

# Nozemoza u pčelinjoj zajednici-usporedba zaraženosti radilica, trutova, radiličkog i trutovskog legla sporama nozemoze ( *Nosema* spp. )

---

Jakšić, Magdalena

Master's thesis / Diplomski rad

2024

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:143178>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-31**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK**

Magdalena Jakšić, apsolvent

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Modul Zaštita bilja

**Nozemoza u pčelinjoj zajednici – usporedba zaraženosti radilica, trutova,  
radiličkog i trutovskog legla sporama nozemoze (*Nosema spp.*)**

**Diplomski rad**

Osijek, 2024.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK**

Magdalena Jakšić, apsolvent

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Modul Zaštita bilja

**Nozemoza u pčelinjoj zajednici – usporedba zaraženosti radilica, trutova,  
radiličkog i trutovskog legla sporama nozemoze (*Nosema spp.*)**

**Diplomski rad**

Osijek, 2024.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK**

Magdalena Jakšić, apsolvent

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Modul Zaštita bilja

**Nozemoza u pčelinjoj zajednici – usporedba zaraženosti radilica, trutova,  
radiličkog i trutovskog legla sporama nozemoze (Nosema spp.)**

**Diplomski rad**

1. prof.dr.sc. Zlatko Puškadija, predsjednik
2. doc.dr.sc. Marin Kovačić, mentor
3. prof.dr.sc. Tihomir Florijančić, član
4. izv.prof.dr.sc. Ivica Bošković, zamjenski član

Osijek, 2024.

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. PREGLED LITERATURE</b> .....	<b>2</b>
2.1. Sistematska klasifikacija medonosne pčele ( <i>Apis mellifera</i> ).....	2
2.2. Morfologija medonosne pčele .....	3
2.2.1. Radilice.....	4
2.2.2. Matica.....	5
2.2.3. Trutovi .....	5
2.2.4. Radiličko i trutovsko leglo .....	6
2.3. Probavni sustav medonosne pčele .....	7
2.4. Osnovne značajke zdravog legla.....	8
2.4.1. Jednolikost i kompaktnost legla .....	9
2.4.2. Izgled pčelinjeg legla.....	11
2.4.3. Okolišni uvjeti pčelinjeg legla.....	12
2.5. Bolesti medonosne pčele .....	13
2.5.1. Nozemoza .....	14
2.5.2. Razvoj i širenje bolesti .....	15
2.5.3. Liječenje i suzbijanje bolesti .....	16
<b>3. MATERIJALI I METODE RADA</b> .....	<b>18</b>
3.1. Skupljanje uzoraka.....	19
3.2. Priprema uzoraka .....	20
3.3. Analiza uzorka .....	24
<b>4. REZULTATI</b> .....	<b>27</b>
<b>5. RASPRAVA</b> .....	<b>30</b>
<b>6. ZAKLJUČAK</b> .....	<b>32</b>
<b>7. POPIS LITERATURE</b> .....	<b>33</b>
<b>8. SAŽETAK</b> .....	<b>34</b>
<b>9. SUMMARY</b> .....	<b>35</b>
<b>10. POPIS TABLICA</b> .....	<b>36</b>
<b>11. POPIS SLIKA</b> .....	<b>37</b>
<b>12. POPIS GRAFIKONA</b> .....	<b>38</b>
<b>TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA</b>	
<b>BASIC DOCUMENTATION CARD</b>	

## 1. UVOD

Medonosna pčela (*Apis mellifera* L.) ključni je oprašivač mnogih biljaka, uključujući one koje čine značajan dio naše prehrane. Pčele su evoluirale iz grupe predatorskih osa prije više od 100 milijuna godina. Najstariji fosil pčele, pronađen je u Burmi i pripada vrsti *Melittosphex burmensis*. Ovaj fosil ima karakteristike koje su kombinacija osa i pčela, što potvrđuje njihovu zajedničku evolucijsku liniju. Ostali fosili pčela također pokazuju postupni prijelaz od primitivnih do današnjih pčela koje imaju svoje specifičnosti ishrane samo hranom biljnog porijekla. Ovaj prijelaz iz osa na pčele bio je ključan trenutak u evoluciji oprašivača, omogućivši razvoj simbioze između pčela i cvjetnica. Prve pčele vjerojatno su bile slične današnjim primitivnim pčelama, što znači da nisu živjele u zajednicama. Njihova uloga u oprašivanju doprinosi održavanju bioraznolikosti i ekosustava kakvog danas poznajemo. Bez pčela, mnoge biljke ne bi mogle proizvesti plodove i sjeme, što bih imalo katastrofalne posljedice za bioraznolikost samoniklog bilja i poljoprivredu.

Danas postoji oko 20 000 vrsta pčela, od kojih većina prikuplja pelud i nektar s cvijeća. Zbog velike ekonomske važnosti za ljude, medonosna pčela danas je najpoznatija vrsta pčela. Više od jedne trećine prehrambenih usjeva oprašuje upravo medonosna pčela. Tako doprinose povećanju uroda u voćnjacima, vrtovima i poljima te istovremeno omogućavaju opstanak zdravim biljkama. Osim prehrambenih usjeva, pčele oprašuju i samoniklo cvijeće koje bi inače imalo poteškoća sa stvaranjem sjemenki.

Nozemoza je bolest koja pogađa medonosne pčele, a uzrokuju je mikrospore iz roda *Nosema*. Dva su glavna uzročnika ove bolesti *Nosema apis* i *Nosema ceranae*. Oba uzročnika inficiraju crijevne stanice pčela gdje se paraziti razmnožavaju i stvaraju spore koje se izlučuju kroz izmet, šireći infekciju među pčelama u košnici. Pčele koje su zaražene nozemozom pokazuju niz simptoma poput smanjenog odlaska iz košnice u svrhu prikupljanja, drhtanje krila i dijaretičnog izmeta. Ova bolest može značajno utjecati na zdravlje pčela i produktivnost košnica, što predstavlja ozbiljan problem za pčelare.

Cilj istraživanja ovoga rada je ispitati zaraženost različitih kasti pčela (radilica i trutova) u različitim stadijima razvoja (leglo i odrasle jedinke) sporama nozemoze.

Za potrebe pisanja ovoga rada provedeno je istraživanje na terenu i u laboratoriju.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Sistematska klasifikacija medonosne pčele (*Apis mellifera*)

Medonosna pčela (*Apis mellifera* L.) danas nastanjuje gotova sva područja svijeta i najbolje je opisana i ekonomski gledano, za ljude daleko najvažnija vrsta pčela (Laktić i Šekulja, 2008.).

U zoologijskom sustavu medonosna pčela (rod *Apis*) spada u koljeno Arthropoda, u razred Insecta (kukci). Razred Insecta ima 32 reda, a pčele spadaju u red Hymenoptera (opnokrilci), koji obuhvaća oko 120 000 opisanih vrsta i jedan je od vrstama najbrojnijih redova kukaca. Rod *Apis* spada u Apinae i dijeli se prema današnjim spoznajama na 9 vrsta (Ruttner, 1988., Meixner i sur., 2013., Chen i sur., 2016.).

Ljudskom djelatnošću pčele raznih krajeva donesene su na područja koja su autohtono nastanjivale druge podvrste, pa je danas vrlo teško precizno odrediti područja rasprostiranja pojedinih podvrsta. Nadalje, za razliku od vrsta koje se u pravilu međusobno ne miješaju, kod podvrsta to nije slučaj, tako da se na područjima geografskog preklapanja pojedinih podvrsta često nalaze posebni sojevi ili hibridi susjednih podvrsta (Laktić i Šekulja, 2008).

Vrsta *Apis mellifera* ima nekoliko podvrsta, koje su prilagođene različitim klimatskim uvjetima i geografski rasprostranjene širom svijeta. Neke od najpoznatijih podvrsta uključuju:

1. *Apis mellifera mellifera* (Europska tamna pčela)
2. *Apis mellifera ligustica* (Talijanska pčela)
3. *Apis mellifera carnica* (Kranjska pčela)
4. *Apis mellifera scutellata* (Afrička pčela)
5. *Apis mellifera caucasica* (Kavkaska pčela)

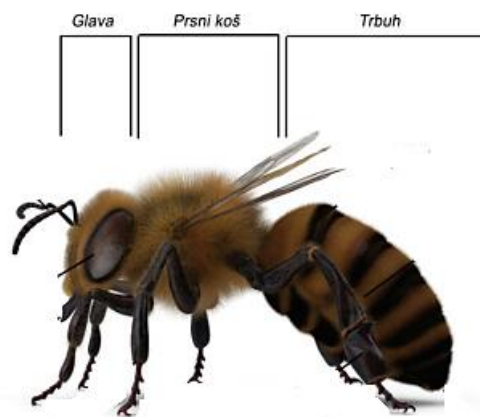
## 2.2. Morfologija medonosne pčele

Po tjelesnoj građi medonosne se pčele ne razlikuju mnogo od drugih insekata. Tijelo im je člankovite građe, što je osobito vidljivo kod ličinki. Tijekom individualnog razvitka (ontogeneze) članci na grudima i na glavi su srasli i nisu vidljivi kod odraslih jedinki, dok se na nogama i na zatku jasno vide. Tijelo pčela dijeli se na tri jasno odijeljena dijela (slika 1): glava, prsište i zadak (Laktić i Šekulja, 2008.).

Usni aparat pčele građen je od prednjeg dijela kojim grize hranu i stražnjeg dijela koji se naziva rilce pomoću kojeg pčela usisava tekućinu.

Na glavi pčela ima pet očiju (dva složena i tri jednostavna) koje joj služe za raspoznavanje boja u prirodi i orijentaciju. Osjet njuha pčela ima na ticalima te pomoću njih znaju koja košnica je njihov dom jer svaka pčelinja zajednica ima svoj miris. Na prsima su smještene tri para nogu i dva para krila. Na stražnjim nogama radilice imaju razvijenu košaricu koja zapravo predstavlja udubljenje s dlačicama koje joj pomaže prilikom skupljanja i transporta peludi.

Zajednica pčela smatra se jednom od najorganiziranijih zajednica u prirodi (slika 10). Može se smatrati čudom prirode jer način života i organiziranost funkcioniraju gotovo besprijekorno. U zajednici žive tri kaste pčela (slika 4): matica, radilica i trut.



Slika 1. Osnovna građa medonosne pčele

Izvor: <https://banatskarosa.wordpress.com/>



### 2.2.1. Radilice

Radilice su najbrojniji članovi pčelinje zajednice. Ovisno o dobu godine i okolišnim uvjetima broj im u zajednicama varira od nekoliko tisuća do nekoliko desetak tisuća. Pčele radilice nastaju iz oplođenih jaja koje matica polaže u radiličko saće. Za potpuni razvoj potreban je 21 dan. Od toga je tri dana jaje, sedam dana ličinka i jedanaest dana kukuljica.

Životni vijek radilica je od četiri do šest tjedana tijekom sezone intenzivnog uzgoja legla, te do nekoliko mjeseci u zimskom razdoblju (Radivojac, 2010.). Radilice su po veličini manje od matice i trutova. Osim po samoj veličini, različite su i po anatomskeoj građi tijela. Imaju zakržljale spolne organe, ne mogu se pariti s trutovima, pa stoga ne mogu ni nesti oplođena jaja. Neke od osnovnih razlika se očituju u tome što radilice imaju dobro razvijene i modificirane stražnje noge koje služe za prijenos peludi, imaju dugo rilce kojim sakupljaju nektar, te imaju dobro razvijen zadak sa žalcem kroz kojeg prolazi otrov u svrhu samoobrane.

Radilice su nedovoljno spolno razvijene ženke. Njihov zadatak je da rade. Poslovi koje obavljaju ponajviše ovisi o starosti. Prvo obavljaju poslove u košnici, hrane leglo i maticu, grade saće, preuzimaju nektar od izletnica, ventiliraju košnicu (Radivojac, 2010.). Kada se radilici razviju žlijezde za izlučivanje voska počinju s izgradnjom saća. Pčele izgrađuju saće uglavnom u proljetnom i ljetnom razdoblju kada ima unosa svježeg nektara i peludi iz prirode. U posljednjoj fazi rada unutar košnice, radilica bude na ulazu u košnicu (letu) gdje čuva ulaz od ulska štetnika ili pčela tuđica (Velagić, 2000.).



Slika 2. Pčele radilice unose pelud unutar košnice

Izvor: <https://opgbrezjan.hr/>

### 2.2.2. *Matica*

Matica (slika 3) je jedina spolno razvijena ženka u pčelinjoj zajednici. Matica ima potpuno razvijene jajnike i sjemenu vrećicu u kojoj čuva spremu trutova koju je prikupila prilikom sparivanja. U normalnim uvjetima u pčelinjoj zajednici može biti samo jedna matica (slika 10). Izgledom je duža od pčela radilica i trutova te ima kratka krila. Matica ima žalac koji koristi prilikom borbe s drugim maticama. Luči feromone putem kojih upravlja zajednicom. Matica može nositi oplođena i neoplođena jaja. Iz oplođenih jaja se razvijaju pčele radilice i matice, a iz neoplođenih trutovi. Matica može doživjeti i pet godina, a u intenzivnom pčelarstvu najbolje rezultate daje u prve dvije godine (Radivojac, 2010.).



Slika 3. Matica unutar košnice

Izvor: Marin Kovačić, 2022.

### 2.2.3. *Trutovi*

Trutovi su muške jedinke u pčelinjoj zajednici, čija osnovna uloga je sparivanje s maticama. Sparivanje matice i trutova se odvija izvan košnice na tzv. mjestu skupljanja trutova, području na kojemu se okupljaju trutovi i čekaju mladu maticu koja je spremna za sparivanje. Nakon uspješnog sparivanja s maticom trut ugiba. Osim sparivanja s maticom, trutovi imaju ulogu u održavanju mikroklimе i same harmonije u košnici.

Trutovi su po duljini dulji od radilice, ali kraći od matice, dok im je let sporiji i glasniji. Imaju znatno bolji vid od radilica, jer su im oči dvostruko veće. Trutovi se razvijaju partenogenetski iz neoplođenih jaja, a razvoj truta traje 24 dana. Devet do deset dana

nakon izlaska iz poklopljene stanice trut izlijeće na prve orijentacijske letove, a nakon 20 dana spolno dozrijeva.

Prosječan životni vijek truta je 50 dana. Dolaskom prvih hladnoća, pčele prestaju hraniti trutove i izbacuju ih iz košnica gdje oni potom ugibaju (Radivojac, 2010.).



Slika 4. Trut, matica i radilica

Izvor: <https://core.ac.uk/download/>

#### 2.2.4. Radiličko i trutovsko leglo

Pčelinje leglo može biti radiličko i trutovsko, dok se u matičnjacima razvijaju matice. Leglo još može biti poklopljeno i nepoklopljeno. Kada radilice zatvore stanice trutovskog legla, poklopci su ispupčeni, za razliku od ravnih poklopaca kod radiličkog legla. Ispupčeni poklopci su karakteristični, neravnog izgleda i upućuju na trutove. Ličinke trutova prolaze kroz nekoliko razvojnih stadija, hraneći se mliječi koje im donose radilice. Potrebno je 24 dana od jajeta do odraslog truta. Upravo zbog tog duljeg razvoja, trutovi su izloženi većem riziku zaraze grinjom *Varroa destructor*. Trutovsko leglo također može biti pokazatelj stanja košnice (slika 5).

Prekomjerna prisutnost trutovskog legla može ukazati na problem, u kojem matica ne polaže jaja ili polaže neoplođena jaja iz kojih se razvijaju trutovi. U takvim slučajevima, pčelari moraju poduzeti mjere kako bi vratili ravnotežu košnice.

Radiličko leglo odnosi se na razvoj pčela radilica koje su ključne za funkcioniranje i opstanak pčelinje zajednice. Matica polaže oplođena jaja u stanice saća i započinje razvoj radilica. Nakon tri dana iz jaja se izlegne ličinka. Šestog dana nakon izlijeganja, ličinke se prestaju hraniti i pčele radilice zatvaraju stanice saća voštanim poklopcima, unutar kojih ličinke prelaze u stadij kukuljica kroz proces potpune metamorfoze (12 dana). Radiličko

leglo podložno je raznim bolestima i parazitima (američka gnjiloća, europska gnjiloća i varoa). Redovito pregledavanje košnica pomaže u ranom otkrivanju.



Slika 5. Trutovsko leglo na donjem dijelu okvira

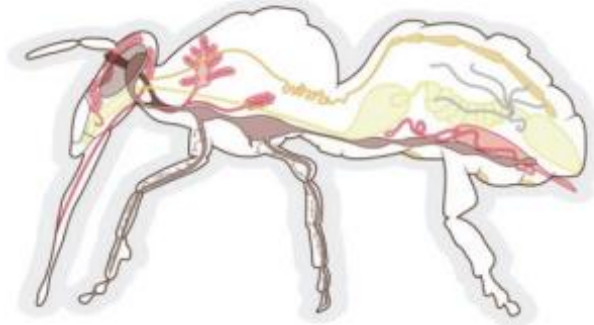
Izvor : Marin Kovačić, 2023.

### **2.3. Probavni sustav medonosne pčele**

Probavni sustav pčele započinje u ustima, a završava analnim otvorom (slika 6). Probavni trakt dijeli se na prednji dio, koji je zaslužan za unos i privremeno skladištenje hrane, a sastoji se od ždrijela, jednjaka i žlijezda, srednji dio koji se sastoji od srednjeg crijeva, gdje se hrana probavlja te stražnji dio u kojem se skupljaju ostatci neprobavljene hrane, a sastoji se od tankog i debelog crijeva, analnih žlijezda i malpigijevih cjevčica (Laktić i Šekulja, 2008.). Probavni sustav ima važnu ulogu u imunološkoj obrani pčele. Različiti mikroorganizmi koji žive u crijevima pčela pomažu u borbi protiv patogena i podržavaju zdravlje pčelinje zajednice. Zdrav probavni sustav ključan je za opstanak i produktivnost pčelinje zajednice (Laktić i Šekulja, 2008.).

Pčelari moraju biti na oprezu i paziti na ishranu svojih pčela, osiguravajući im pristup raznovrsnim izvorima nektara i peludi, te izbjegavati područja tretirana pesticidima i drugim kemijskim sredstvima koje mogu oštetiti mikrofloru i pčelinji probavni sustav. Važno je pčelama osigurati čistu vodu i zdrav okoliš. Cijeli probavni sustav pčele prilagođen je obradi nektra, peludi i meda. Nektar je bogat šećerima koji se brzo probavlja i pretvara u energiju, dok je pelud bogat proteinima, vrlo važan za rast i razvoj pčela,

osobito ličinki. Probavni enzimi u crijevima pomažu u razgradnji složenih molekula na jednostavne, lako apsorbirajuće tvari (Laktić i Šekulja, 2008.).



Slika 6. Probavni sustav pčele

Izvor: <https://edutorij-admin-api.carnet.hr/>

#### 2.4. Osnovne značajke zdravog legla

Pčelinje leglo nije samo središte reprodukcije već i ključni element zdravlja i snage cijele zajednice. Unutar zajednice radilice održavaju optimalne uvjete za razvoj legla, kontrolirajući temperaturu i vlažnost. Temperatura na području gdje se nalazi leglo održava na oko 34-35°C, što je idealno za razvoj ličinki i kukuljica. Pčele radilice postižu ovo mahanjem krilima kako bi cirkulirale zrak i održavale toplinu, ili zbijanjem oko legla kako bi ga zagrijale vibriranjem prsnih mišića u hladnijim uvjetima. U proljeće, kada cvjetanje biljaka osigurava obilje nektara i peludi, povećava se količina legla u zajednicama. Pčele radilice prikupljaju velike količine hrane kako bi podržale rastuće zajednice (slika 2). Tijekom ljeta, količina legla u zajednicama je na vrhuncu, a košnica je najproduktivnija. Dolaskom jeseni, pčele se pripremaju za zimu smanjujući broj novih jaja i usmjeravajući resurse na stvaranje zaliha meda i održavanje temperature unutar košnice.

Matica polaže mala, bijela, ovalna jaja u šesterokutne stanice saća, pričvršćujući ih za dno. Četvrtog dana iz jaja se izlegnu ličinke, koje radilice hrane mješavinom meda, peludi i matične mliječi, što omogućava ličinkama brz rast i razvoj. Devetog dana nakon zalijeganja jaja, pčele radilice poklapaju stanicu s ličinkomvoštanim poklopcima. Unutar poklopljenog saća, ličinke prolaze potpunu metamorfozu preko stadija ispružene ličinke i kukuljice (slika 11). Nakon završetka razvoja, odrasle pčele progrizu voštani poklopac i izlaze iz stanice saća.





Slika 7. Izgled zdrave pčelinje zajednice

Izvor: Marin Kovačić, 2020.

Postoje tri kaste u pčelinjoj zajednici (slika 9): radilice, trutovi i matica. Pčelinje leglo je od značaja za kontinuirani razvoj i opstanak zajednice, jer različite razvojne faze legla zahtijevaju pažnju i brigu pčela radilica kako bi se osigurala zdrava i produktivna zajednica (slika 7).



Slika 8. Životni ciklus pčelinje zajednice

Izvor: <https://vrtic-kapljica.hr/>

#### 2.4.1. Jednolikost i kompaktnost legla

Jednolikost i kompaktnost pčelinjeg legla ključni su indikatori zdravlja i učinkovitosti košnice. Jednoliko leglo znači da su jaja, ličinke i kukuljica ravnomjerno raspoređeni unutar saća, bez praznih ćelija ili nepravilnosti. Ovo pokazuje da je matica aktivna i da neometano polaže jaja, dok radilice pravilno hrane i njeguju potomstvo.



Slika 9. Radilica, matica i trut unutar košnice

Izvor: <https://svebas.com/>

Kompaktnost legla odnosi se na gustoću i kontinuiranost legla unutar određenog područja saća. Kada je leglo kompaktno, stanice su popunjene bez praznina, što omogućava optimalnu upotrebu prostora unutar košnice. Ovaj uredan raspored omogućava pčelama radilicama efikasnije obavljanje svojih zadataka u vezi sa održavanju legla, kao što su hranjenje ličinki, reguliranje temperature i zaštita legla od štetocina i bolesti. Kompaktnost legla može biti pokazatelj zdravlja i dobrobiti pčelinje zajednice. Ako je leglo dobro organizirano i kompaktno, to često ukazuje da je matica zdrava i plodna, te da uspješno polaže jaja u kontinuiranom i sistematskom rasporedu. Također ukazuje na to da radilice efikasno održavaju saće i brinu se o leglu. S druge strane, ako je leglo rasuto ili postoji mnogo praznih stanica unutar legla, to može biti znak problema, kao što su bolesti, paraziti ili loša matica. Dobra pčelarska praksa, uključujući redovno pregledanje košnica i održavanje zdravlja matice, ključna je za osiguravanje kompaktnosti legla.

Pčelari trebaju pratiti stanje legla i intervenirati kada uoče probleme, kao što su promjena matice ako je ona stara ili slaba, te primjena tretmana protiv bolesti i parazita. Kompaktno leglo je pokazatelj efikasnog rada pčelinje zajednice i pomaže u održavanju njenog zdravlja i produktivnosti.



Slika 10. Matica okružena radilicama unutar košnice

Izvor: <https://www.pcelinjacistankovic.com/>

#### 2.4.2. Izgled pčelinjeg legla

Pčelinje leglo se nalazi unutar saća, koje je izgrađeno od voska u obliku šesterokutnih stanica. Unutar saća leglo je raspoređeno u savršenom redu i ima različite stadije razvoja. Prvo su tu jaja koja su malena, bijela i ovalnog oblika, gotovo prozirna (slika 12). Nakon nekoliko dana iz jaja se izlegnu ličinke, koje su bijele, zakrivljene (slika 11).



Slika 11. Izgled ličinki i razvojni stadiji unutar legla

Izvor: <https://gardenlux-hr.decorexpro.com/>





Slika 12. Slika ličinki u mliječi unutar košnice

Izvor: <https://gardenlux-hr.decorexpro.com/>

#### 2.4.3. Okolišni uvjeti pčelinjeg legla

Okolni uvjeti pčelinjeg legla igraju ključnu ulogu u njegovom zdravlju i razvoju. Ti uvjeti uključuju temperaturu, vlažnost, kvalitetu hrane, čistoću košnice, kao i utjecaje iz vanjskog okruženja kao što su biljke koje pčele posjećuju i prisutnost potencijalnih prijetnji.

Temperatura unutar košnice, posebno u zoni legla, mora biti precizno regulirana. Optimalna temperatura za razvoj pčelinjeg legla je oko 35°C. Pčele radilice održavaju ovu temperaturu vibriranjem svojih prsnih mišića i skupljanjem oko legla kako bi ga zagrijale, dok u toplijim uvjetima donose vodu i ventiliraju krilima kako bi smanjile temperaturu. Održavanje stabilne temperature je ključno za pravilan razvoj jaja, ličinki kukuljica. Vlažnost je također važan faktor. Previsoka vlažnost može dovesti do razvoja plijesni i gljivičnih infekcija, dok preniska vlažnost može isušiti ličinke.

Kvaliteta i dostupnost hrane su od presudnog značaja za zdravlje legla. Pčele prikupljaju nektar i pelud sa cvjetova, koji su osnovni izvori hrane. Nektar pretvaraju u med, koji služi kao glavni izvor energije, dok je pelud ključan za proteinsku ishranu pčela i rast ličinki. Pčele također proizvode matičnu mliječ, kojom ishranjuju ličinke i maticu. Matična mliječ je bogata hranjivim tvarima i ključna je za razvoj legla. Ako okoliš ne pruža dovoljno hrane, pčelari mogu osigurati dodatne izvore poput šećernog sirupa ili proteinskih dodataka.

Čistoća košnice je neophodna za sprječavanje razvoja bolesti. Pčele radilice održavaju higijenu legla uklanjanjem bolesnih i mrtvih ličinki. Propolis, smolasta supstanca koju

pčele sakupljaju s pupoljaka drveća, koristi se za dezinfekciju i zatvaranje pukotina u košnici, što dodatno štiti leglo od infekcija i štetnika.

Vanjski uvjeti također utječu na zdravlje pčelinjeg legla. Prisustvo pesticida i zagađenja može biti vrlo štetno za pčele. Pesticidi mogu kontaminirati pelud i nektar koji pčele unose u košnicu, što može dovesti do trovanja i smrti pčela.

## **2.5. Bolesti medonosne pčele**

Bolesti pčela se u mnogo čemu razlikuju od bolesti ljudi i domaćih životinja. To je prvenstveno iz razloga što pčele žive u biološki veoma složenoj zajednici. Pčela kao jedinka ne može živjeti sama, već je za njen opstanak neophodna kompletna zajednica (jedna matica, nekoliko tisuća radilica i nekoliko stotina trutova). Samo potpuno zdrava pčelinja zajednica može odgovarati zahtjevima modernog intenzivnog pčelarstva. Upravo suvremeni način pčelarenja pogoduje širenju bolesti pčelinjeg legla jer pčelar okvirima za saćem prenosi uzročnike bolesti iz jedne košnice u drugu. Za to je neophodno da svi pčelari imaju potrebno znanje o osnovnoj biologiji pčela i osnovnim bolestima pčela (Plavša i Pavlović, 2017.).

U pčelarskoj literaturi bolesti pčela podijeljene su na bolesti legla i bolesti odraslih pčela. Bolesti pčela su podijeljene prema uzroku, pa tako postoje zarazne, nametničke i nezarazne bolesti pčela. Zarazne bolesti podijeljene su na bolesti uzrokovane virusima, bakterijama i plijesnima. Najčešće virusne bolesti pčela su bolest izobličjenih krila, akutna i kronična pčelinja paraliza i mještinasto leglo. Bakterijske bolesti su europska i američka gnjiloća, septikemija pčela i salmoneloza.

Bolest uzrokovana plijesnima je vapnenasto leglo čiji je uzročnik iz roda *Ascosphaera*. Od nametničkih ili parazitarnih bolesti najraširenije su nozemoza (uzročnici *Nosema sp.*) i varooza (uzročnik *Varroa destructor*). Najčešća nezarazna bolest je bolest prehladenog legla. Najznačajniji štetnici i neprijatelji pčela su voskov moljac, stršljeni, ose, određeni leptiri (npr. Mrtvačka glava), određene vrste ptica (npr. pčelarice, lastavice, žune), glodavci i dr.

### 2.5.1. Nozemoza

Nozemoza je nametnička bolest pčela koja je česta na pčelinjacima diljem svijeta. Nozemozu uzrokuju dvije različite vrste jednostaničnih praživotinja: *Nosema apis* i *Nosema ceranae* (slika 13). Kod nas je u većoj ili manjoj mjeri prisutna u svim krajevima. Bolest izaziva velike štete u pčelarstvu osobito ako se zanemari (Laktić i Šekulja, 2008.).

Nozemoza je bolest probavnih organa odraslih pčela. Uzročnik ulazi u spore iz kojih se razvija parazit koji napada epitelne stanice srednjeg crijeva i dalje se razmnožava. Kada se cijela stanica ispuni uzročnicima i kada za njih postane hrana, ponovno se pretvaraju u spore. Razvoj u prosjeku traje dva do tri dana. Napadnuta stanica propada, a truske ulaze u crijevnu šupljinu (Tucak i sur., 2005.).



Slika 13. Razlika između spora *Noseme apis* i *Noseme ceranae*

Izvor: <https://pcelarstvokarahodzic.wordpress.com/author/pcelarstvokarahodzic/>

Spore *Noseme apis* mogu se pronaći u probavnom traktu i hemolimfi te one gotovo isključivo parazitiraju u epitelnim stanicama srednjeg crijeva odraslih pčela. Pčele sve sporije probavljaju hranu, pa nedostatak hrane pokušavaju zamijeniti povećanim unosom meda i peludi. Spore uzročnika su otporne na vanjske uvjete te se dugo zadržavaju na opremi i dijelovima košnica koji su bili u dodiru s izmetom zaraženih pčela.

Patogeneza uzrokovana sporama *Nosema ceranae*, odvija se kao i kod invazije nametnikom *Nosema apis*. Klijanjem spora u šupljini srednjeg crijeva, polarni filament se oslobađa i prodire kroz membranu epitelnih stanica, čime se sporoplazma spore prenosi u citoplazmu epitelnih stanica srednjeg crijeva, gdje se parazit umnaža i nakon nekog vremena počinje stvarati spore.

Usljed veće zaraze dolazi do upale crijevne stijenke, što naposljetku dovodi do smanjenje sposobnosti apsorpcije hranjivih tvari iz hrane. Predstavlja ozbiljan problem na pčelinju zajednicu zbog svoje sposobnosti da uzrokuje značajne zdravstvene probleme i smanjuje produktivnost.



Slika 14. Nozemoza

Izvor: <https://www.dobrojutro.co.rs/nega-pcela-ukloniti-izvore-zaraze/>

### 2.5.2. *Razvoj i širenje bolesti*

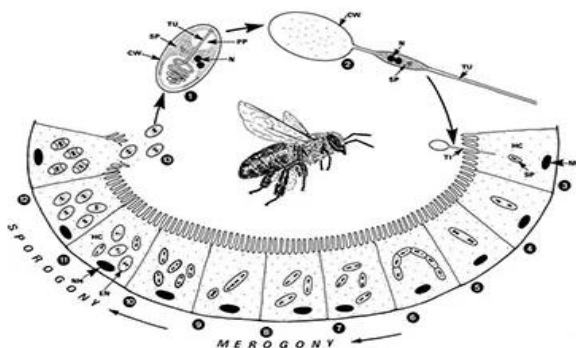
Razvoj nozemoze započinje kada spore dospiju u crijeva pčele putem kontaminirane hrane ili vode. U crijevima pčele, spore se aktiviraju i oslobađaju sporozoite, koji potom prodiru u epitelne stanice crijeva. Unutar tih stanica, parazit prolazi kroz nekoliko faza razmnožavanja, stvarajući nove spore koje se oslobađaju u crijevni lumen kada zaražene stanice puknu (slika 15). Kako se spore oslobađaju, one se miješaju s izmetom pčela i kontaminiraju okoliš unutar i izvan košnice (slika 14).

Ostale pčele mogu lako pokupiti ove spore prilikom hranjenja ili čišćenja košnice, što dovodi do daljnjeg širenja infekcije. Zaražene pčele pokazuju simptome poput smanjene sposobnosti apsorpcije hranjivih tvari, proljeva, slabljenja i skraćenja životnog vijeka. Zaražene zajednice često pokazuju smanjenje broja pčela, a matica može prestati polagati jaja ili čak umrijeti, što dodatno destabilizira koloniju.

Tijekom zime u rektumu oboljelih pčela skuplja se velika količina loše probavljene hrane, koja je uz to i puna uzročnika bolesti. Pčele tada ne mogu zadržavati izmet te počinju balegati unutar košnice, po saću i okvirima, a kad izlete, to čine u neposrednoj blizini košnice, i na svim mjestima gdje zastanu da bi se odmorile (Laktić i Šekulja, 2008.).

Izvor zaraze su bolesne i uginule pčele i njihov izmet u kojem se nalaze spore uzročnika. Pojavi bolesti odgovaraju velike oscilacije u temperaturi, visoka vlažnosti u košnicama, kasno jesenje prihranjivanje, produženo zimovanje, nedostatak peludne hrane, duža kišna razdoblja, slabi proljetni razvitak zajednice, trovanja pesticidima, ali i paralelna pojava drugih pčelinjih bolesti, koje utječu na njezinu snagu.

Spore se nalaze unutar košnice, na medu, peludi i saću, ali i u prirodi, na obližnjem lišću, travi, stjenkama košnice ili na nehigijenskim pojilicama. Unutar košnice spore uzročnika prenose pčele radilice, a na veće udaljenosti bolest se širi zalijetanjem pčela, grabežom, insektima koji ulaze u košnice, manipulacijom okvirima, trgovinom pčela i matica, seljenjem pčela, posuđivanjem, zaražene opreme za pčelarstvo, prihranjivanjem pčela medom iz zaraženih košnica i sl. (Laktić i Šekulja, 2008.).



Slika 15. Prikaz razvoja spora nozemoza kod pčela

Izvor: <https://pcelarenje.com/nozema-cerana-i-nozema-apis>

### 2.5.3. Liječenje i suzbijanje bolesti

Suzbijanje nozemoze, zahtijeva sveobuhvatan pristup koji uključuje preventivne mjere, pravilnu higijenu i adekvatno liječenje. Ključna strategija u suzbijanju ove bolesti je održavanje visokih higijenskih standarda u pčelinjaku. Redovito čišćenje i dezinfekcija

košnica, kao i uklanjanje mrtvih pčela i starog saća, smanjuje rizik od širenja zaraze. Ova zaraza se najčešće liječi antibioticima, ali danas u zemljama EU se takav način liječenja više ne upotrebljava, jer se tragovi antibiotika lako prepoznaju. Unutar košnice nozemoza se ne prenosi sa zaraženih pčela na zdrave pčele izravnim kontaktom, nego uzročnika u organizam, pčele unose hranom uprljanom izmetom sa sporama uzročnika. Temperatura topljenja voska ubija uzročnika i pripadajuće spore (Laktić i Šekulja, 2008.).

U današnje vrijeme bolest se uspješno suzbija apitehničkim mjerama. Veliku ulogu u sprječavanju zaraze imaju higijenske pojilice, koje su napravljene na način da onemogućće pčelama čišćenje na pojilicama. Jedna od pojilica koja se koristi u te svrhe koristi se i na našim krajevima, a radi se od staklenke koja je prekrivena poroznom krpom i okrenuta naopako (slika 16). Na taj način podtlak sprječava vodu da brzo teče, a pčele piju sa donje strane i tako fiziološki nisu u položaju da odlože izmet (Laktić i Šekulja, 2008.).



Slika 16. Higijenska pojilica za pčele, te način izrade

Izvor: <https://pcelarstvo.hr/pcelarska-radionica/voda-u-pcelinjaku/?v=fd4c638da5f8>

Korištenje što manje kemijskih sredstava pogoduje održivosti pčelinje zajednice u borbi protiv nozemoze. Kontrolirana i pravilna ishrana može uvelike pomoći u jačanju imunološkog sustava pčela (dodavanje proteina i vitamina u obliku sirupa). Održavanje stresa na minimumu pomaže kod smanjenja širenja bolesti. Od velike važnosti za smanjenje zaraze, bitno je da pčele zimuju na kvalitetnom medu, te da uđu u zimu sa mladom maticom i što većim brojem mladih pčela (Laktić i Šekulja, 2008.).



### 3. MATERIJALI I METODE RADA

U svrhu pisanja diplomskog rada provedeno je istraživanje na pčelinjaku u Batini (Baranja) na 10 pčelinjih zajednica u vremenskom periodu od 15.05.2023. do 10.07.2023 (slika 18). Iz svake zajednice prikupljen je uzorak pčela radilica, trutova, radiličkog legla i trutovskog legla (slika 17). Uzorci su nakon skupljanja pohranjeni na temperaturi od  $-18^{\circ}\text{C}$ , te su naknadno analizirani u Laboratoriju za pčelarstvo, lovstvo i ribarstvo Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek.

Cilj rada bio je istražiti zaraženost različitih kasti pčela (radilica i trutova) u različitim stadijima razvoja (leglo i odrasle jedinke) sporama nozemoze unutar istih zajednica.



Slika 17. Uzorci pčela iz košnica unutar čašica od 50 g pčela

Izvor: Autor, 2023.



Slika 18. Košnice iz kojih su uzimani uzorci

Izvor: Autor, 2023.



a)



b)

Slika 19. a) Uzimanje uzorka pčela radilica b) Uzorkovanje trutovkog legla

Izvor: Autor, 2023.

### 3.1. Skupljanje uzoraka

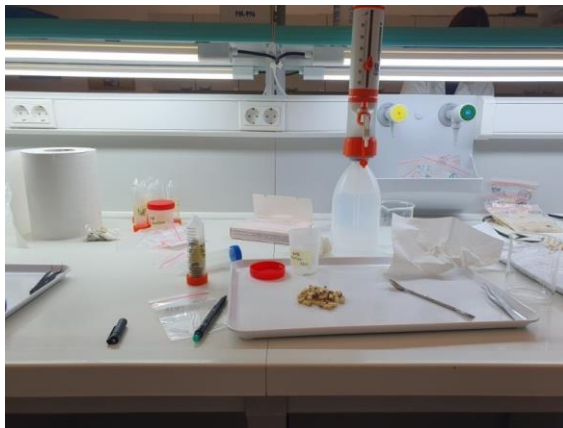
Uzorci odraslih pčela sakupljeni su na način koji je prikazan na slici 19. a). Košnice su lagano otvorene te malo nadimljene kako bi se pčele smirile. Uzorci pčela i trutova skupljeni su direktno s okvira medišnog dijela košnice u čaše volumena 120 mL. Uzorci legla prikupljeni su pomoću pincete kojom se micao voštani poklopac sa saća i odvajao u posebne čašice, koje su bile označene brojem odgovarajuće košnice i oznakom T-trut, R-radilica, TL- trutovsko leglo i RL- radiličko leglo kao što je prikazano na slici 19. b).



### 3.2. Priprema uzoraka

Za potrebe istraživanja korištena je sljedeća oprema (slika 20) i (slika 21):

1. Svjetlosni mikroskop povećanja 400x
2. Hemocitometar
3. Destilirana i obična voda
4. Pipete
5. Pincete
6. Ovalne čašice za drobljenje



Slika 20. Laboratorijska oprema koja je korištena

Izvor: Autor, 2023.



Slika 21. Laboratorijska oprema koja je korištena

Izvor: Autor, 2023.

Po dolasku u laboratorij uzorci su izvađeni iz ledenice. Pripremljena je aparatura kojom će se raditi analiza. Prvi korak nakon toga je istresanje pčela na sterilnu podlogu gdje se prebroje (slika 22). Iz pojedinačnih čaša prebrojao se broj pčele kako bi u svakom uzorku bio jednak.



Slika 22. Razvrstavanje radilica od trutova na sterilnoj podlozi

Izvor: Autor, 2023.



Slika 23. Razvrstavanje trutovskog legla

Izvor: Autor, 2023

Za vrijeme brojanja odvajali su se trutovi od radilica, u PVC vrećice, koje su bile označene brojem košnice i brojem jedinki (slika 24). Broj jedinki bio je sveden na 60, ukoliko je broj jedinki bio manji od 60, broj je zapisan na vrećicu (slika 23) i na temelju toga je određena količina destilirane vode za analizu nozemoze (slika 25). Isti postupak proveden je i za radiličko i trutovsko leglo.



Slika 24. Prebrojavanje radiličkog legla i označavanje

Izvor: Autor, 2023.



Slika 25. Primjer označenog legla s odrađenom količinom destilirane vode

Izvor: Autor, 2023.

Nakon prebrojavanja, uzorci su podjeljeni u vrećice s pripadajućom oznakom, te je dodan po 1 mL destilirane vode po pčeli (slika 26). Uzorci su nakon toga gnječeni plastičnom čašom kako bi došlo do sadržaja crijeva pčela (slika 27) i (slika 28).



Slika 26. Dodavanje destilirane vode

Izvor: Autor, 2023.



Slika 27. Proces gnječenja uzorka

Izvor: Autor, 2023.



Slika 28. Uzorci za analizu

Izvor: Autor, 2023.

### 3.3. Analiza uzorka

Kada su preparati pripremljeni na opisane načine, pažljivo pomoću čiste pipete uziman je sadržaj iz PVC vrećice, te je kap preparata dodana na hemocitometar s pokrovnim stakalcem (slika 29).

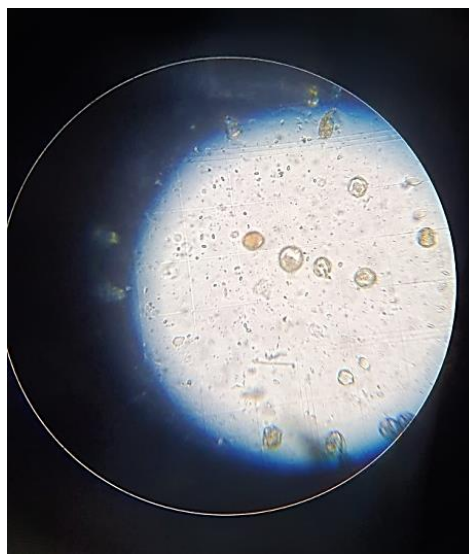


Slika 29. Primjer uzorka legla

Izvor: Autor, 2023.

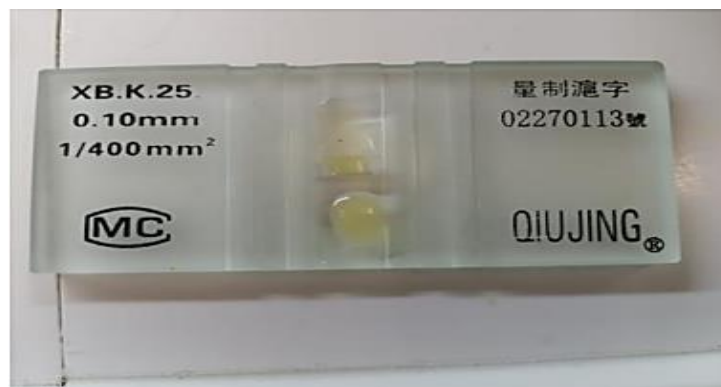
Hemocitometar je specijalizirani klizač koji se koristi za brojanje raznih mikročestica i mikroorganizama, sastoji se od pravilno raspoređenih kvadrata njih 25 i pomoću njih se pod svjetlosnim mikroskopom i povećanjem od 400x broje spore na ukupno od pet kvadrata (slika 31).

Uzorak se zatim gledao pod svjetlosnim mikroskopom na povećanju od 400x, nakon izoštavanja slike pronalazile su se spore, brojale i zapisivale (slika 30) i (slika 32). Ukupni broj spora utvrđen je prema uputama u Standardnim metodama (Fries i sur., 2013).



Slika 30. Spore nozemoze

Izvor: Autor, 2023.



Slika 31. Hemocitometar sa preparatom za proces analize pod mikroskopom

Izvor: <https://repositorij.fazos.hr/>





Slika 32. Tablica za upisivanje izbrojenih spora pomoću hemocitometrom

Izvor: Autor, 2023.

#### 4. REZULTATI

Prosječna težina pčele radilice bila je  $0,118 \pm 0,004$  g (tablica 1). Najveća prosječna težina pčele od 0,125 g utvrđena je kod zajednice 87 (tablica 2), dok je najmanja prosječna težina pčele od 0,113 g utvrđena u zajednici 92. Analiza t-testa za jedan uzorak pokazala je kako je prosječna težina radilice u ovom istraživanju statistički značajno veća od težine 0,100 g koja se uzima kao prosječna težina jedne pčele ( $t(9) = 15,075; < 0,001$ ).

Tablica 1. Prosječna težina(g), broj spora nozemoze kod odraslih jedinki i legla

Uzorak		Težina (g)	Broj spora nozemoze – odrasle jedinke	Broj spora nozemoze – leglo
Pčela	Prosjek	0,118	3.965.000	30.000
	N	10	10	10
	SD	0,004	2.288.989	53.748
	Min	0,113	1.050.000	0
	Max	0,125	8.950.000	150.000
Trut	Prosjek	0,223	780.000	5.000
	N	10	10	10
	SD	0,021	670.903	15.811
	Min	0,203	0	0
	Max	0,253	2.200.000	50000

Prosječna težina truta u ovom istraživanju bila je  $0,223 \pm 0,021$  g. Najveća prosječna težina truta od 0,253 g utvrđena je kod zajednica 82 i 87 (tablica 2), dok je najmanja prosječna težina truta od 0,203 g utvrđena u zajednici 98. Analiza t-testa za jedan uzorak pokazala je kako je prosječna težina truta statistički značajno veća od težine 0,200 g koja se smatra prosječnom težinom truta ( $t(9) = 18,901, < 0,001$ ). Zanimljivo, zajednica broj 87 imala je najteže radilice i trutove, dok je zajednica 92 imala najlakše radilice i po prosjeku druge najlakše trutove (tablica 2).

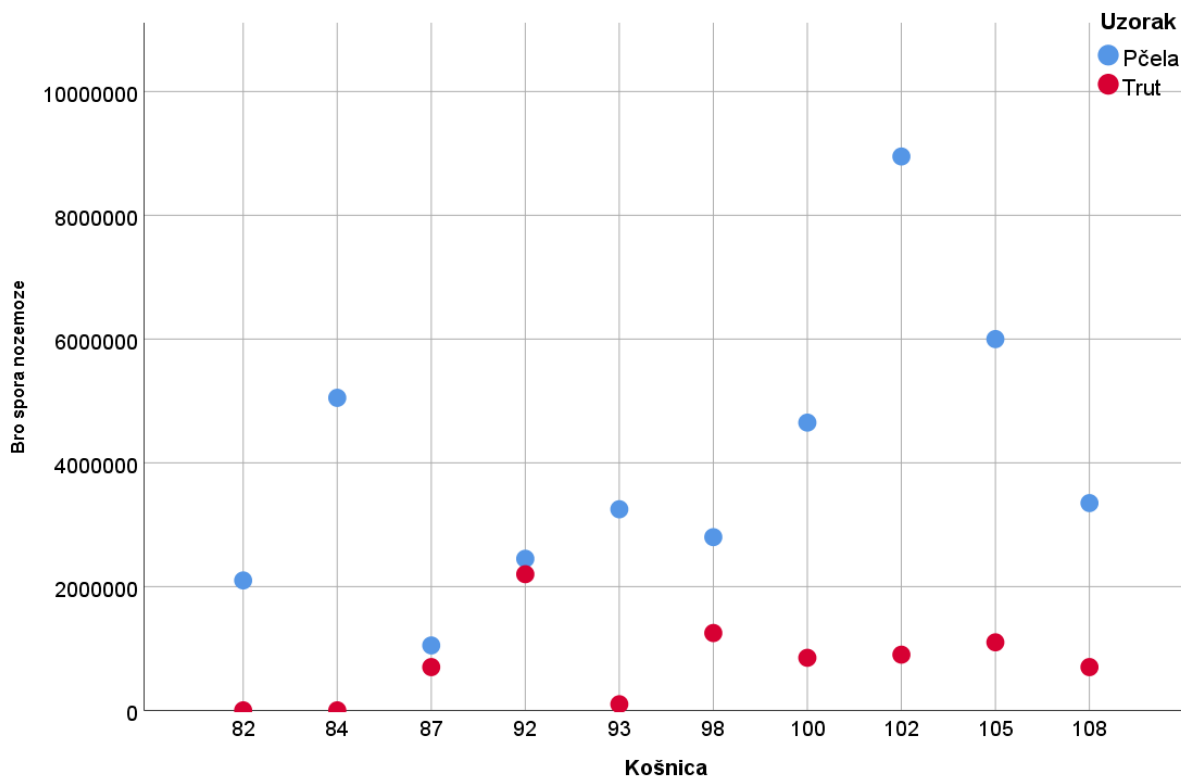


Tablica 2. Prosječna težina pčele/truta, prosječan broj spora nozemoze u pčeli/trutu i prosječan broj spora nozemoze u radiličkom/trutovskom leglu za 10 pčelinjih zajednica u istraživanju.

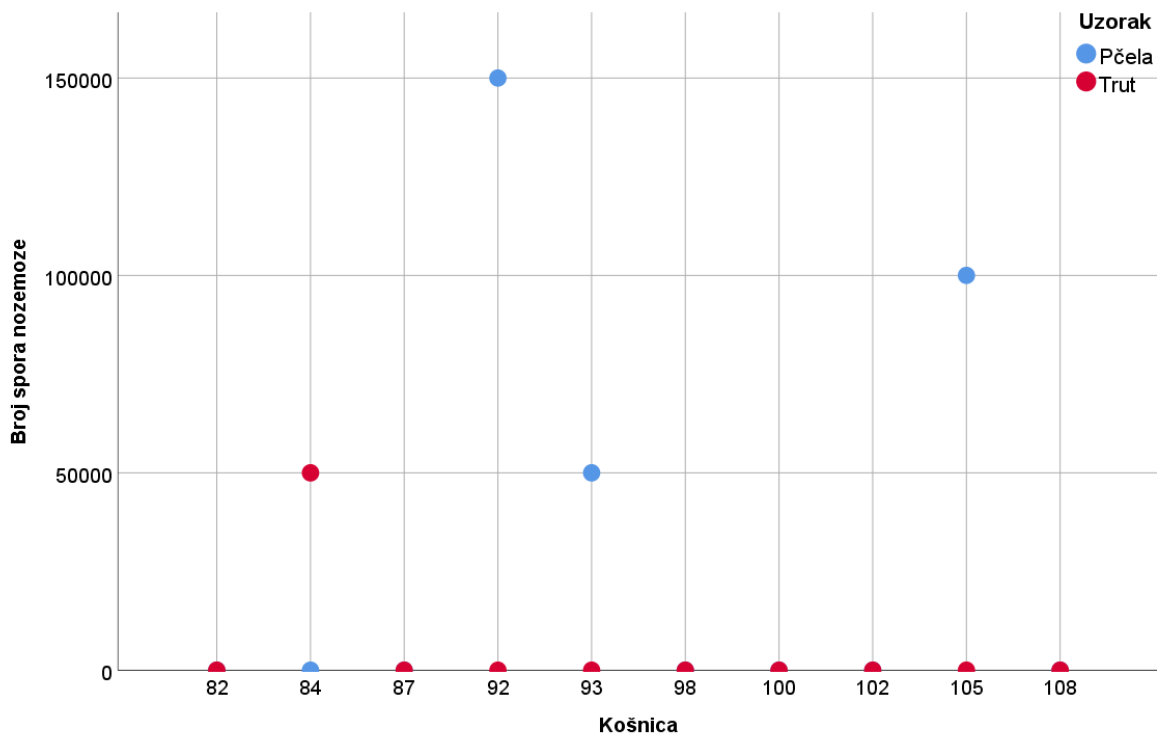
Košnica	Uzorak	Težina [g]	Broj spora nozemoze (odrasli)	Broj spora nozemoze (leglo)
82	Pčela	0,1162	2.100.000	0
	Trut	0,2534	0	0
84	Pčela	0,1164	5.050.000	0
	Trut	0,2483	0	50.000
87	Pčela	0,1249	1.050.000	0
	Trut	0,2534	700.000	0
92	Pčela	0,1133	2.450.000	150.000
	Trut	0,2066	2.200.000	0
93	Pčela	0,1142	3.250.000	50.000
	Trut	0,2163	100.000	0
98	Pčela	0,123	2.800.000	0
	Trut	0,2027	1.250.000	0
100	Pčela	0,1175	4.650.000	0
	Trut	0,2138	850.000	0
102	Pčela	0,1209	8.950.000	0
	Trut	0,2086	900.000	0
105	Pčela	0,1157	6.000.000	100.000
	Trut	0,2092	1.100.000	0
108	Pčela	0,1184	3.350.000	0
	Trut	0,2135	700.000	0

Broj spora nozemoze u trutovima ( $780.000 \pm 670.903$ ) je statistički značajno niži nego broj spora kod radilica ( $3.965.000 \pm 2.288.989$ ),  $t(18)=4,222$ ,  $p=0,001$ . Analizirajući broj utvrđenih spora u uzorcima radiličkog ( $30.000 \pm 53.748$ ) i trutovskog legla ( $5.000 \pm 15.811$ ), nije utvrđena statistički značajna razlika,  $t(18)=1,411$ ,  $p=0,175$ .

Analizom Pearsonovog koeficijenta korelacije između zaraženosti pčela i legla sporama nozemoze, nije utvrđena statistički značajna korelacija ( $r(20)=0,168$ ,  $p=0,480$ ) što je vidljivo iz grafikona 1 i 2.



Grafikon 1. Prosječan broj spora nozemoze kod radilica (plava točka) i trutova (crvena točka) iz 10 pčelinjih zajednica



Grafikon 2. Prosječan broj spora nozemoze kod radiličkog (plava točka) i trutovskog legla (crvena točka) iz 10 pčelinjih zajednica

## 5. RASPRAVA

Kao i većina živih bića i pčele su podložne raznim bolestima i nametnicima. Njihovim izdvajanjem iz prirodnog okruženja i podvrgavanjem pod kontrolu čovjeka, sve u cilju povećanja proizvodnje narušava se zdravlje pčela. Nozemoza je nametnička bolest srednjeg crijeva te ima negativan utjecaj na pčelinji probavni trakt. Same spore bolesti su otporne na vanjske uvjete te se dugo zadržavaju na pčelinjacima.

U ovom istraživanju skupljeni su uzorci radilica, trutova, te radiličkog i trutovskog legla iz 10 različitih pčelinjih zajednica. Uzorci su sakupljeni za analizu prisutnosti spora *Nosema spp* te se mjerila zaraženost odraslih pčela i trutova, radiličkog i trutovskog legla. Mjerenjem se utvrdila prosječna težina radilice koja je iznosila  $0,118 \pm 0,004$  g, dok je kod trutova iznosila  $0,223 \pm 0,021$  g. Najmanja prosječna težina pčele zabilježena je u košnici 92, a kod trutova u zajednici 98. zajednica broj 87 zabilježila je najteže radilice i trutove, a zajednica 92 najlakše radilice i trutove. Daljnim testiranjima došli smo do zaključka kako je broj spora nozemoze kod trutova ( $780.000 \pm 670.903$ ) statistički značajno niži od broja nozemoza u slučaju radilica ( $3.965.000 \pm 2.288.989$ ). Analizirajući pojedinačn uzorke legla došli smo do zaključka kako nema statistički značajne razlike ( $t(18)=1,411$ ,  $p=0,175$ ) u zaraženosti sporama nozemoze.

Tlak Gajger i sur. (2011.) proveli su istraživanje prisutnost nametnika *Nosema sp.* na 10 skupnih uzoraka zimskih gubitaka pčela, sakupljenih s različitih područja Koprivničko-križevačke županije. Tijekom kliničkih pregleda uzorci su skupljeni s podnica košnica. Uzorci su se sastojali od većeg broja pčela u nekima i do 100 uginulih pčela iz više košnica na jednom pčelinjaku. U istraživanju se uspoređivala pojava *N. ceranae* i *N. apis*. *N. ceranae* se javlja tijekom cijele godine, spore su ovalne oblika „graha“, te veličine  $4,7 \times 2,7$   $\mu\text{m}$ , dok se *N. apis*. javlja samo krajem zime i početkom proljeća, te se razlikuju i oblikom. *N. apis* je također ovalnog oblika, ali više nalikuje na zrna riže, veličine  $6 \times 3$   $\mu\text{m}$ . Istraživanje je provedeno svjetlosnim mikroskopom gdje je utvrđeno da su u osam od deset uzoraka pronađene spore *Nosema spp*.

Daljnje istraživanje molekularnom metodom višestrukog PCR ukazuje je *N. ceranae* jedina vrsta nametnika iz roda *Nosema* utvrđena u invadiranih medonosnih pčela raširena na području Koprivničko-križevačke županije.

Eiri i sur. ( 2015.), proveli su istraživanje s ciljem utvrđivanja mogućnosti pojave *Nosema ceranae* kod odraslih medonosnih pčela i ličinki. Koristile su se odnosno uzgajale ličinke medonosne pčele in vitro. Prilikom istraživanja utvrđeno je da ličinke mogu biti zaražene, te iste takve smanjuju životni vijek odraslih jedinki. Spore su se razvile osam dana pred stadij kukuljice kod 41 % pčela koje su bile izložene jednom od tretmana. Primijenile su se tri doze, od 40 000 (40 K), 10 000 (10 K), nultoj (kontrola) ili 40 K autoklaviranoj (kontrola) *N. ceranae* spore u hrani ličinki. Provedena su dva tretmana, pre-kukuljice koje su kao ličinke bile izložene tretmanima sa sporama od 10K ili 40K utvrđeno je da su imale povećan broj spora u usporedbi s kontrolama. Također, rezultati su jednaki i kod odrasle jedinke izložene kao ličinke. Doza 10 K uzrokovala je veće infekcije u usporedbi sa visokom dozom nakon smrti odraslih jedinki. In vitro ili umjetni uzgoj metoda je uzgoja ličinki medonosne pčele u kontroliranim laboratorijskim uvjetima, a u tu se svrhu uglavnom koriste radiličke ličinke radi kratkog razvojnog ciklusa (u radilica razvoj od jajeta do odrasle jedinke traje 21 dan). U navedenom istraživanju vidljivo je kako je broj zaraženosti pčela sporama nozemoze brži i veći nego kod prirodnog uzgoja.

## 6. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata dobivenih u provedenom istraživanju kao i rezultata istraživanja drugih autora možemo zaključiti kako su spore nozemoze prisutne u većini uzoraka pčela na koncu zime i u rano proljeće, jer pčele ne mogu potpuno probaviti med i pelud, pa troše više hrane od uobičajne. Zasad poznati degenerativni patološki procesi uključuju upale crijevne stijenke koje dovode do smanjene apsorpcije hranjivih tvari iz unesene hrane. Invadirane stanice propadaju, a time se smanjuje funkcija lučenja probavnih enzima. U takvim slučajevima pčele gladuju, smanjuju se rezerve bjelančevina i masnog tkiva. Ranija istraživanja ukazala su na to da je *Nosema ceranae* postala dominantna vrsta u Europi, s mnogo većom razinom zaraze ovim sporama. Za smanjenje rizika od zaraze, važno je primjenjivati biotehničke mjere i pridržavati se dobrih pčelarskih praksi. Početni znakovi nozemoze često su nevidljivi, a simptomi se obično manifestiraju tek u uznapredovalom stadiju bolesti. U ovom istraživanju uzeti su uzorci pčela i mjerila se zaraženosti odraslih pčela, trutova, te radiličkog i trutovskog legla. Utvrđenim rezultatima je vidljivo kako korelacija između zaraženosti uzoraka pčela i trutova nije utvrđena. Spore se mogu aktivirati i nakon dužeg razdoblja i brzo se šire. Zajednice je potrebno kvalitetno pripremiti za razdoblje zimovanja s dovoljnom količinom dostupne hrane.

## 7. POPIS LITERATURE

1. Chen, C., Liu, Z., Pan, Q., Chen, X., Wang, H., Guo, H., Liu, S., Lu, H., Tian, S., Li, R., Shi, W. (2016): Genomic Analyses Reveal Demographic History and Temperate Adaptation of the Newly Discovered Honey Bee Subspecies *Apis mellifera sinisxinyuan* n. ssp. *Mol Biol Evol.* 33(5):1337-1348. doi:10.1093/molbev/msw017.
2. Eiri, D.M., Suwannapong, G., Endler, M., Nieh, J.C. (2015.): *Nosema ceranae* Can Infect Honey Bee Larvae and Reduces Subsequent Adult Longevity, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4446295/> 05.06.2024.
3. Laktić, Z., i Šekulja D. (2008.): *Suvremeno pčelarstvo*, Nakladni zavod Globus, Zagreb
4. Meixner, M., Costa, C., Kryger, P., Hatjina, F., Bouga, M., Ivanova, E., Buchler, R. (2010): Conserving diversity and vitality for honey bee breeding. *Journal of Apicultural Research.* 49(1): 85–92:
5. Plavša, N., I., Pavlović (2017.): *Bolesti pčela*, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu, Novi Sad.
6. Radivojac, R. (2010.): *Pčelarstvo, ilustrovani priručnik za početnike*, Revije press, Sarajevo
7. Ruttner, F. (1988) *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York.
8. Tlak Gajger, I., Grilec, D., Petrincec, Z. (2011.): Raširenost *Nosema ceranae* na pčelinjacima u Koprivničko-križevačkoj županiji, *Veterinarska stanica* 42(4): 327-334.
9. Tucak, Z., Bačić, T., Horvat, S., Puškadija, Z. (2005.): *Pčelarstvo*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Poljoprivredni fakultet Osijek, Osijek
11. Velagić, F. (2000.): *Dvوماتično pčelarenje i apiekonomija*, Harfo-graf, Tuzla
10. Vojvodić, M. (2023.): doktorski rad: Učinci zabrane neonicotinoidea na pojavu štetnika u ratarskoj proizvodnji s posebnim osvrtom na stanje pčelinjih zajednica

## 8. SAŽETAK

U svrhu pisanja diplomskog rada provedena je laboratorijska analiza uzoraka na prisutnost spora nozemoze s ciljem utvrđivanja prosječnog broja zaraženosti pčelinjeg i trutovskog legla, pčela radilica i trutova. U istraživanju je bilo uključeno 10 košnica iz kojih su skupljeni uzorci. Broj pozitivnih uzoraka na prisustvo spora nozemoza kod odraslih pčela je deset, a kod pčelinjeg legla je tri, dok je kod odraslih trutova osam, a trutovskog legla jedan. Navedeni brojevi ukazuju na to da su odrasle jedinice osjetljivije na zaraženost sporama. Broj spora kod odraslih trutova ( $780.000 \pm 670.903$ ) je značajno manji u odnosu na broj spora kod radilica ( $3.965.000 \pm 2.288.989$ ). S druge strane, nije utvrđena statistički značajna razlika između broja spora u leglu radilica ( $30.000 \pm 53.748$ ) i trutova ( $5.000 \pm 15.811$ ).

**Ključne riječi:** medonosna pčela, *Nosema spp*, zaraženost, korelacija, prosječna težina, trutovsko i pčelinje leglo

## 9. SUMMARY

For the purpose of writing the thesis, a laboratory analysis of samples for the presence of nosemosis spores was carried out with the aim of determining the average number of infected bee and drone brood, worker bees and drones. In total 10 hives from which samples were collected were included in the research. The number of positive samples for the presence of nosemosis spores in adult bees is ten, and in bee brood is three, while in adult drones it is eight, and drone brood is one. The above numbers indicate that adults are more susceptible to spore infection. The number of spores in adult drones ( $780,000 \pm 670,903$ ) is significantly lower than the number of spores in workers ( $3,965,000 \pm 2,288,989$ ). On the other hand, no statistically significant difference was found between the number of spores in the brood of workers ( $30,000 \pm 53,748$ ) and drones ( $5,000 \pm 15,811$ ).

**Key words:** honeybee, *Nosema spp*, infection rate, correlation, average weight, drone and worker brood



## 10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Prosječna težina(g), broj spora nozemoze kod odraslih jedinki i legla .....	27
Tablica 2. Prosječna težina pčele/truta, prosječan broj spora nozemoze u pčeli/trutu i prosječan broj spora nozemoze u radiličkom/trutovskom leglu za 10 pčelinjih zajednica u istraživanju. ....	28

## 11. POPIS SLIKA

Slika 1. Osnovna građa medonosne pčele .....	3
Slika 2. Pčele radilice unose pelud unutar košnice.....	4
Slika 3. Matica unutar košnice .....	5
Slika 4. Trut, matica i radilica .....	6
Slika 5. Trutovsko leglo na donjem dijelu okvira .....	7
Slika 6. Probavni sustav pčele .....	8
Slika 7. Izgled zdrave pčelinje zajednice.....	9
Slika 8. Životni ciklus pčelinje zajednice.....	9
Slika 9. Radilica, matica i trut unutar košnice .....	10
Slika 10. Matica okružena radilicama unutar košnice .....	11
Slika 11. Izgled ličinki i razvojni stadiji unutar legla.....	11
Slika 12. Slika ličinki u mliječi unutar košnice .....	12
Slika 13. Razlika između spora <i>Noseme apis</i> i <i>Noseme ceranae</i> .....	14
Slika 14. Nozemoza.....	15
Slika 15. Prikaz razvoja spora nozemoza kod pčela.....	16
Slika 16. Higijenska pojilica za pčele, te način izrade .....	17
Slika 17. Uzorci pčela iz košnica unutar čašica od 50 g pčela .....	18
Slika 18. Košnice iz kojih su uzimani uzorci .....	18
Slika 19. a) Uzimanje uzorka pčela radilica b) Uzorkovanje trutovskog legla.....	19
Slika 20. Laboratorijska oprema koja je korištena .....	20
Slika 21. Laboratorijska oprema koja je korištena .....	20
Slika 22. Razvrstavanje radilica od trutova na sterilnoj podlozi .....	21
Slika 23. Razvrstavanje trutovskog legla .....	21
Slika 24. Prebrojavanje radiličkog legla i označavanje .....	22
Slika 25. Primjer označenog legla s odrađenom količinom destilirane vode.....	22
Slika 26. Dodavanje destilirane vode .....	23
Slika 27. Proces gnječenja uzorka .....	23
Slika 28. Uzorci za analizu .....	24
Slika 29. Primjer uzorka legla .....	24
Slika 30. Spore nozemoze .....	25
Slika 31. Hemocitometar sa preparatom za proces analize pod mikroskopom.....	25
Slika 32. Tablica za upisivanje izbrojenih spora pomoću hemocitometrom.....	26

## **12. POPIS GRAFIKONA**

Grafikon 1. Prosječan broj spora nozemoze kod radilica (plava točka) i trutova (crvena točka) iz 10 pčelinjih zajednica .....	29
Grafikon 2. Prosječan broj spora nozemoze kod radiličkog (plava točka) i trutovskog legla (crvena točka) iz 10 pčelinjih zajednica .....	29

## **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

---

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek  
Sveučilišni diplomski studij, modul Zaštita bilja

Diplomski rad

### **Nozemoza u pčelinjoj zajednici – usporedba zaraženosti radilica, trutova, radiličkog i trutovskog legla sporama nozemoze (*Nosema spp.*)**

**Magdalena Jakšić**

#### **Sažetak:**

U svrhu pisanja diplomskog rada provedena je laboratorijska analiza uzoraka na prisutnost spora nozemoze s ciljem utvrđivanja prosječnog broja zaraženosti pčelinjeg i trutovskog legla, pčela radilica i trutova. U istraživanju je bilo uključeno 10 košnica iz kojih su skupljeni uzorci. Broj pozitivnih uzoraka na prisustvo spora nozemoza kod odraslih pčela je deset, a kod pčelinjeg legla je tri, dok je kod odraslih trutova osam, a trutovskog legla jedan. Navedeni brojevi ukazuju na to da su odrasle jedinice osjetljivije na zaraženost sporama. Broj spora kod odraslih trutova ( $780.000 \pm 670.903$ ) je značajno manji u odnosu na broj spora kod radilica ( $3.965.000 \pm 2.288.989$ ). S druge strane, nije utvrđena statistički značajna razlika između broja spora u leglu radilica ( $30.000 \pm 53.748$ ) i trutova ( $5.000 \pm 15.811$ ).

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** doc.dr.sc. Marin Kovačić

**Broj stranica:** 38

**Broj grafikona i slika:** 34

**Broj tablica:** 2

**Broj literaturnih navoda:** 11

**Broj priloga:**

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** medonosna pčela, *Nosema spp.*, zaraženost, korelacija, prosječna težina, trutovsko i pčelinje leglo

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. prof.dr.sc. Zlatko Puškadija, predsjednik
2. doc.dr.sc. Marin Kovačić, mentor
3. prof.dr.sc. Tihomir Florijančić, član

**Rad je pohranjen u:** u Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

---

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek  
University Graduate Studies, Plant Protection module

Graduate thesis

### **Nosema disease in the bee colony – comparison of infection rates in worker bees, drones, worker bee brood, and drone brood by *Nosema spp.* spores**

**Magdalena Jakšić**

#### **Abstract:**

For the purpose of writing the thesis, a laboratory analysis of samples for the presence of nosemosis spores was carried out with the aim of determining the average number of infected bee and drone brood, worker bees and drones. In total 10 hives from which samples were collected were included in the research. The number of positive samples for the presence of nosemosis spores in adult bees is ten, and in bee brood is three, while in adult drones it is eight, and drone brood is one. The above numbers indicate that adults are more susceptible to spore infection. The number of spores in adult drones ( $780,000 \pm 670,903$ ) is significantly lower than the number of spores in workers ( $3,965,000 \pm 2,288,989$ ). On the other hand, no statistically significant difference was found between the number of spores in the brood of workers ( $30,000 \pm 53,748$ ) and drones ( $5,000 \pm 15,811$ ).

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** doc.dr.sc. Marin Kovačić

**Number of pages:** 38

**Number of figures:** 34

**Number of tables:** 2

**Number of references:** 11

**Number of appendices:**

**Original in:** Croatian

**Key words:** honeybee, *Nosema spp.*, infection rate, correlation, average weight, drone and worker brood

**Thesis defended on date:**

#### **Reviewers:**

1. prof.dr.sc. Zlatko Puškadija, president
2. doc.dr.sc. Marin Kovačić, mentor
3. prof.dr.sc. Tihomir Florijančić, member

**Thesis deposited at:** Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek