



НАУЧНИ ИНСТИТУТ ЗА  
ВЕТЕРИНАРСТВО  
НОВИ САД

## Stručni seminar

„Pretnje koje ugrožavaju opstanak medonosne pčele“



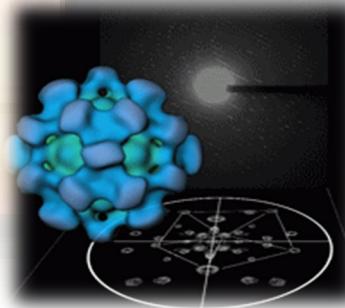
# VIRUSI MEDONOSNE PČELE U PČELINJACIMA U SRBIJI

*Tamaš Petrović, Nada Plavša, Gospava Lazić,  
Diana Lupulović, Vladimir Polaček*

*Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“  
Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad*



Novi Sad, 10. decembar, 2021



# UVOD

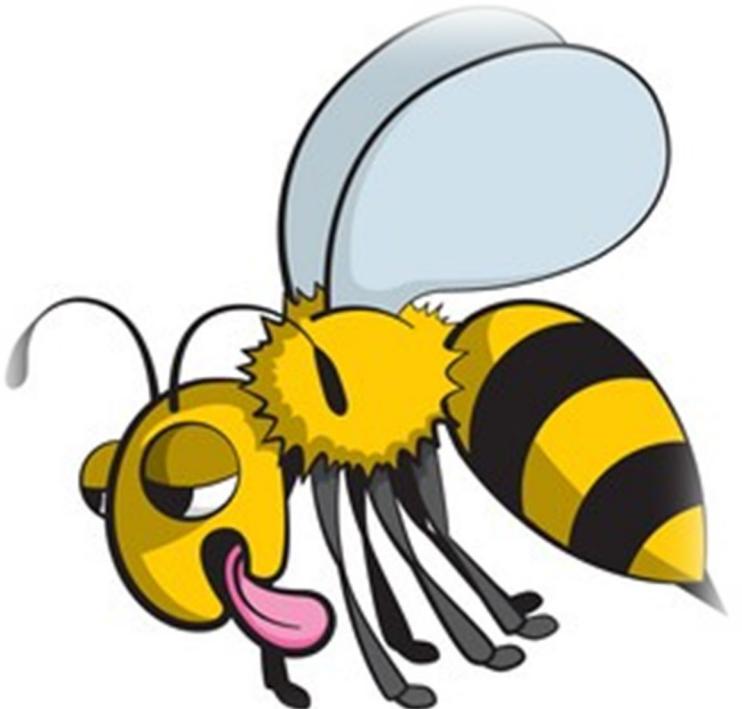


- Medonosna pčela (*Apis mellifera*) je najznačajniji oprašivač biljnih kultura širom sveta.
- Smatra se da je čak 1/3 poljoprivrednih kultura direktno zavisi od oprašivanja od strane pčela i ekonomска vrednost obračunavana još 2005 godine je iznosila 212 milijardi dolara, odnosno preko 9,5% vrednosti ukupne poljoprivredne proizvodnje u svetu.
- Virusi pčela su prvi put otkriveni 1945, a detaljno opisani 1963 godine (virusi ACBP i CBPV).
- Sve do kraja osamdesetih godina prošlog veka virusne infekcije pčela smatrane su manje bitnim.
- Stanje se menja širenjem ektoparazita *Varroa destructor* i zdravlje pčelinjih zajednica počinje da se sve više narušava. Danas se virusima pridaje značaj kao izazivačima brojnih poremećaja zdravstvenog stanja pčela.



# UVOD

- Od prvog otkrića pa do danas, utvrđeno je prisustvo preko 22 različita virusa pčela od kojih se 7 vode kao najznačajniji.



Family	Virus	Target stage/caste of bees
Dicistroviridae	Acute bee paralysis virus (ABPV)	Brood, workers, drones
	Israeli acute bee paralysis virus/Kashmir bee virus (IAPV/KBV)	Eggs, larvae, pupae, workers, drones, queens
	Apis dicistrovirus (ADV)	Workers, drones
	Aphid lethal paralysis virus (ALPV)	Workers, drones
	Big Sioux River Virus (BSRV)	Workers, drones
	Black queen cell virus (BQCV)	Larvae, pupae, workers, drones, queens
Unclassified	Chronic bee paralysis virus (CBPV)	Workers, drones, queens
Iflaviridae	Deformed wing virus (DWV) (A,B and C)	Eggs, larvae, pupae, workers, drones, queens
	Sacbrood virus (SBV)	Brood, workers, drones
	Slow bee paralysis virus (SBPV)	Larvae, workers, drones
Unclassified	Lake Sinai virus (LSV)	Workers, drones
Tymoviridae	Bee macula-like virus (BeeMLV)	Pupae, workers
	Bee macula-like virus-2 (BeeMLV-2)	Pupae, workers
	Varroa tymo-like virus (VTLV)	Workers, drones
Unclassified	Cloudy wing virus (CWV)	Workers, drones
Nodaviridae	Apis noda-like virus	Workers, drones
Noraviridae	Apis nora virus (ANV)	Workers
Rhabdoviridae	Apis rhabdovirus -1/ Bee rhabdovirus-1 (ARV1/ BRV-1)	Workers, drones
	Apis rhabdovirus -2 (ARV-2)	Workers, drones
Bunyaviridae	Apis bunya virus-1 (ABV-1)	Workers, drones
	Apis bunya virus-2 (ABV-2)	Workers, drones
Flaviviridae	Apis flavivirus (AFV)	Workers, drones
Picorna-like	Berkeley bee picorna -like virus (BBPV)	Workers, drones
Secoviridae	Tobacco ring spot Virus (TRSV)	Workers, drones
Secoviridae	Seco-like virus	Workers
Iflaviridae	Moku virus	Workers
Orthomyxoviridae	Varroa Oorthomyxovirus-1 (VOV-1)	Workers
Partitiviridae	Partiti-like virus	Workers
Unclassified	Bee Y virus	Workers, drones
Unclassified	Bee X virus	Workers, drones
Unclassified	Egypt bee virus	Workers, drones
Unclassified	Arkansas Bee virus (ABV)	Workers, drones
Iridoviridae	Apis iridovirus (AIV)	Workers, drones
Unclassified	Apis mellifera filamentous virus (AmMFV)	Workers, drones
Circoviridae	Circo-1	Workers
	Circo-2	

# UVOD



➤ Kao najznačajniji virusi pčela mogu se izdvojiti:

- ❖ Virus akutne paralize pčela (eng. Acute Bee Paralysis Virus - ABPV);
- ❖ Virus hronične paralize pčela (eng. Chronic Bee Paralysis Virus - CBPV);
- ❖ Virus crnih matičnjaka (eng. Black Queen Cell Virus - BQCV);
- ❖ Virus deformisanih krila (eng. Deformed Wing Virus - DWV);
- ❖ Virus mešinastog legla (eng. Sacbrood Virus - SBV);
- ❖ Kašmirski pčelinji virus (eng. Kashmir Bee Virus - KBV) i
- ❖ Izraelski virus akutne paralize pčela (eng. Israeli Acute Paralysis Virus - IAPV).



## **PRENOŠENJE VIRUSA I NAČIN INFEKCIJE PČELINJE ZAJEDNICE**

➤ Virusne bolesti se između pčelinjih zajednica mogu preneti:

❖ Horizontalnim prenosom:

- Oralni (kontaminiran materijal - mleč i polen tokom hranjenja larvi, čišćenja legla, fecesom)
- Kontaktni (preko oštećenja egzoskeleta pčela, prenaseljenosti, pojave grabeži...)
- Aerogeni (najmanje istraživan, utvrđen kod virusa zamućenih krila Cloudy wing virus-CWV)

❖ Vertikalnim prenosom:

- Veneralna transmisija (prenos sa truta na maticu)
- Transovarijalna (preko inficiranih ovarija matice na jaja)
- Prenos spermom (inficiranom spermom na jaja)



## VIRUS AKUTNE PARALIZE PČELA (ABPV)

ABPV je otkriven i prvi put opisan kao sporedni nalaz tokom laboratorijskog ispitivanja prisustva virusa hronične paralize pčela.

Virus bio široko rasprostranjen, mahom u formi latentnih i inaparentnih infekcija - „pčele inficirane virusom akutne paralize uobičajena pojava“

Međutim, utvrđena je njegova značajnu ulogu u pojavi gubitaka pčelinjih društava infestiranih sa Varoom, pre svega u Evropi 80-tih i 90-tih godina prošlog veka (naglo povećanje titra virusa)

Pojava kliničkih manifestacija bolesti u pčelinjim zajednicama je intenzivnija i vidljivija prilikom povećanja broja pčelinjeg krpelja

Udruženo delovanje ABPV i varoe dovodi do vidljivih promena na nivou pčelinje zajednice koje se ogledaju u značajnom smanjenju populacije pčela - povećanje zastupljenosti obolelih i uginulih larvi zbog nedovoljnog broja odraslih pčela koje neguju leglo i vrše higijenske poslove u košnici.

## VIRUS HRONIČNE PARALIZE PČELA (ABPV)

Aristotel je, pre više od 2000 godina, opisao pojavu crnih pčela bez dlaka koje je nazvao „kradljivci“ i time ostavio prve pisane tragove o hroničnoj paralizi pčela - virusna etiologija uzročnika je ustanovljena 1945 g.

Jedan od najefikasnijih načina prenošenja CBPV je intenzivan, učestali, neposredni međusobni kontakt zaraženih i nezaraženih pčela do koga najčešće dolazi usled nepovoljnih vremenskih prilika, nedostatka hrane

Klinički simptomi hronične paralize se, za razliku od drugih virusnih oboljenja pčela, mogu ustanoviti kliničkim pregledom obolelih pčelinjih društava

Prva grupa simptoma - pojava drhtanja, pčale se skupljaju u grupice ispred košnica, puze, podrhtavaju i ne mogu da polete. Druga grupa kliničkih simptoma: „crni kradljivci“, „male crne pčele“, „sindrom crnih pčela bez dlake“ - gube gotovo sve dlake postajući sjajne, masne i tamne sa proširenim abdomenima.

Problem predstavljaju česte inaparentne infekcije koje imaju tendenciju transformacije u manifestne, dovodeći do propadanja društava.

# VIRUS HRONIČNE PARALIZE PČELA (ABPV)



## VIRUS DEFORMISANIH KRILA (DWV)

Virus deformisanih krila (DWV) je jedan od najispitivanijih pčelinjih virusa jer se njegova pojava i posledice infekcije blisko povezuju sa infestacijom varoom i posledičnim propadanjem pčelinjih zajednica

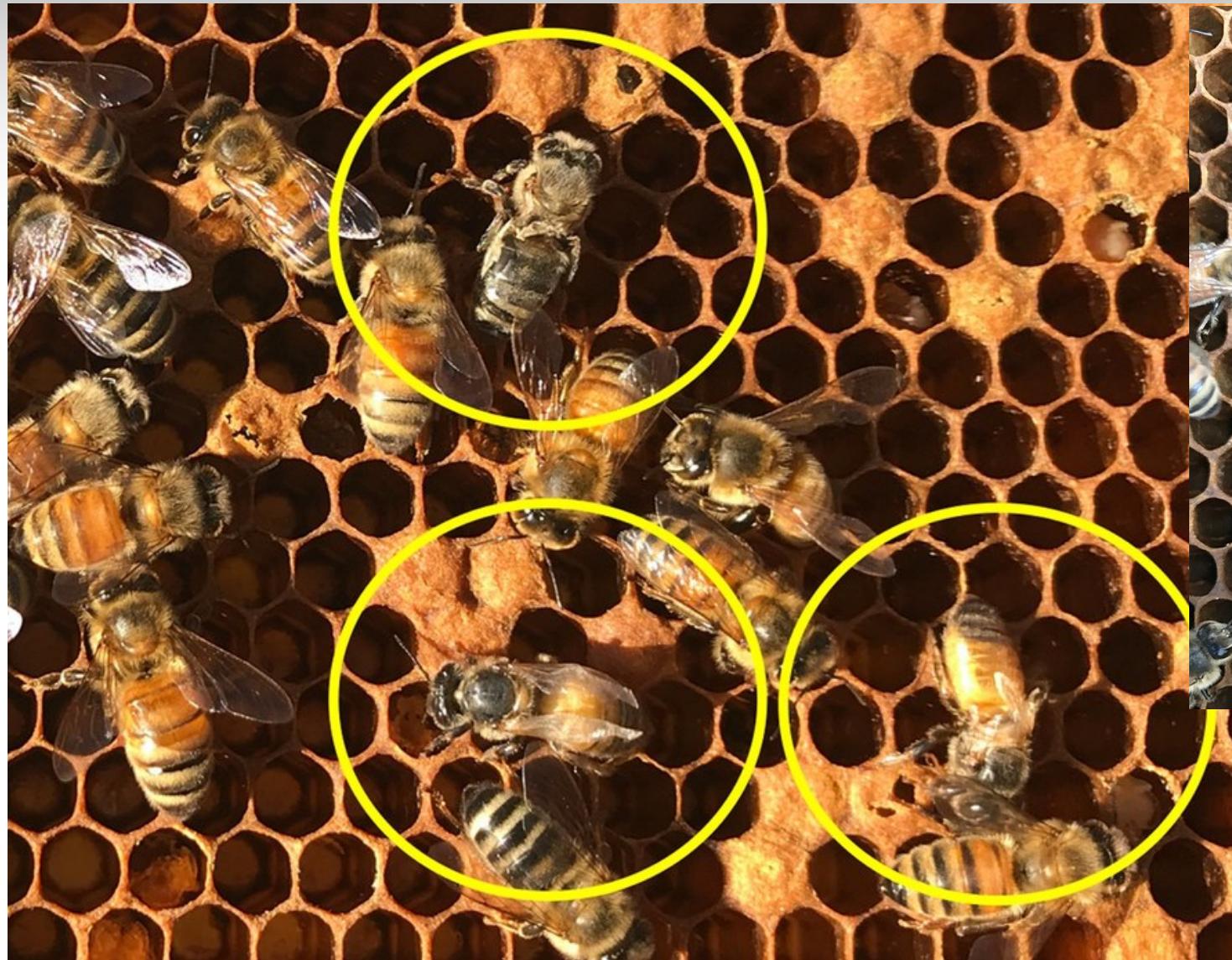
Zastupljenost ovog virusa u pčelinjim društvima se može smatrati uobičajenom pojавom, jer u najvećem broju slučajeva, prisutan u niskim koncentracijama, izaziva latentne infekcije

Prisustvo virusa deformisanih krila je otkriveno u svim životnim stadijumima pčela, od jaja do adulta, kao i u žlezdanim sekretima kao deo hrane za larve i maticu – prenosi se i horizontalno i vertikalno + varoa

U odsustvu varoe, DWV uzrokuje asimptomatske infekcije, Sa porastom broja infestiranih društava varoom klinički manifestni oblici ove virusne infekcije postaju sve izraženiji

Kod novoizleženih inficiranih pčela mogu se zapaziti promene na krilima koje se manifestuju skraćenim i deformisanim krilima, praćene drugim defektima (skraćen i proširen abdomen), a u nekim slučajevima javlja se i promena boje tela

# VIRUS DEFORMISANIH KRILA (DWV)



## VIRUS MEŠINASTOG LEGLA (SBV)

Virus mešinastog legla (SBV) je uzročnik bolesti mešinastog legla, verovatno jedne od najčešćih virusnih bolesti pčela koja je prisutna u gotovo svim delovima sveta

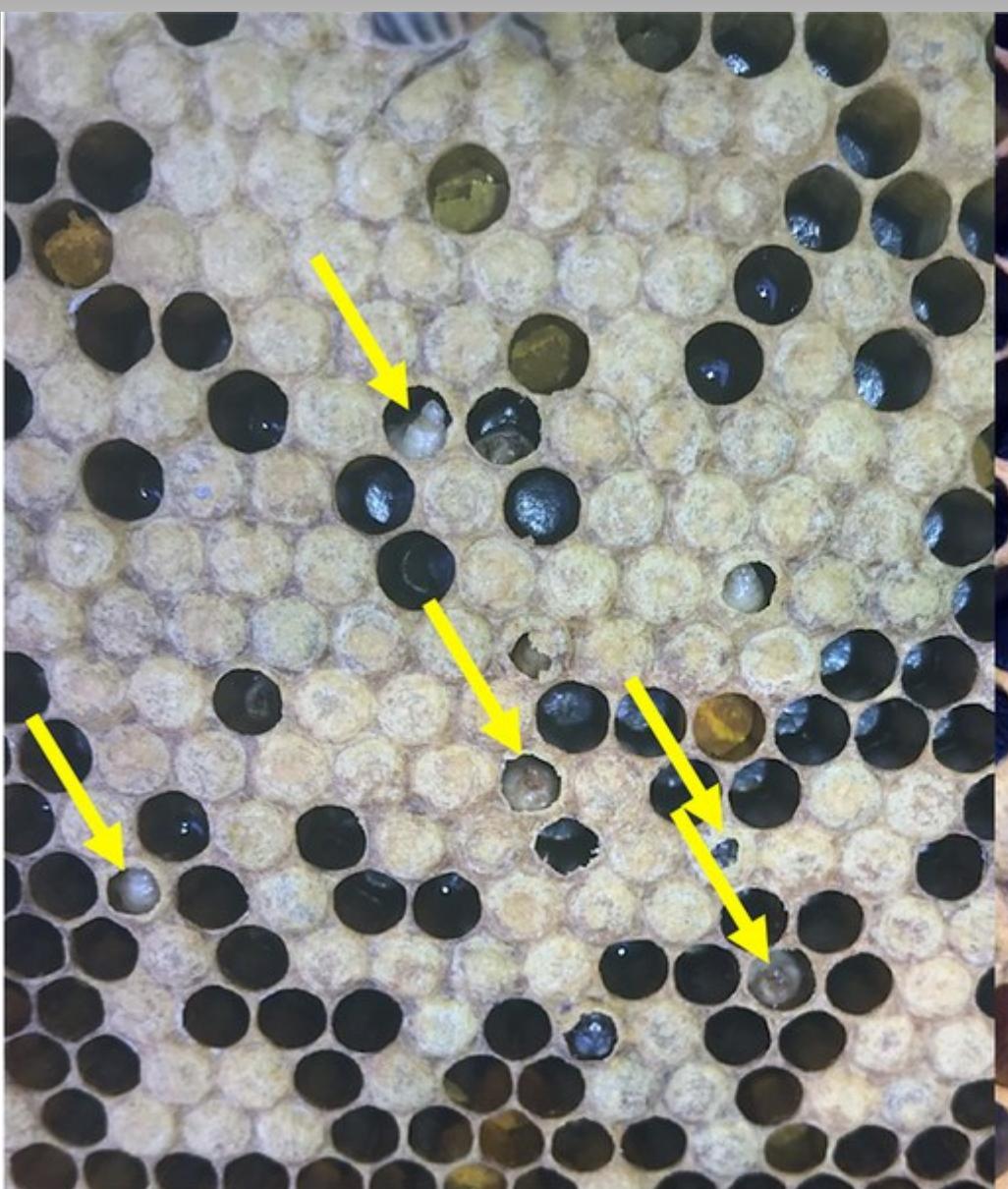
Virus mešinastog legla inficira pčelinje leglo dovodeći do uginuća larvi i najčešće se javlja u proleće.

Klinička slika infekcije zavisi od količine virusnih partikula unetih u organizam pčela, imunog statusa društva, doba godine i prisustva ektoparazita varoe.

Manifestacije patogenog dejstva SBV se primarno ogledaju u promenama na pčelinjem leglu i to, pre svega, na larvama kod kojih dolazi do uginuća.

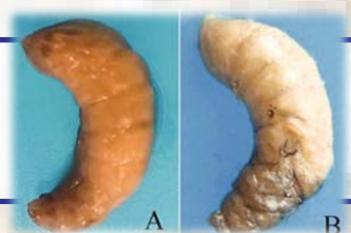
Nakupljanje tečnosti ima za posledicu pojavu vrećastog, odnosno mešinastog izgleda larvi, po čemu je bolest i dobila ime - larvice menjaju boju od biserno bele do bledo žute i ubrzo nakon uginuća dolazi do njihovog isušivanja i transformacije u tamno braon tvorevinu koja svojim oblikom podseća na gondolu

# VIRUS MEŠINASTOG LEGLA (SBV)





## VIRUS CRNOG MATIČNJAKA (BQCV)



Virus je nazvan po crnim flekama na zidovima matičnjaka u kojima su larve i predlutke uginule

Ovaj virus prvenstveno izaziva infekcije kod larvi i lutki matica, međutim, može se javiti i kod lutki radilica, kao i kod odraslih pčela.

Javlja se u uslovima kada je populacija pčela velika, međusobni kontakti jedinki intenzivniji, a učestalost razmene hrane među pčelama povećana, hrana predstavlja značajan način širenja BQCV

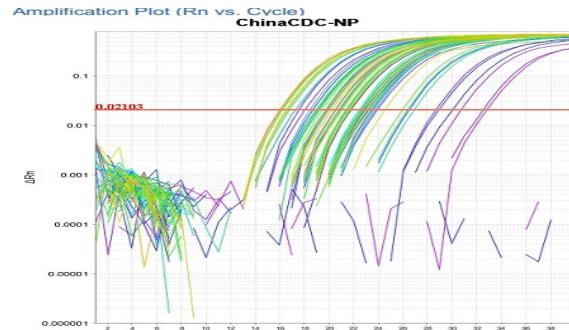
Postoji pozitivna korelacija između infestacije pčelinjeg društva varoom i povećanim mortalitetom larvi inficiranih sa BQCV, a postoji i hipoteza o povezanosti infekcije BQCV i infekcije sa *Nosema apis* u ispoljavanju kliničke slike karakteristične za bolest crnih matičnjaka.

Zbog pojave prevashodno latentnih infekcija pčelinjih društava, postavljanje dijagnoze bolesti izazvane sa BQCV može biti problematičan, posebno kod društava koja ne pokazuju prepoznatljive znakove infekcije

# ISPITIVANJE PRISUSTVA VIRUSNIH INFEKCIJA U PČELINJACIMA



- Povećani gubici u pčelinjim zajednicama i kolonijama se beleže u Srbiji naročito u poslednjih 15-tak godina.
- Već duži niz godina postoje klinički znaci bolesti i sumnja na prisustvo virusnih infekcija u pčelinjacima u Srbiji ali najčešće bez laboratorijskih potvrđnih nalaza.
- U cilju utvrđivanja faktičkog stanja na terenu – prisustva virusa i opterećenosti pčelinjih društava virusnim infekcijama, u periodu od 2011 do 2013.godine je sprovedeno po nama prvo ispitivanje na ovu temu.
- Svrha ispitivanja je bila utvrditi da li su virusi i koji prisutni u pčelinjim društvima i ako jesu kakva je njihova distribucija, kao i geografska raširenost.





## MATERIJAL I METODI RADA



- Istraživanje je sprovedeno u 15 pčelinjaka sa 13 lokaliteta na području Južnobačkog (7) i Sremskog okruga (6), na ukupno 30 uzoraka pčela.
- Uzorci pčela (oko 100 jedinki) različitog zdravstvenog statusa, su prikupljeni od juna 2011 do maja 2013. godine. Sa nekih pčelinjaka je uzorkovano više od jednog uzorka u različitim vremenskim intervalima.
- Od svakog uzorka je nasumično odabрано 10 jedinki koje su obrađene za potrebe ispitivanja (macerirane I homogenizovane, a zatim je sadržaj centrifugiran I supernatant korišćen za dalju analizu).
- Ispitivanja su sprovedena upotrebom molekularne dijagnostičke tehnike jednostepene reakcije reverzne transkripcije – lančane reakcije polimeraze („one-step reverse transcription-PCR“ (RT-PCR)).
- Ispitivano je prisustvo 6 virusa pčela: virus akutne paralize pčela (ABPV), virus crnog matičnjaka (BQCV), virus hronične paralize pčela (CBPV), virus deformisanih krila (DWV), Kašmirski virus pčela (KBV) i virus mešinastog legla (SBV)



# MATERIJAL I METODI RADA



Primers (5'-3')	Position in genome	Product (bp)	Reference
<b>Acute bee paralysis virus</b>			
ABPV-1 (cat att ggc gag cca cta tg)	8114 - 8512	398	Bakonyi et al., 2002
ABPV-2 (cca ctt cca cac aac tat cg)	(capsid protein)		
<b>Black queen cell virus</b>			
BQCV-F (tgg tca gct ccc act acc tta aac)	7850 - 8550	700	Benjeddou et al., 2001
BQCV-R (gca aca aga aga aac gta aac cac)	(structure polyprotein)		
<b>Chronic bee paraliysis virus</b>			
CBPV1-1 (tca gac acc gaa tct gat tat tg)	147-716	570	Blanchard et al., 2007
CBPV1-2 (act act aga aac tcg tcg ctt cg)	(RNA polymerase)		
<b>Deformed wing virus</b>			
DWV F (agg cga cat ggg aac agg)	1312-1815	504	Cizelj and Gregorić, 2004
DWV R (caa ctt cac cct cgc cat ca)	(capsid protein)		
<b>Kashmir bee virus</b>			
KBV 1 F (gat gaa cgt cga cct att ga)	5406 - 5820	414	Stoltz et al., 1995
KBV 1 R (tgt ggg ttg gct atg agt ca)	(RNA polymerase)		
<b>Sacbrood bee virus</b>			
SBV-F (gct gag gta gga tct ttg cgt)	(4957-5781)	824	Chen et al., 2004/a
SBV-R (tca tca tct tca cca tcc ga)	(structure polyprotein)		

# REZULTATI ISPITIVANJA

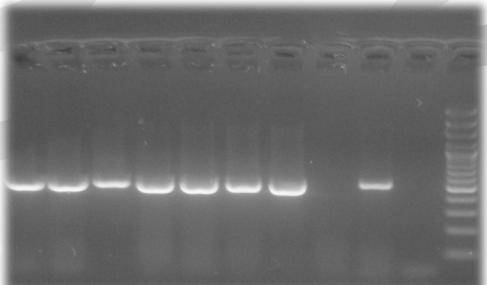



Uzorak br.	Pčelinjak broj	Lokacija	Godina	Prisustvo virusa pčela RT-PCR test					
				ABPV	CBPV	SBV	DWV	BQCV	KBV
1	1	Bačka Palanka	2012	+	+	+	+	+	-
2				+	+	+	+	+	-
3				-	+	+	+	+	-
4				-	+	+	+	+	-
5	2	Bačka Palanka	2011	-	+	+	-	+	-
6	3	Mladenovo	2013	+	+	+	+	+	-
7				+	+	+	+	+	-
8				+	+	+	+	+	-
9	4	Bač	2011	-	+	+	-	+	-
10	5	Bač	2011	-	-	+	-	+	-
11	6	Srbobran	2012	+	+	-	-	+	-
12				+	+	-	-	+	-
13				+	+	-	-	+	-
14	7	Bečeј	2013	-	+	+	-	+	-
15				-	-	-	-	+	-
16				-	+	+	-	+	-
17	8	Kisač	2013	-	+	+	+	+	-
18				-	+	+	+	+	-
19	9	Kovilj	2013	+	+	+	+	+	-
20				+	-	+	+	+	-

# REZULTATI ISPITIVANJA



Uzorak br.	Pčelinjak broj	Lokacija	Godina	Prisustvo virusa pčela RT-PCR test					
				ABPV	CBPV	SBV	DWV	BQCV	KBV
21	10	Susek	2013	+	+	+	+	+	-
22				+	-	+	+	+	-
23	11	Popovica	2011	-	-	+	+	+	-
24	12	Iriški venac	2013	+	-	-	+	+	-
25				+	-	-	+	+	-
26	13	S. Mitrovica	2013	-	-	+	-	+	-
27	14	Jarak	2013	+	-	-	+	+	-
28				+	-	-	+	+	-
29				+	-	-	+	+	-
30	15	Petrovaradin	2013	-	-	+	+	+	-
<b>TOTAL</b>				<b>17</b> <b>57%</b>	<b>18</b> <b>60%</b>	<b>21</b> <b>70%</b>	<b>20</b> <b>67%</b>	<b>30</b> <b>100%</b>	<b>0 %</b>



# REZULTATI ISPITIVANJA



Pčelinjak br	Lokacija	Godina	Prisustvo virusa pčela RT-PCR test					
			ABPV	CBPV	SBV	DWV	BQCV	KBV
Južnobački okrug	1	Bačka Palanka	2012	+	+	+	+	+
	2	Bačka Palanka	2011	-	+	+	-	+
	3	Mladenovo	2013	+	+	+	+	+
	4	Bač	2011	-	+	+	-	+
	5	Bač	2011	-	-	+	-	+
	6	Srbobran	2012	+	+	-	-	+
	7	Bečeј	2013	-	+	+	-	+
	8	Kisač	2013	-	+	+	+	+
	9	Kovilj	2013	+	+	+	+	+
Srem okrug	10	Susek	2013	+	+	+	+	+
	11	Popovica	2011	-	-	+	+	+
	12	Iriški venac	2013	+	-	-	+	+
	13	S. Mitrovica	2013	-	-	+	-	+
	14	Jarak	2013	+	-	-	+	+
	15	Petrovaradin	2013	-	-	+	+	+
<b>TOTAL</b>			<b>7</b>	<b>9</b>	<b>12</b>	<b>9</b>	<b>15</b>	<b>0 %</b>
			<b>47%</b>	<b>60%</b>	<b>80%</b>	<b>60%</b>	<b>100%</b>	<b>0 %</b>

# REZULTATI ISPITIVANJA



Br. detektovanih Virusa	Detektovan virus	Broj uzoraka	% uzoraka
0 virus	/	0	0%
1 virus	BQCV	1	3.4%
2 viruses	SBV and BQCV	2	6.7%
3 viruses	BQCV, DWV, CBPV, ABPV or SBV	14	46.7%
4 viruses	SBV, DWV, BQCV and CBPV or ABPV	6	20%
5 viruses	ABPV, CBPV, SBV, DWV and BQCV	7	23.3%
6 viruses	/	0	0%
TOTAL		30	100%



## ZAKLJUČCI

- Utvrđena je prisustvo i visoka prevalenca 5 od 6 ispitivanih najznačajnijih virusnih infekcija u pčelinjacima u Srbiji (Južnobačkom i Sremskom okrugu).
- BQCV je detektovan u 100%, SBV u 80%, DWV u 60%, CBPV u 60% i ABPV u 47% ispitivanih pčelinjih zajednica. KBV nije detektovan niti u jednom uzorku.
- Nalazi su posebno značajni s obzirom na utvrđenu opterećenost pčelinjaka različitim virusnim infekcijama – prisustvom mešanih virusnih infekcija – u oko 90% uzoraka pčela je utvrđeno istovremeno prisustvo 3 ili više virusnih infekcija.
- Ova visoka prevalencija virusa pčela u ispitanim pčelinjacima može se delimično objasniti velikom gustinom pčelinjih društava na području odakle su uzorci pčela prikupljeni, kao i intenzivnom i dobrom delom nekontrolisanom trgovinom pčelinjim društvima, maticama ili opremom.
- Nalazi su i dalje samo preliminarni i ukazuju na postojanje problema, a za kontrolu istog neophodno je kontinuirano praćenje / laboratorijsko ispitivanje – nadzor nad prisustvom pojedinih virusnih infekcija i njihovim intenzitetima – zdrava društva (manje opterećena društva) bi mogla služiti kao baza za čišćenje zajednica od virusnih patogena.



Hvala na pažnji

