати и конзерванси: натријум пропионат и аскорбинска киселина (витамин С). По грам наведених препарата се умеша у пола килограма медно-шећерног теста или уобичајене поленове замене и даје три пута са размаком од 7 дана. Позитиван учинак, посебно витамина С, у сузбијању кречног легла темељи се на повећању опште отпорности пчелиње заједнице, а не на директном деловању на узрочника болести [7].

Код бенигног тока довољно је да се рамови са болесним леглом избаце из кошнице, а пчелиња заједница доведе у добро биолошко узгојно стање [8]. У тежим случајевима инфекције рамове са болесним леглом треба изнети из кошнице и уништити. Пчелињу заједницу треба прихрањивати и утоплити. Такође, у тежим случајевима болести неопходно је заменити матицу, пчеле пренети у суву кошницу на нов и осунчан терен, а стару кошницу темељно очистити и дезинфиковати лет лампом [8]. Саће са болесним леглом спалити или претопити, а такође спалити и све отпатке из кошнице. Још један начин за контролу ширења гљивица без употребе лекова и конзерванаса је генетска селекција пчела са већим хигијенским понашањем. [23]. открили су да је

хигијенско понашање повезано са отпорношћу пчелињих заједница на узрочника болести кречног легла.

Према [25] гљивице *Ascosphaera apis* отпорне су на биоциде попут сумпорне киселине, јодираних супстанци и других производа који се обично користе за дезинфекцију кошница заражених болестима.

За спречавање болести кречног легла основно је обезбедити такве услове који неће повољно утицати на размножавање гљивица:

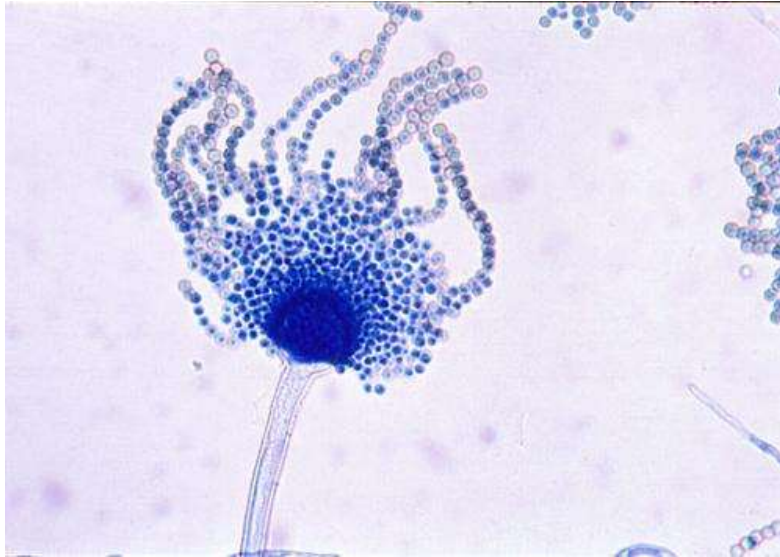
- Кошнице са пчелињим друштвима треба да буду постављене на сунчаном и сувом месту, где хладан и влажан ваздух не лежи.
- У току зимског периода обезбедити адекватну вентилацију у кошници, тако да се влага не задржава у саћу.
- Пчелиња друштва треба да буду јака и снабдевена квалитетном храном.
- Око кошница мора се одржавати хигијена и свака јача појава кречног легла мора се брзо санирати заменом матице која потиче од друштва без симптома тог обољења и стимулативном прихраном шећерним сирупом 1:1.
- Толерисањем других пчелињих болести увек ће се стварати услови за развој гљивица, па према томе пуна здравствена заштита онемогућиће и појаву гљивичних обољења.

4.1.2. КАМЕНО ЛЕГЛО

4.1.2.1. Етиологија

Камено легло је ретка болест легла изазвана са више гљивица из рода *Aspergillus* као што су *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* и *Aspergillus fumigatus* [8]. Аспергилоза и камено легло су зоонозе. *Aspergillus* spp. су космополитске филаментозне гљивице које се обично налазе у распадајућој вегетацији, семену, житарицама и тлу, где успевају као сапрофити. *Aspergillus* spp. могу бити штетне за људе [26]. Споре *Aspergillus flavus* су округле или неправилно сферичног облика, величине 2 x 3 до 5 x 7 μm . Боја спора може да буде бела, лимун-жута или тамнозелена.

Идеална температура за развој ових врста гљивица је између 33°C и 37°C, али могу да се размножавају на температурама између 7°C и 40°C. Минимално излагање температури изнад 60°C у трајању од 30 минута може девитализирати споре и хифе, дуге, разгранате нитасте структуре гљивица. Производе афлатоксин за који се претпоставља да је главни узрок смрти пчела заражених кречним леглом [27].



Слика 10. *Aspergillus flavus*²

Извор: М. Hedayati, Р. Bowyer, Р. Warn, А. Pasqualotto, 2007.

4.1.2.2. Епизоотиологија

Камено легло је распрострањено у целом свету, али код нас се јавља врло ретко. Болест је раширена у Европи, Америци, Аустралији [8]. Болест се изненада појављује у здравим пчелињим заједницама, а настанку болести погодује дејство неспецифичних фактора као што су: повећана влажност, слаба пчелиња друштва, присуство неких других болести, прихрањивање шећерним сирупом који садржи доста воде.

Примарни извор заразе су угинуле пчелиње ларве на чијој површини тела се налазе споре гљивице. Споре узročника могу да буду потпуно слободне и да се шире по целој кошници струјањем ваздуха или да упадају у полен и мед. Такође,

² *Aspergillus flavus*: Хумани патоген, алерген и произвођач микотоксина

пчеле их уносе у кошницу поленом и нектаром, а могу да их имају на ногама и длачицама. Пчелари могу преносити и ширити болест преношењем заражених оквира из једне у другу кошницу.

4.1.2.3. Патогенеза

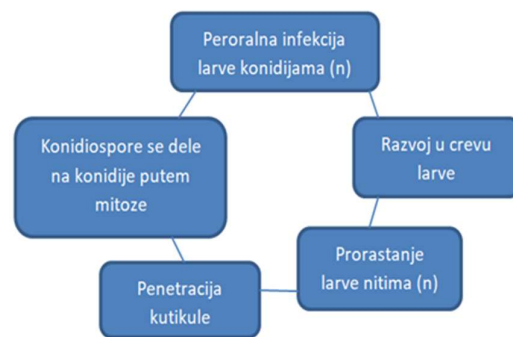
У природним условима, до инфекције ларви долази преко контаминираних хране перорално, ретко преко површине тела, тако што ларве пчела уносе конидиоспоре [27]. Мицелијум брзо прораста унутрашња ткива ларве пробијајући телесни зид и кутикулу у предњем делу и почиње да расте дуж кутикуле, формирајући тако за два до три дана лажну кожу [8]. Након тога мицелијум прераста и зидове ћелијског зида саћа у коме бораве ларве. Заражене ларве и лутке се након смрти претварају у тврде мумије налик камену.



Слика 11. Изглед инфицираног саћа

Извор:

<https://teca.apps.fao.org/teca/en/technologies/10031>



Слика 12. Животни циклус узročника каменог легла

Извор: [12]

4.1.2.4. Клиничка слика

Промене се појављују на леглу и одраслим пчелама.

4.1.2.4.1. Промене на леглу

Болест се појављује углавном на непоклопљеном леглу. На живим инфицираним ларвама се не примећују посебни знаци болести, али након утинућа ларве постају млитаве и добијају жућкастобелу боју. Касније се ларва осуши и постаје храпава. Мицелијум прораста цело тело ларве и избија на површину омотача. Док се не

почне размножавати полним спорама, осушена ларва има беложућкасту боју, а кад се створе споре добија жуто-зелену боју. Ако је узрочник *Aspergillus niger*, ларве добијају смеђе-црну боју.

На крају се ларва потпуно стврдне, као камен, због чега је ова болест добила назив камено легло. Плесан често испуни сав простор између ларве и зида ћелије и пчеле се труде да уклоне угинуле ларве из кошнице. Ларве угину обично када су испружене, након 5–6 дана [28]. Када се рам са угинулим леглом протресе, чује се звекет каменчића.



Слика 13. Окамењене ларве пчела
Извор: N. Plavša, I. Pavlović, (2017).



Слика 14. Камено легло
Извор: <http://windowbee.com/stony-mycosis/>

4.1.2.4.2. Промене код одраслих пчела

Промене се појављују 3–4 недеље после појаве болести на леглу. Аспергилоза одраслих пчела се најчешће јавља зими и у рано пролеће, пре развоја легла. Тела угинулих пчела су сува и тврда, обавијена зеленкастом или црном плесни.

Први знаци болести се испољавају у виду узнемирености пчела, оне напуштају своја уобичајена места, слабије лете, постају троме и имају необично понашање. Покушавају да полете, али брзо падају и након неколико сати угину [28].

На угинулим пчелама уочава се отврднуће торакса. Абдомен је савијен, а дигестивни тракт је отврднут. Промене су нарочито изражене на мишићном ткиву, које постаје мекано и беличасте боје, а изазване су дејством афлатоксина. Смрт настаје као последица токсемије [3].



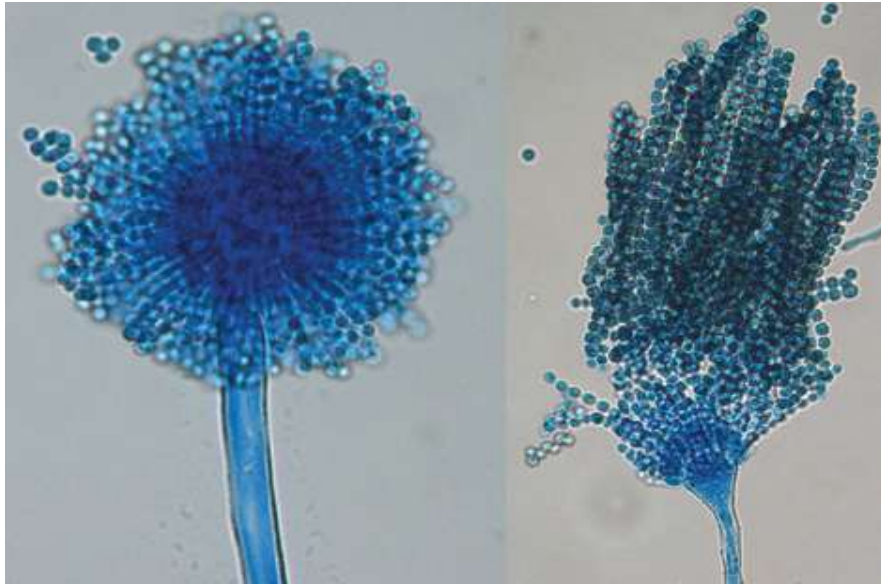
Слика 15. Одрасле пчеле обухваћене прораслим мицелијумом и плесни
Извор: <http://www.thehivelife.com/tag/mold/>

4.1.2.5. Дијагноза

Сумња на камено легло се поставља на основу епизоотиолошке анамнезе, клиничке слике и патоморфолошког налаза. Тачна дијагноза се поставља у лабораторији, микроскопским прегледом мумифицираних ларви или изоловањем гљивица на вештачким хранљивим подлогама [3]. На преглед се шаље рам са саћем, исечак саћа са промењеним леглом димензија 10x10 центиметара или мумифициране ларве [8]. Материјал треба прописно да се упакује и назначи да се ради о зоонози.

4.1.2.6. Микроскопски преглед

За прављење нативног препарата потребне су: пинцете, епрувете, физиолошки раствор, стаклени штапић, предметне плочице, покровне љуспице и микроскоп. Неколико уинулих ларвица се стави у епрувету и прелије са 0,5 до 1 ml физиолошког раствора. Затим се ларвице лагано промешају стакленим штапићем да би се са површине тела одвојиле споре или мешкови са спорама. Стакленим штапићем се узме кап припремљеног материјала, стави на микроскопску плочицу и прекрије покровном љуспицом. Налаз конидиоспора са стеригмама је доказ да се ради о кречном леглу или аспергилози пчела [3].

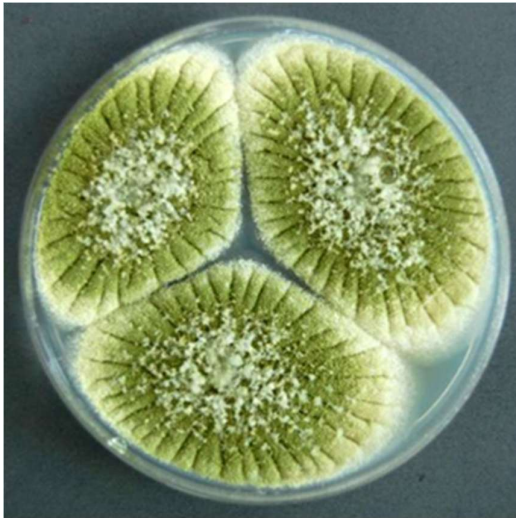


Слика 16. Конидиоспоре са стеригмама

Извор: <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/aspergillus/>

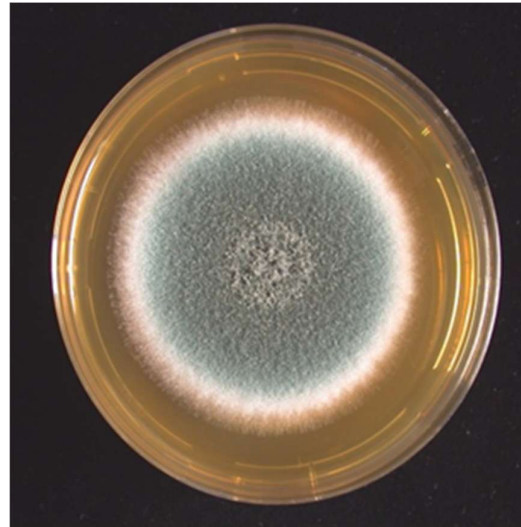
4.1.2.7. Културелно испитивање

Изоловање *Aspergillus flavus* се ради на Sabouraud агару, кромпир-декстроза агару са додатком 0.4% квасца или Czapek Dox агару који садржи сахарозу као извор угљеника и нитрате као извор азота [21]. На Czapek Dox агару колоније су зрнасте, равне, често са радијалним браздама, у почетку жуте, али временом постају светло до тамножуто-зелене. Уочено је да *Aspergillus* губи капацитет спорулације и вируленције након неколико преноса на стандардни медијум [22]. При раду треба бити опрезан и обавезно носити заштитну маску.



Слика 17. Колоније *A. flavus* на Czapek Yeast агару

Извор: <https://fungi.myspecies.info/file-colorboxed/937>



Слика 18. Колоније *A. fumigatus* на malt екстракт агару

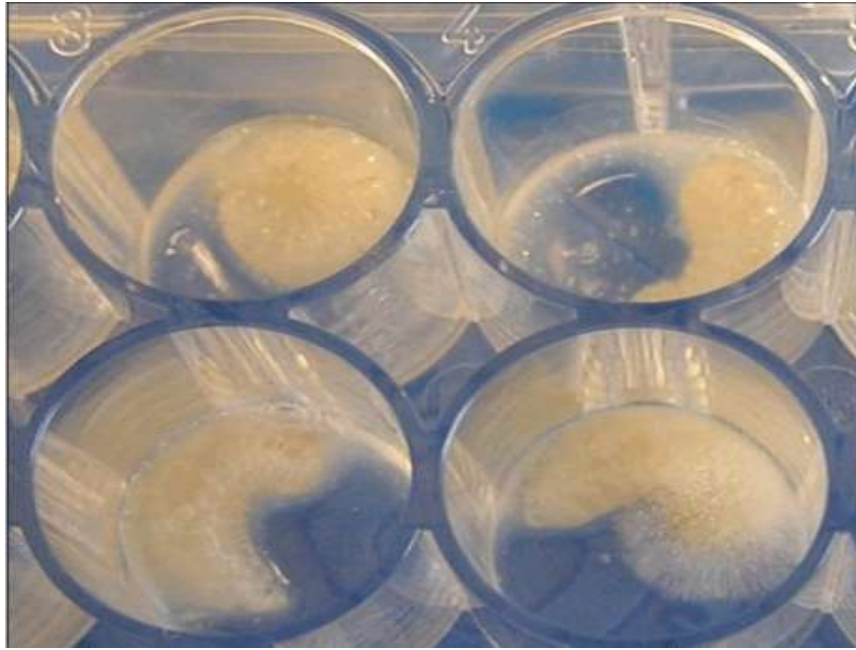
Извор: <http://www.abcdcatsvets.org/aspergilliosis/>



Слика 19. Колоније *A. niger* на malt екстракт агару

Извор: <https://fungi.myspecies.info/all-fungi/aspergillus-niger>

Биолошка испитивања могу се спровести коришћењем ларви узгојених *in vitro*, или колонија пчела. Појединачна инфекција ларви док су још у оквиру легла могућа је постављањем суспензија спора испред ларви. Спроведено је неколико експеримената са колонијама пчела [24].



Слика 20. In vitro узгајане ларве пчела заражене са *A. flavus*.³

Извор: https://www.researchgate.net/figure/In-vitro-reared-honey-bee-larvae-infected-with-Aspergillus-flavus-the-bottom-left-cell_fig6_258337177

4.1.2.8. Терапија и профилакса

У случају појаве аспергилозе пчела и каменог легла терапија се не спроводи. Болест се обавезно пријављује по закону, при чему је потребно спровести све ветеринарско-санитарне мере и приступити уништавању заражене заједнице [3]. Ако у болесном леглу има много угнутог легла и угнутих пчела, друштво се прво угуши сумпором, а угинуле пчеле и саће са угнулим ларвама се спаљују. Сматра се да ни мед из тако оболелих друштава није добар за људску употребу јер је познато да гљивица *Aspergillus flavus* може клијати у носним шупљинама људи који су инфицирани.

За спречавање болести каменог легла, као и код спречавања болести кречног легла, потребно је обезбедити услове који неће повољно утицати на размножавање гљивица.

³ Доња лева ћелија садржи ларве у раној фази болести, доња десна садржи ларве у каснијој фази са видљивим гљивичним телом и конидијама. Две горње ћелије садрже здраве ларве.

4.1.3. ХИГИЈЕНСКО ПОНАШАЊЕ ПЧЕЛА

Савремено пчеларство је оптерећено многобројним проблемима узгоја и здравствене заштите пчела, који изискују непрестана материјална улагања и додатно радно ангажовање пчелара. Једносмерна селекција матица и њиховог потомства у циљу добијања бољих производних резултата допринела је смањењу отпорности пчела на разне болести узроковане микроорганизмима, што има за последицу смањење производних резултата пчеларења уз стално повећање трошкова за здравствену заштиту и одржавање пчелињих заједница [29].

Једна од основних особина пчеле је подела рада унутар пчелиње заједнице, тако што свака старосна група обавља високо специјализоване дужности карактеристичне само за одређену старост и ова појава је позната као старосни полиетизам. Старосни полиетизам у пчелињим заједницама не представља само уско специјализовану, већ и високо прилагодљиву поделу рада која се огледа кроз низ задатака које, у току свог животног века, обављају радилице. На тај начин пчелиња заједница је у сваком тренутку високо прилагодљива на постојеће услове живота [31].

Као и код осталих животињских врста, тако је и понашање пчела условљено унутрашњим и спољашњим стимулусима. Својим највећим делом, ова физиолошка функција, посматрана као засебна особина, урођеног је карактера. Доказано је да и код пчела, као и код виших организама, понашање може бити модификовано искуством, тј. доказано је да пчеле поседују способност учења и памћења, који после свега неколико покушаја да се савлада одређени стимулус, препрека или околност, или да се упозна новина, тј. непознато, остају меморисани за читав животно век пчела.

Један од карактеристичних видова понашања је и хигијенско понашање пчела, које, као што је то и код осталих организама, служи превасходно одржавању хигијене тела, личног простора и хигијене потомака, краће или дуже време по доласку на свет [33,37]. Такво понашање доприноси бољем здравственом стању пчелињег друштва. Међутим, код пчела се хигијенско понашање доводи у везу и са резистенцијом на америчку трулеж (кугу) пчелињег легла, као и са резистенцијом на кречно и камено легло проузроковано гљивицама *Ascospheara apis*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus* [32; 35].

Хигијенско понашање укључује откривање мртвог или зараженог легла од стране пчела радилица, након чега следи отварање воштане ћелије и уклањање ларве [30].

Израженост својства хигијенског понашања код пчела може се испитати изрезавањем и смрзавањем дела легла и враћањем у заједницу након тога [38], смрзавањем дела легла течним азотом [34] или „pin test“ методом [39]. Код сваке од ових метода прати се успех уклањања угнутог легла кроз одређени временски период. Заједнице које након 48 сати очисте >95% ћелија смрзнутих течним азотом сматрају се врло хигијенским [34]. У Европи се у селекцијским програмима тестирање хигијенског понашања углавном изводи „pin test“ методом због једноставнијег извођења у односу на смрзавање легла (око 120 ћелија).

4.1.3.1. Pin test метода

Код тестирања „pin test“ методом, проценат очишћених угнутих ћелија легла оцењује се када је просек пчелињака 50% очишћених ћелија, јер је тада најизраженија разлика између хигијенских и нехигијенских заједница [40].

Из сваке кошнице у којој се прати хигијенско понашање узима се један рам са затвореним радиличким леглом. За овај тест се користе шаблони који уоквирују 100 до 120 ћелија. Шаблон се фиксира на поклопљено легло и маркирају се крајеви ромба, и након тога се танком иглом жртвују лутке.



Слика 21. Печат направљен од воска и игала, прислоњен на рам са затвореним леглом

Извор: http://polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/2014/12/Ledjanac_Sava.pdf

Узорковани рам са жртвованим делом легла се враћа на своје место у кошницу и после 24 часа се преброје ћелије које су отворене и комплетно очишћене. На основу резултата теста, разликују се три категорије пчелињих заједница у односу на хигијенско понашање:

- Суперхигијенске колоније – ефикасност елиминације жртвованог легла за 24 часа је једнака или већа од 95%.
- Хигијенске колоније – ефикасност елиминације жртвованог легла за 24 часа је у опсегу од 90 до 95%.
- Нехигијенске колоније – ефикасност елиминације жртвованог легла за 24 часа је мања од 90%.

Хигијенско понашање пчела састоји се из две компоненте: отклањања поклопца и уклањања легла. У заједницама у којима је ниско изражено хигијенско понашање ова расподела посла није видљива, док је код заједница које се састоје од 50% и више пчела код којих је изражено хигијенско понашање расподела јасно видљива [31]. Неки аутори наводе да је хигијенско понашање условљено старашћу пчела те да радилице средње старосне доби (пре него што постану излетнице) у највећој мери суделују у отклапању и уклањању угинулог легла [30].

Утицај уноса нектара на изражавање хигијенског понашања до данас је доста истраживан и поједини аутори истичу како унос нектара позитивно утиче на хигијенско понашање [38], док новија истраживања показују како унос нектара или прихране нема утицаја на хигијенско понашање [41, 42]. Такође, истраживања показују како јаче заједнице постижу боље резултате у испитивању хигијенског понашања [43; 33].

4.1.3.2. Самочишћење пчела

Својство самочишћења омогућава пчелама распршивање феромона и уклањање страних честица са тела [36]. Код медоносне пчеле самочишћење је забележено, али није толико изражено као код азијске пчеле [40,44].

Осим самосталног, пчеле се понекад могу чистити и међусобно, а у литератури се налази опис како пчела специфичним плесом може да позове друге пчеле како би је очистиле од наметника [45]. Код медоносне пчеле уобичајено је да се пчеле углавном самостално чисте, док код *Apis cerana* понекад и до четири пчеле чисте једну.

5. ЗАКЉУЧАК

Кречно и камено легло представљају веома тешка обољења легла свих каста пчела (матице, радилица и трутова) у пчелињој заједници. Обе врсте обољења карактерише перорална инфекција, тихо уношење у пчелињак, лагано ширење, упорно одржавање и коначно смрт пчелињег друштва.

Посебну пажњу у току прегледа пчелињих заједница треба посветити прегледу на камено легло, зато што је то болест зоонозног карактера.

Најбоље решење у борби против болести кречног и каменог легла представља добра пчеларска пракса, редован преглед кошница и рана дијагностика болести.

Не постоји препоручени хемијски третман за кречно и камено легло, међутим, постоји неколико стратегија управљања које су се показале успешним:

- Држање јаких пчелињих заједница са израженим хигијенским понашањем што обезбеђује брзо уклањање мумија од стране одраслих пчела радилица.
- Замена матице у болесној заједници матицом узгојеном из пчелињег друштва отпорног на болест значајно доприноси смањењу болести.
- Забрана коришћења саће из заражених заједница у друга друштва, зато што старо саће са леглом може бити резервоар гљивица.
- Кречно легло потпомажу одређени услови у кошници као што су ниска вентилација и висока влажност. Држање пчелињих заједница у кошницама благо нагнутих напред, тако да се кошница не скупља унутра, као и обезбеђивање да кошнице добију адекватну сунчеву светлост, може смањити вишак влаге у кошници.
- Пчелиње заједнице не смеју бити смештене у ниским, влажним, хладним просторима. Могу се проветравати постављањем малог дрвета испод ивице спољашњег поклопца (или добрим вентилационим отворима на кошници) како би се подстакао проток ваздуха.

- Побољшање нутритивног здравственог статуса пчелиње заједнице кроз квалитетну допунску исхрану поможе друштву да се одбрани од инфекције.

6. ЛИТЕРАТУРА

1. Bailey L, Ball BV. Honey bee pathology. 2nd ed. London: Academic Press; 1991.
2. Chorbiński P, Rypuła K. Studies on the morphology of strains *Ascosphaera apis* isolated from chalkbrood disease of the honey bees. *EJPAU*. 2003;6(2)
3. Bacić D, Obrenović S. Praktikum iz bolesti pčela. Beograd: Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine; 2016
4. Claussen P. Über die Pilzkrankheiten der Biene. *Mitt Biol Anst Land Forstwirtschaft*. 1921;10:1-25.
5. De Jong D, Morse RA. Chalk brood: a new disease of honey bees in the U. S. *Food Life Sci Q*. 1976;9:12-14.
6. De Jong D. A study of chalk brood disease of honey bees [master's thesis]. Ithaca (NY): Cornell University; 1977.
7. Sulimanović Đ, Zeba Lj, Marković J. Prepoznavanje i suzbijanje pčelinjih bolesti. Zagreb; 1995. p.71-85.
8. Plavša N, Pavlović I. Bolesti pčela. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet; 2017.
9. Jensen AB, Aronstein K, Flores JM, Vojvodic S, Palacio MA, Spivak M. Standard methods for fungal brood disease research. *J Apic Res*. 2013;52(1):1-20. doi: 10.3896/IBRA.1.52.1.13.
10. Wynns AA. The bee specialist fungus family *Ascosphaeraceae* and its allies: systematics, ecology and co-evolution with solitary bees [PhD thesis]. Copenhagen: University of Copenhagen; 2012.
11. Aronstein K, Holloway B. Honey bee fungal pathogen, *Ascosphaera apis*; current understanding of host-pathogen interactions and host mechanisms of resistance. *J Appl Ecol*. 2013;10(6):769-772.
12. Foley K. The ecology and evolution of *Aspergillus* spp. fungal parasites in honey bees [PhD thesis]. Santa Cruz (CA): University of California Santa Cruz; 201
13. Heath LAF. Development of chalk brood in a honey bee colony: a review. *Bee World*. 1982;63(3):119-130.
14. Heath LAF. Chalk brood pathogens: a review. *Bee World*. 1982;63(3):130-135.
15. Anderson DL, Gibson NL. New methods for isolating and propagating *Ascosphaera apis*. *J Apic Res*. 1998;37(3):189-196.
16. Anderson DL. Effects of temperature on the growth of *Ascosphaera apis*. *Bee World*. 1997;78(2):73-82.

17. Anderson DL, Karem G, Goolsby DJ. Genetic variation in the honey bee chalkbrood pathogen *Ascosphaera apis*. *Exp Mycol*. 1998;22(2):147-152.
18. Liang O, Chen D, Wang J. Effects of temperature, relative humidity and pH on germination of chalkbrood fungus, *Ascosphaera apis* spore. *J Appl Ecol*. 2000;11(6):869-872.
19. Nilsson RH, Kristiansson E, Ryberg M, Hallenberg N, Larsson KH. Intraspecific ITS variability in the kingdom Fungi as expressed in the international sequence databases and its implications for molecular species identification. *Evol Bioinform Online*. 2008;4:193-201.
20. Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA, et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(16):6241-6246.
21. Evans HC, Simmons J, Moore D. Isolation and culture of *Aspergillus* species from environmental and biological samples. In: Moore D, editor. *Fungal Biology*. London: Academic Press; 2013.
22. Scully LR, Bidochka MJ. A cysteine/methionine auxotroph of the opportunistic fungus *Aspergillus flavus* is associated with host-range restriction: a model for emerging diseases. *Microbiology*. 2006;152(1):223-232.
23. Gilliam M, Vandenberg J. Fungi. In: Morse RA, Flottum K, editors. *Honey bee pests, predators, & diseases*. 3rd ed. Medina (OH): AI Root Co; 1997. p. 81-110.
24. Gilliam M, Taber S, Lorenz BJ, Prest DB. Factors affecting development of chalk brood disease in colonies of honey bee *Apis mellifera*, fed pollen contaminated with *Ascosphaera apis*. *J Invertebr Pathol*. 1988;52(2):314-325.
25. Wilson MB, Brinkman D, Spivak M, Gardner G, Cohen JD. Regional variation in composition and antimicrobial activity of US propolis against *Paenibacillus* larvae and *Ascosphaera apis*. *J Invertebr Pathol*. 2015;124:44-50.
26. Pitt JI. The current role of *Aspergillus* and *Penicillium* in human and animal health. *J Med Vet Mycol*. 1994;32 Suppl 1:17-32.
27. Burnside CE. Fungous diseases of the honeybee. *Tech Bull U S Dept Agric*. 1930;149:1-43.
28. Bojanić-Rašović M. Značajnije gljivične bolesti pčela. *Glasnik odjeljenja prirodnih nauka Crnogorske akademije nauka i umjetnosti*. 2019;23:145-156.
29. Kulinčević J. *Pčelarstvo*. 9. dop. izd. Beograd: Partenon; 2016. p. 15-20, 238-242.
30. Arathi HS, Burns I, Spivak MS. Ethology of hygienic behaviour in the honey bee *Apis mellifera* L. *Ethology*. 2000;106(4):365-379.
31. Arathi HS, Spivak M. Influence of colony genotypic composition on the performance of hygienic behaviour in the honeybee, *Apis mellifera* L. *Anim Behav*. 2001;62(1):57-66
32. Spivak M, Downey DL. Field assays for hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J Econ Entomol*. 1998;91(1):64-70.
33. Spivak M, Gilliam M. Facultative expression of hygienic behaviour of honey bees in relation to disease resistance. *J Apic Res*. 1993;32(3-4):147-157.

34. Spivak M, Reuter GS. Performance of hygienic honey bee colonies in a commercial apiary. *Apidologie*. 1998;29(3):291-302.
35. Spivak M, Reuter GS. Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies, *Apis mellifera*, bred for hygienic behavior. *Apidologie*. 2001;32(6):555-565.
36. Boecking O, Spivak M. Behavioral defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* and *Ascosphaera apis*. *Apidologie*. 1999;30(2-3):141-158.
37. Stanimirović Z, Soldatović B, Vučinić M. *Biologija pčela: Medonosna pčela*. Beograd: Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine; 2000.
38. Momot JP, Rothenbuhler WC. Behaviour genetics of nest cleaning in honeybees. VI. Interactions of age and genotype of bees, and nectar flow. *J Apic Res*. 1971;10(1):11-21.
39. Newton DC, Ostasiewski NJ. A simplified bioassay for behavioral resistance to American foulbrood in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Am Bee J*. 1986;126(4):278-281.
40. Büchler R. Die auswirkung einer brutunterbrechung auf reproduktion und uberleben zugegebener *Varroa*-milben. *Ann Univ Mariae Curie-Sklodowska*. 1992;47:13-18.
41. Panasiuk B, Skowronek W, Gerula D. Effect of period of the season and environmental conditions on rate of cleaning cells with dead brood. *J Apic Sci*. 2009;53(1):95-103.
42. Bigio G, Schürch R, Ratnieks FLW. Hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae): effects of brood, food, and time of the year. *J Econ Entomol*. 2013;106(6):2280-2285.
43. Boecking O, Drescher W. The influence of honey bee colony strength on hygienic behaviour. *Apidologie*. 1998;29(5):454-456.
44. Fries I, Huazhen W, Wei S, Jin CS. Grooming behavior and damaged mites (*Varroa jacobsoni*) in *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica*. *Apidologie*. 1996;27(1):3-11.
45. Land BB, Seeley TD. The grooming invitation dance of the honey bee. *Ethology*. 2004;110(1):1-10.