

**Biološki agensi za suzbijanje grinje *Varroa destructor*, parazita medonosne pčele (*Apis mellifera*)**

Biocontrol Agents of *Varroa destructor*, Honeybee (*Apis mellifera*) Parasite

**Kovačić, M., Sarajlić, A., Puškadija, Z., Kanižai Šarić, G., Laznik, Ž., Jakovljević, I., Raspudić, E., Majić, I.**

**Poljoprivreda/Agriculture**

ISSN: 1848-8080 (Online)

ISSN: 1330-7142 (Print)

<https://doi.org/10.18047/poljo.27.1.6>



**Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Poljoprivredni institut Osijek**

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Agricultural Institute Osijek

# BIOLOŠKI AGENSI ZA SUZBIJANJE GRINJE *Varroa destructor*, PARAZITA MEDONOSNE PČELE (*Apis mellifera*)

Kovačić, M.<sup>(1)</sup>, Sarajlić, A.<sup>(1)</sup>, Puškadija, Z.<sup>(1)</sup>, Kanižai Šarić, G.<sup>(1)</sup>, Laznik, Ž.<sup>(2)</sup>, Jakovljević, I.<sup>(3)</sup>, Raspudić, E.<sup>(1)</sup>, Majić, I.<sup>(1)</sup>

Pregledni znanstveni članak

Scientific review

## SAŽETAK

*Medonosna pčela (Apis mellifera) izrazito je osjetljiva na varoozu, koju izaziva grinja Varroa destructor. Ako se ne zaštite od varooze, pčelinje zajednice u pravilu propadaju nakon jedne do tri godine. Zaštita pčelinjih zajednica kemijskim sredstvima sve je manje učinkovita zbog rezistentnosti grinja i nepoželjna je zbog zaostajanja aktivnih tvari u pčelinjim proizvodima. Cilj rada je pregledom literature istražiti potencijal te prednosti i nedostatke primjene bioloških agensa u suzbijanju varoe. Prikazani su biološki aspekti grinje Varroa destructor u interakciji sa pčelom kao domaćinom i bioagensima te utjecaj fizikalnih uvjeta u košnici na učinkovitost bioagensa. Posljednja se dva desetljeća u suzbijanju varoe i sličnih organizama istražuju korisni člankonošci, entomopatogene nematode, entomopatogene gljive i bakterije. S obzirom na visoku učinkovitost u suzbijanju varoe i sigurnost za pčele, entomopatogene gljive iz rodova Metarhizium i Beauveria, entomopatogene bakterije Bacillus thuringiensis te simbiotske bakterije entomopatogenih nematoda potencijalni su bioagensi. U budućim istraživanjima treba standardizirati metode ocjene djelovanja bioagensa na varou i pčelinju zajednicu i tehnološki prilagoditi potencijalne bioagense fizikalnim uvjetima u košnici, uzimajući u obzir sigurnost pčela, pčelara i kvalitetu meda.*

**Ključne riječi:** varooza, korisni člankonošci, entomopatogeni organizmi, Metarhizium, Beauveria, Bacillus

## UVOD

Vrste iz roda *Varroa* pripadaju koljenu člankonožaca Arthropoda, razredu paučnjaka Arachnida te podrazredu grinja Acari. Svrstavaju se u red Mesostigmata u nadredu Parasitiformes (Bolger i sur., 2018.). Vrste koje izazivaju bolest pčela, takozvanu „varoozu“, pripadaju porodici Varroidae. Ubrajaju se u najznačajnije uzročnike gubitka pčelinjih zajednica u svijetu (Brodschneider i sur., 2018.). Poznate su četiri vrste iz roda *Varroa*, no varoozu kod pčela uzrokuje grinja *Varroa destructor*, koja se hrani bjelančevinasto-masnim tkivom legla i odraslih pčela (Ramsey i sur., 2019.) te kao vektor prenosi viruse (izobličjenih krila, zatim kašmirkoga virusa pčela te virusa izraelske akutne paralize pčela).

Zbog zaraženosti virusom, pčele imaju oslabljeni imunosni sustav te su podložnije sekundarnim infekcijama. Navedeni uzroci dovode do znatnoga skraćenja životnoga vijeka pčele (Dainat i sur., 2011.). Početkom prošloga stoljeća, varoa je prešla s izvornoga domaćina azijske ili istočne pčele (Hymenoptera: Apidae, *Apis cerana* F.) na zapadnu, medonosnu pčelu (Hymenoptera: Apidae, *Apis mellifera*). Transportom

(1) Dr. sc. Marin Kovačić, doc. dr. sc. Ankica Sarajlić, prof. dr. sc. Zlatko Puškadija, izv. prof. dr. sc. Gabriella Kanižai Šarić, prof. dr. sc. Emilija Raspudić, izv. prof. dr. sc. Ivana Majić (imajic@fazos.hr) – Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska; (2) doc. dr. sc. Žiga Laznik – Sveučilište u Ljubljani, Biotehnički fakultet, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Slovenija; (3) Ivana Jakovljević, dipl. ing. agr. – Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Centar za zaštitu bilja, Kralja Zvonimira 14 a, 21000 Solin, Hrvatska

rojeva, seljenjem pčela i prirodnim širenjem, varoa se danas proširila po cijelome svijetu. Od svih vrsta iz roda *Apis*, jedino je *A. cerana* razvila mehanizme otpornosti na varou, pa pčelinje zajednice *A. mellifera*, ukoliko se ne tretiraju, propadaju nakon jedne do tri godine (Fries i sur., 2006.).

Mužjaci *V. destructor* životni ciklus provode samo u leglu te ne mogu preživjeti na pčelama, dok ženke grinje život provode kao ektoparazit na pčeli i u leglu tijekom razmnožavanja. Prepoznavanjem kemijskih signala u pčelinjoj zajednici (starost pčela i legla), grinje se lako orijentiraju i pronalaze domaćina (Rosenkranz i sur., 2010.). Razmnožavanje grinja usko je povezano s razvojem legla. Ženka varoe ulazi u stanicu i zavlaci se ispod ličinke pčele 15–20 h prije poklapanja legla (Boot i sur., 1992.), a prvo jaje odloži najčešće 70 h nakon poklapanja legla. Prvo jaje je uvijek neoplođeno i iz njega se razvije haploidni mužjak, dok su ostala jaja oplođena i iz njih se razvijaju diploidne ženke (Ifantidis, 1990.). Ženka varoe u radiličkome leglu odloži do pet, a u trutovskome leglu do šest jaja (Martin, 1995.). Progrizanjem hitinske ovojnice na petome članku kukuljice, odrasla grinja stvara „hranidbenu zonu“ u kojoj se hrani njihovo potomstvo. U blizini se nalazi takozvano „mjesto akumuliranja izmeta“, na kojem se grinje uglavnom zadržavaju. Na ovome mjestu mužjaci ranije sazrijevaju i čekaju ženke za kopulaciju. Varoa kopulira nekoliko puta tijekom života. Oplodnja jaja kod grinja je ponekad neuspješna, te je kod europskih podvrsta medonosne pčele zabilježeno 5–20% neplodnih grinja (Rosenkranz i sur., 2010.).

Do danas je opisano nekoliko svojstava otpornosti pčela na varou. To su, primjerice, higijensko ponašanje, potisnuto razmnožavanje varoe te otklapanje/poklapanje legla (Büchler i sur. 2020.a; Mondet i sur., 2020.). Higijensko ponašanje pčela svojstvo je radilica da prepoznaju, otklope i uklone bolesno, ozlijeđeno ili uginulo leglo. Ono u određenoj mjeri smanjuje brzinu razmnožavanja i širenja varoe i virusa (Al Toufaily i sur., 2014.). U pojedinim pčelinjim zajednicama pčele kroz voštani poklopac mogu prepoznati prisutnost varoe u leglu i ukloniti takvo leglo. Ovaj specifični oblik higijenskoga ponašanja, koje je usmjereno prema leglu zaraženom varoom, naziva se varoa specifičnim higijenskim ponašanjem (*Varroa-specific hygienic behavior*, VSH) (Ibrahim i Spivak, 2006.). Pčele s VSH svojstvom ticalima osjete prisutnost varoe u leglu te otklapaju i uklanjaju invadirano leglo s reproduktivnom grinjom (Harris i sur., 2010.). Varoe koje se ne razmnožavaju ostaju zarobljene u leglu i na taj se način stječe dojam kako je u takvim zajednicama vrlo visok udio neplodnih varoa. Ovaj obrambeni mehanizam ne suzbija varou, ali negativno utječe na uspjeh jednoga ciklusa njezina razmnožavanja. Higijensko ponašanje i mikrobiom pčele trenutačno se najviše istražuju radi otpornosti pčela na varou (Daisley i sur., 2020.). Ekonomski prag odluke za suzbijanje varoe iznosi od 59 do 187 grinja

po ljepljivoj ploči u periodu od jedne noći tijekom kasnoga ljeta (Ellis, 2001.) ili ako je utvrđeno 2–3% zaraženih pčela (DeGrandi-Hoffman i Curry., 2004.). Zaštita pčelinjih zajednica kemijskim sredstvima sve više gubi na značaju zbog rezistentnosti grinja na aktivne tvari korištenih akaricida (Sammataro i sur., 2005.) i njihovih toksikološki opasnih ostataka u vosku i medu (Martel i sur., 2007.). Spojevi prirodnoga podrijetla kao što su oksalna kiselina i timol dosada su pokazali zadovoljavajuću učinkovitost, ali za dobre rezultate važna je pravilna i pravovremena primjena (Dietemann i sur., 2012.). Sve više se istražuje i primjenjuju bioracionalni pesticidi, kao što su pesticidi mikrobiološkoga (entomopatogeni) i botaničkog podrijetla (npr. eterična ulja i organske kiseline). Cilj je rada pregledom literature istražiti potencijalne bioagense, kao i utvrditi njihove prednosti i nedostatke u suzbijanju varoe.

### VAŽNOST FIZIKALNIH ČIMBENIKA U KOŠNICI

Fizikalni uvjeti u košnici određuju uspješnost primjene biološkoga agensa u suzbijanju varoe. Pčele reguliraju uvjete unutar košnice, koji se razlikuju tijekom ljeta i zime. Tijekom ljetnih mjeseci temperatura unutar zajednice uglavnom je neovisna o okolišnim čimbenicima (Liu i sur., 1990.). Temperatura u području legla iznosi između 32 i 37°C, dok je temperatura u području u kojem nema legla između 28 i 33°C (Kaya i sur., 1982.). Tijekom zime, prosječna temperatura unutar klupka je oko 21°C, s rasponom od 5 do 33°C od ruba do sredine klupka (Fahrenholz i sur., 1989.). Tijekom ljeta relativna vlažnost zraka u zajednici u području legla iznosi 40–50%, međutim tijekom hlađenja isparavanjem raste do 70%, pa čak i do 100% kada košnica ima samo jedan ulaz. Vlažnost zraka unutar klupka tijekom zime je između 50 i 85% i veća je u središtu negoli na rubu klupka. Razina CO<sub>2</sub> tijekom ljeta na razini je od 0,1 do 4,3%, dok je tijekom zime oko 6%. Kretanje zraka unutar košnice nastaje kao posljedica lepezanja krilima radilica radi održavanja temperature i vlage, a može pomoći u širenju bioloških agensa protiv varoe. Protok zraka unutar košnice iznosi 0,2 L s<sup>-1</sup>, međutim tijekom ventiliranja radilica kod većih temperatura i vlažnosti zraka protok zraka raste od 0,4 do 1 L s<sup>-1</sup>. Primjena bioloških agensa s obzirom na fizikalne uvjete unutar pčelinje zajednice manje je učinkovita u ljetnim mjesecima.

### BIOLOŠKI AGENSI ZA SUZBIJANJE *Varroa destructor*

Biološke mjere suzbijanja štetnika podrazumijevaju korištenje njihovih prirodnih neprijatelja, takozvanih „bioloških agensa“ (Trdan i sur., 2020.). Biološki agensi (bioagensi) često imaju akaricidno djelovanje, a uspješno se primjenjuju u programima integrirane zaštite bilja od štetnika u različitim agroekosustavima. Varoa nema zabilježenih prirodnih neprijatelja, i

to je jedan od razloga koji doprinose njezinu ekspanzionalnom razvoju u pčelinjoj zajednici (Rangel i Ward, 2018.). Na svojem izvornom domaćinu, azijskoj pčeli, populacija varoa se nikada ne razvija u velikoj brojnosti, što je moglo utjecati na pojavu i razvoj prirodnih neprijatelja. Na medonosnoj pčeli varoa se ekspanzionalno razvija tijekom godine te često razvije populaciju od nekoliko tisuća jedinki od proljeća do jeseni. Međutim, u pčelinjoj zajednici varoa je zaštićena od prirodnih neprijatelja. Zbog organizirane obrane košnice, izrazito visokoga stupnja higijene, korištenja propolisa, meda i matične mliječi, koji imaju anti-biotsko djelovanje, pčele značajno smanjuju ulazak različitih predatora u košnicu i razvoj mikrobioma u zajednici. Kleespies i sur. (2000.) pronašli su u košnici virusima slične organizme koji smanjuju životni vijek varoe bez utjecaja na pčele, međutim do danas nisu utvrđeni prirodni neprijatelji varoe koji mogu značajno smanjiti njezinu populaciju u pčelinjim zajednicama. S ciljem pronalaska biološkoga sredstva za zaštitu od varoe koji je siguran za pčele, posljednja se dva desetljeća istražuju bioagensi čija je učinkovitost prethodno potvrđena kod sličnih organizama, kao što su porodice Laelapidae (grinje, ektoparaziti na pticama i sisavcima) i Iphipsidae (grinje, ektoparaziti na člankonošcima), te sestrinski redovi Ixodida (krpelji) i Holothyrida (Evans, 1992.). Red Mesostigmata, u koji se svrstava varoa, ekološki je raznolika grupa grinja koja uključuje slobodno živuće vrste i vrste koje se služe domaćinima kao prijenosnicima do drugoga domaćina.

## KORISNI ČLANKONOŠCI

Predatorske vrste grinja dolaze iz redova Mesostigmata i Prostigmata, a 11 porodica hrani se paučnjacima (Gerson i Smiley, 1990.). Predatorske grinje naseljavaju različita ekološka staništa, među kojima je i pčelinja zajednica (Chmielewski, 1992.). Dosada nisu utvrđene predatorske vrste grinja koje se u prirodi hrane varoom. Pretpostavka o razlogu izostanka takvih vrsta jest ta da im nepovoljni uvjeti u košnici onemogućuju razvoj, a mala je mogućnost da se hrane potomstvom varoe koje se nalazi unutar poklopljenoga legla (Rosenkranz i sur., 2010.). Predatorske vrste grinja morale bi s varoom ući u leglo pred poklapanje, a to je vremenski kratko razdoblje (oko 20 h) (Boot i sur., 1992.), dok uvjeti unutar poklopljene stanice legla na koje je varoa prilagođena (visoka temperatura i vlažnost zraka, oštećenja koju mogu nastati rastom ličinke pčele) nisu povoljni za preživljavanje različitih predatora. Ukoliko bi predatorske vrste ranije ušle u leglo, pčele bi higijenskim ponašanjem uklonile invadiranu ličinku. S druge strane, postoji opasnost da bi se predatorske vrste koje uđu košnicu počele hraniti jajima koje odlaže matica umjesto varoom. Rangel i Ward (2018.) nisu utvrdili učinkovito djelovanje predatorske grinje *Stratiolaelaps scimitus* (Mesostigmata, Laelapidae) u

suzbijanju varoe u poljskim uvjetima, iako se u laboratorijskim uvjetima pokazala kao potencijalni bioagens. Brojne su vrste pseudoškorpiona (Arthropoda: Arachnida: Pseudoscorpionida) polifagne, a hrane se raznim kukcima i grinjama (Donovan i Hyink, 2006.). Za nekoliko vrsta pseudoškorpiona utvrđeno je da su predatori varoa (Fagan i sur., 2012.; van Toor i sur., 2015.). Nekoliko vrsta parazitoida, korisnih kukaca iz reda opnokrilca (Hymenoptera), zabilježeno je na vrstama iz podrazreda Acari. Sve utvrđene vrste su parazitoidi krpelja (Takasu i Nakamura, 2008.).

## PATOGENI BESKRALJEŽNJACI I MIKROORGANIZMI

Patogeni beskraljčnjaci i entomopatogeni mikroorganizmi često imaju univerzalni spektar štetnoga djelovanja za različite vrste štetnika. Varou napadaju nematode, virusi, gljive, bakterije i protozoe (Morse i Flottum, 2013.).

### Entomopatogene nematode

Danas se u poljoprivrednoj proizvodnji koristimo dvama rodovima entomopatogenih nematoda (EPN) *Heterorhabditis* i *Steinernema* (Nematoda: Rhabditida) u suzbijanju najznačajnijih štetnika iz razreda Insecta (Majić i sur., 2019.). EPN su obligatni parazitski valjkasti crvi, mikroskopske veličine tijela, koji veći dio svojega života provode u tijelu člankonožaca. Žive u simbiozi s bakterijama iz roda *Xenorhabdus* (rod *Steinernema*) i *Photorhabdus* (rod *Heterorhabditis*). *Steinernema* u domaćina ulazi isključivo kroz prirodne otvore poput odušaka, usta i anusa, dok *Heterorhabditis* može probiti i kutikulu domaćina. One u tijelo domaćina ispuštaju simbiotske, entomopatogene bakterije, koje se brzo razmnožavaju i dovode do smrti domaćina od 24 do 72 h nakon infekcije (Majić i sur., 2018.). Varoa je tijekom ishrane usnim ustrojem pričvršćena za pčelu te ostavlja samo anus i oduške kao prirodne otvore i potencijalni ulaz za nematode. U drugome je dijelu životnoga ciklusa varoa u poklopljenome radiličkom leglu u kojem se razmnožava, što otežava infekciju EPN-om. Ovo je značajan nedostatak EPN-a, a uspješnost u infekciji može se poboljšati jedino ranijom primjenom. EPN-ovi su prilagođeni životu u tlu i nužna im je vlažna sredina za virulentnost, koju mogu pronaći u leglu pčelinje zajednice. Za primjenu EPN-a u košnici bolje su prilagođene vrste EPN-a koje prirodno naseljavaju klimatski toplija podneblja te se očekuje da će preživjeti visoke temperature u pčelinjoj zajednici [pr. *Heterorhabditis* izolirana u Izraelu virulentna je na temperaturama iznad 30°C (Glazer i sur., 1996.); *Steinernema glaseri* i *S. riobrave* mogu inficirati domaćine na temperaturi 37–39°C]. Dosadašnja istraživanja pokazala su štetno djelovanje EPN-a za grinje, osobito za krpelje. U laboratorijskim je istraživanjima krpelj goveda *Boophilus annulatus* osjetljiv je na šest vrsta *Steinernema* i tri vrste *Heterorhabditis*, dok su krpelji *Boophilus micro-*

plus i *Amblyomma variegatum* bili otporni (Maulon i sur., 1993.). *Steinernema carpocapsae* uzrokovala je smrtnost veću od 90% kod krpelja *B. annulatus* (Glazer i Samish, 1993.).

Tretmani nematodama *S. carpocapsae* po okvrima s pčelama i leglom nisu uzrokovali smrtnost legla, međutim smrtnost se kod odraslih pčela kretala do 10%, dok je prskanje pčela u kavezima izazvalo smrtnost kod 15% pčela (Kaya i sur., 1982.). Baur i sur. (1995.) primijenili su visoke koncentracije EPN-a pri prskanju okvira, a utvrdili su umjerenu smrtnost pčelinjega legla. U laboratorijskim se uvjetima *S. carpocapsae* razmnožavaju u pčelama (Bailey, 1971.), međutim ne očekuje se uspješno razmnožavanje EPN-a u okolišnim uvjetima unutar pčelinje zajednice (Kaya i sur., 1982.). Libardoni i sur. (2020.) utvrdili su da *Steinernema* spp. značajno smanjuje životni vijek radilica. Kod zemnoga bumbara *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) utvrđena je smrtnost veća od 80% nakon izlaganja tlu koje je prethodno tretirano preporučenom dozom komercijalnoga biološkog sredstva koje sadrži EPN (Dutka i sur., 2015.).

### Entomopatogene gljive

Entomopatogene gljive (EPG) su najizgledniji bioagensi za suzbijanje varoe. Većina EPG-a svrstava se u dva reda: Entomophthorales i Hypocreales. Hayek i Delalibera (2010.) navode da je EPG iz reda Entomophthorales teško ili nemoguće uzgojiti *in vitro*, pa zbog toga nisu puno testirane u suzbijanju varoe. Vrste *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) i *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) učinkovite su u suzbijanju maloga kornjaša košnice (*Aethina tumida*) (Muerrle i sur., 2006.). Iako nijedna od ovih vrsta nema specifično akaricidno djelovanje, neke vrste EPG-a su generalisti i patogene su za veliki broj štetnika. Patogeno djelovanje obiju vrsta EPG-a ispitano je na krpeljima (Stafford i Allan, 2010.) i herbivornim grinjama Tetranychidae (Bugeme i sur., 2010.). Krpelji su izrazito osjetljivi na EPG (Chandler i sur., 2000.). Patogenost EPG-a za pčele u laboratorijskim uvjetima može biti različita u odnosu na primjenu u prirodnim uvjetima. Davidson i sur. (2003.) i Rodríguez i sur. (2009.) utvrdili su rast nekoliko izolata *M. anisopliae* i *B. bassiana* na 35 °C, što je temperatura oko pčelinjega legla. Meikle i sur. (2006.) utvrdili su spore kod 10–63% pčelinjega legla izloženoga grinjama tretiranim gljivama *Beauveria* spp., a Steenberg i sur. (2010.) izolirali su vrstu *B. bassiana* iz varoe naknadno pronađene u pčelinjem leglu. U navedenim istraživanjima nije utvrđen negativni utjecaj EPG-a na količinu legla tijekom tretmana i nakon njega. Prskanje pčela EPG-om nije značajno negativno utjecalo na porast populacije pčelinje zajednice i na smrtnost odraslih stadija pčela (Kanga i sur., 2010.; Meikle i sur., 2008.). Primjena EPG-a u suzbijanju varoe preporučuje se u foretskoj fazi ovoga štetnika, dok nije ušao u poklopljeno leglo. Metodom zatvaranja matice u kavez tijekom 25 dana na umjetan

se način potiče stanje u zajednici bez legla, pa se sve varoe nalaze na pčelama te je moguće uspješno primijeniti tretmane EPG-om (Gregorc i sur., 2017.; Büchler i sur., 2020.b). Kanga i sur. (2010.) navode značajno smanjenje invadiranosti pčela varoom koristeći se *M. anisopliae* umetnutima u trake ili raspršenima između okvira, pri čemu se zaraženost smanjila s 2,1–6,1% na 0,1–1,2%. Međutim, slična istraživanja (James i Hayes, 2007.; Meikle i sur. 2009.; Rodriguez i sur. 2009.) nisu pokazala značajan utjecaj *M. anisopliae*. Objašnjenje razlike u rezultatima jest to što su se Kanga i sur. (2010.) koristili zajednicama bez legla, te su se sve varoe nalazile na pčelama. Primjena šećerne pogače s 10 g konidija *M. anisopliae* ( $1 \times 10^7$  spora  $g^{-1}$ ) pokazala je dobre rezultate u zaštiti od varoe (Kanga i sur., 2010.). Pogače su izvrstan medij za aplikaciju EPG-a i zaštitu spora od fizikalnih uvjeta u košnici. Nakon višegodišnjih istraživanja, navedeni su autori utvrdili klijavost kod 98% spora, visoku smrtnost varoe (95% smrtnosti varoe nakon sedmoga dana), porast populacije legla i odraslih pčela te značajno smanjenje zaraženosti pčela i legla nakon 47 dana istraživanja. *B. bassiana* i *M. anisopliae* kompatibilne su za miješanje s timolom, ali su pojedinačni tretmani u odnosu na kombinirane ostvarili bolje rezultate i veću smrtnost varoe (Sinia i Guzman-Novoa, 2018.). U 2012. godini Meinkle i Nansen patentirali su formulaciju za suzbijanje varoe na bazi EPG-a *B. bassiana*.

### Bakterije

Varoa utječe na ravnotežu i raznolikost zajednice bakterija u crijevnoj mikrobioti pčela, što neposredno utječe na imunosni sustav pčele (Hubert i sur., 2017.). Procjenjuje se da crijevna mikrobiota radilica sadrži  $10^9$  bakterijskih stanica. Malo je istraživanja o utjecaju bakterija na varou. Prihrana pčela dodatcima koji sadržavaju bakteriju *Parasaccharibacter apium* (Acetobacteraceae), poznatu kao „bakterija košnica“, povećava otpornost pčela na nozemozu, to jest na bolest koju izaziva mikrosporidija iz roda *Nosema* (Corby-Harris i sur., 2016.). Bakterije s akaricidnim djelovanjem i najvećim potencijalom za primjenu u suzbijanju varoe pripadaju porodici Bacillaceae (Chandler i sur., 2001.), pri čemu je *Bacillus thuringiensis* najčešće korištena komercijalizirana vrsta jer proizvodi kristalizirajuće proteine toksične za veliki broj člankonožaca (Van der Geest i sur., 2000.). Alberoni i sur. (2016.) utvrdili su da *Lactobacillus kunkeei*, *B. thuringiensis* i *Bifidobacterium asteroides* uzrokuju smrtnost varoe veću od 95% treći dan nakon primjene u laboratorijskim uvjetima. Najvirulentniji izolat *B. thuringiensis* uzrokuje 96,7% smrtnosti varoe 36 h nakon primjene, a  $LC_{50}$  je  $1,50 \mu g mL^{-1}$  (Alquisira-Ramírez i sur., 2014.). Neke vrste rikecija imaju akaricidno djelovanje, te se potencijalno mogu iskoristiti u suzbijanju varoe. Prednost je to što su ove vrste bakterija sigurne za pčele, životinje i ljude (Van der Geest i sur., 2000.; Sabo i sur., 2020.). U posljednje se vrijeme istražuje učinkovitost simbiotskih bakterija EPN-a i entomofilnih nematoda. Utvrđeno je snažno akaricidno djelovanje

vanje bakterije *Serratia marcescens* (simbionti entomofilnih nematoda) jer proizvodi hitinaze toksične za varou (Tu i sur., 2010.). Međutim, ova bakterija oportunistički napada i odrasle stadije pčela (Raymann i sur., 2018.). *Xenorhabdus* i *Photorhabdus* (simbionti EPN-a), *Acaricomes*, *Pseudomonas* i *Burkholderia* također imaju akaricidno djelovanje (Cordova-Kreylos i sur., 2013.; Eroglu i sur., 2019.).

## ZAKLJUČAK

Istaknuta je kompleksnost problema zaštite pčela od varoe s pomoću bioagensa, kao i potreba za razvojem novih akaricida, dugotrajne učinkovitosti, bez štetnosti za pčele i sa slabim ekološkim otiskom. U odnosu na druge štetne člankonošce, utjecaj bioagensa na varou je slabo istražen. Entomopatogene gljive i bakterije trenutačno imaju najveći potencijal za razvoj novoga biopesticida u suzbijanju varoe, s obzirom na to da neke vrste uzrokuju 95% smrtnosti varoe. Najveći nedostatak primjene bioagensa su sigurnost za pčele i tehnološka prilagodba sredstva fizikalnim uvjetima u košnici. Istraživanja učinkovitosti primjene bioagensa u suzbijanju varoe dala su neujednačene rezultate s obzirom na utjecaj na pčelinju zajednicu i varou. Jedan od osnovnih problema jest mali broj terenskih istraživanja te odstupanja u rezultatima u odnosu na laboratorijska istraživanja. Različite metode korištene u istraživanjima (formulacije, primjena i ocjena djelovanja na varou i pčelinju zajednicu) smanjuju mogućnost usporedbe i pravilnoga tumačenja provedenih istraživanja. Potrebno je standardizirati metode ocjene djelovanja bioagensa na varou i pčelinju zajednicu te provesti opsežna testiranja različitih vrsta i koncentracija unutar iste grupe bioagensa. Za razvoj ekonomski prihvatljivoga i učinkovitog biopesticida protiv varoe potrebno je tehnološki usavršiti potencijalne bioagense kako bi se prilagodili fizikalnim uvjetima u košnici. Prilikom bilo kojega tretmana protiv varoe s pomoću bioagensa, prioritet je zdravlje pčelinje zajednice, sigurna primjena za pčelara te izostanak negativnoga utjecaja na kvalitetu i sigurnost pčelinjih proizvoda.

## ZAHVALA

Rad je rezultat projekta *Nove metode u zaštiti pčela od patogena* i aktivnosti Istraživačkoga tima *BeeGenious* Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku financiranoga sredstvima programskoga financiranja javnih visokih učilišta.

## LITERATURA

1. Al Toufaily, H. M., Amiri, E., Scandian, L., Kryger, P., & Ratnieks, F. L. W. (2014). Towards integrated control of varroa: Effect of variation in hygienic behaviour among honey bee colonies on mite population increase and

symptoms of deformed wing virus incidence. *Journal of Apicultural Research*, 53(5), 555-562. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.5.10>

2. Alberoni, D., Gaggia, F., Baffoni, L., & Di Gioia, D. (2016). Beneficial microorganisms for honey bees: problems and progresses. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(22), 9469-9482. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7870-4>
3. Alquisira-Ramírez, E. V., Paredes-Gonzalez, J. R., Hernández-Velázquez, V. M., Ramírez-Trujillo, J. A., & Peña-Chora, G. (2014). In vitro susceptibility of *Varroa destructor* and *Apis mellifera* to native strains of *Bacillus thuringiensis*. *Apidologie*, 45(6), 707-718. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0288-z>
4. Bailey, L., (1971). The safety of pest-insect pathogens for beneficial insects. U: *Microbial Control of Insects and Mites (ur. Burges, H.D., Hussey, N.W.)*. Academic Press.
5. Baur, M. E., Kaya, H. K., Peng, Y. S., & Jiang, J. (1995). Nonsusceptibility of the honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), to steinernematid and heterorhabditid nematodes. *Journal of Nematology*, 27(3), 378-381.
6. Bolger, T., Arroyo, J., & Piotrowska, K. (2018). A catalogue of the species of Mesostigmata (Arachnida, Acari, Parasitiformes) recorded from Ireland including information on their geographical distribution and habitats. *Zootaxa*, 4519(1), 1-220. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4519.1.1>
7. Boot, W. J., Calis, J. N. M., & Beetsma, J. (1992). Differential periods of *Varroa* mite invasion into worker and drone cells of honey bees. *Experimental and Applied Acarology*, 16(4), 295-301.
8. Brodschneider, R., Gray, A., Adjlane, N., Ballis, A., Brusbardis, V., Charrière, J. D., ... & Danihlík, J. (2018). Multi-country loss rates of honey bee colonies during winter 2016/2017 from the COLOSS survey. *Journal of Apicultural Research*, 57(3), 452-457. <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1460911>
9. Büchler, R., Kovačić, M., Buchegger, M., Puškadija, Z., Hoppe, A. & Brascamp, P. (2020a). Evaluation of traits for the selection of *Apis mellifera* for resistance against *Varroa Destructor*. *Insects*, 11(9), 618. <https://doi.org/10.3390/insects11090618>
10. Büchler, R., Uzunov, A., Kovačić, M., Prešern, J., Pietropaoli, M., Hatjina, F., ... & Nanetti, A. (2020). Summer brood interruption as integrated management strategy for effective *Varroa* control in Europe. *Journal of Apicultural Research*, 59(5), 764-773. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1793278>
11. Bugeme, D. M., Knapp, M., Boga, H. I., Wanjoya, A. K., & Maniania, N. K. (2010). Influence of temperature on virulence of fungal isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Mycologia*, 167(4), 221-227. <https://doi.org/10.1007/s11046-008-9164-6>
12. Chandler, D., Davidson, G., Pell, J. K., Ball, B. V., Shaw, K., & Sunderland, K. D. (2000). Fungal biocontrol of Acari. *Biocontrol Science and Technology*, 10(4), 357-384. <https://doi.org/10.1080/09583150050114972>

13. Chandler, D., Sunderland, K. D., Ball, B. V., & Davidson, G. (2001). Prospective biological control agents of *Varroa destructor* n. sp., an important pest of the European honeybee, *Apis mellifera*. *Biocontrol Science and Technology*, 11(4), 429-448. <https://doi.org/10.1080/09583150120067472>
14. Chmielewski, W. (1992). Species composition and size of mite population in natural hive debris of wintering honey bee colonies. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 36, 74-90.
15. Corby-Harris, V., Snyder, L., Meador, C. A. D., Naldo, R., Mott, B. & Anderson K. E. (2016). *Parasaccharibacter apium*, gen. nov., sp. nov., improves honey bee (Hymenoptera: Apidae) resistance to *Nosema*. *Journal of Economic Entomology*, 109(2), 537-543. <https://doi.org/10.1093/jee/tow012>
16. Cordova-Kreylos, A. L., Fernandez, L. E., Koivunen, M., Yang, A., Flor-Weiler, L., & Marrone, P. G. (2013). Isolation and characterization of *Burkholderia rinojensis* sp. nov., a non-*Burkholderia cepacia* complex soil bacterium with insecticidal and miticidal activities. *Applied Environmental Microbiology*, 79(24), 7669-7678. <https://doi.org/10.1128/AEM.02365-13>
17. Dainat, B., Evans, J. D., Chen, Y. P., Gauthier, L., & Neumann, P. (2011). Dead or alive: Deformed wing virus and *Varroa destructor* reduce the life span of winter honeybees. *Applied Environmental Microbiology*, 78(4), 981-987, <https://doi.org/10.1128/AEM.06537-11>.
18. Daisley, B. A., Chmiel, J. A., Pitek, A. P., Thompson, G. J., & Reid, G. (2020). Missing microbes in bees: how systematic depletion of key symbionts erodes immunity. *Trends Microbiology*, 28(12), 1010-1021. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.06.006>
19. Davidson, G., Phelps, K., Sunderland, K. D., Pell, J. K., Ball, B. V., Shaw, K. E., & Chandler, D., (2003). Study of temperature-growth interactions of entomopathogenic fungi with potential for control of *Varroa destructor* (Acari: Mesostigmata) using a nonlinear model of poikilotherm development. *Journal of Applied Microbiology*, 94(5), 816-825. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01871.x>
20. De Grandi-Hoffman, G., & Curry, R. (2004). A mathematical model of Varroa mite (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) and honeybee (*Apis mellifera* L.) population dynamics. *International Journal of Acarology*, 30(3), 259-274. <https://doi.org/10.1080/01647950408684393>
21. Dietemann, V., Pflugfelder, J., Anderson, D., Charrière, J. D., Chejanovsky, N., Dainat, B., ... & Neumann, P. (2012). *Varroa destructor*: research avenues towards sustainable control. *Journal of Apicultural Research*, 51(1), 125-132. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.51.1.15>
22. Donovan, B. J., & Hyink, W. (2006). New Zealand pseudoscorpions kill varroa. *NZ BeeKeep*, 14, 41-43.
23. Dutka, A., McNulty, A., & Williamson, S. M. (2015). A new threat to bees? Entomopathogenic nematodes used in biological pest control cause rapid mortality in *Bombus terrestris*. *PeerJ*, 3(1), 1-9. <https://doi.org/10.7717/peerj.1413>
24. Eroglu, C., Cimen, H., Ulug, D., Karagoz, M., Hazir, S., & Cakmak, I. (2019). Acaricidal effect of cell-free supernatants from *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* bacteria against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 160, 61-66. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.12.004>
25. Evans, G.O. (1992). Principles of Acarology. Wallingford, Oxon, UK : CAB International.
26. Fagan, L. L., Nelson, W. R., Meenken, E. D., Howlett, B. G., Walker, M. K., & Donovan, B. J. (2012). *Varroa* management in small bites. *Journal of Applied Entomology*, 136(6), 473-475. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2011.01666.x>
27. Fahrenholz, L., Lamprecht, I., & Schrick, B. (1989). Thermal investigations of a honey bee colony: thermoregulation of the hive during summer and winter and heat production of members of different bee castes. *Journal of Comparative Physiology B*, 159(5), 551-560. <https://doi.org/10.1007/BF00694379>
28. Fries, I., Imdorf, A., & Rosenkranz, P. (2006). Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. *Apidologie*, 37(5), 564-570. <https://doi.org/10.1051/apido:2006031>
29. Gerson, U. & Smiley, R. L. (1990). Acarine Biocontrol Agents. *Chapman and Hall*.
30. Glazer, I., Kozodoi, E., Hashmi, G., & Gaugler, R. (1996). Biological characteristics of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis* sp. IS-5: A heat tolerant isolate from Israel. *Nematologica*, 42(4), 481-492. <https://doi.org/10.1163/004525996X00082>
31. Glazer, I., & Samish, M. (1993). Suitability of *Boophilus annulatus* replete female ticks as hosts of the nematode *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 61(2), 220-222.
32. Gregorc, A., Alburaki, M., Werle, C., Knight, P. R., & Adamczyk, J. (2017). Brood removal or queen caging combined with oxalic acid treatment to control varroa mites (*Varroa destructor*) in honey bee colonies (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 48(6), 821-832. <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0526-2>
33. Harris, J. W., Danka, R. G., & Villa, J. D. (2010). Honey bees (Hymenoptera: Apidae) with the trait of *Varroa* sensitive hygiene remove brood with all reproductive stages of *Varroa* mites (Mesostigmata: Varroidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 103(2): 146-152. <https://doi.org/10.1603/AN09138>
34. Hayek, A., & Delalibera, I. (2010). Fungal pathogens as classical biological control agents against arthropods. *BioControl*, 55(1), 147-158. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9253-6>
35. Hubert, J., Bicianova, M., Ledvinka, O., Kamler, M., Lester, P. J., Nesvorna, M., & Erban, T. (2017). Changes in the bacteriome of honey bees associated with the parasite *Varroa destructor*, and pathogens *Nosema* and *Lotmaria passim*. *Microbial Ecology*, 73(3): 685-698. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0869-7>
36. Ibrahim, A., & Spivak, M. (2006). The relationship between hygienic behavior and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanisms of resistance to *Varroa destructor*. *Apidologie*, 37(1), 31-40. <https://doi.org/10.1051/apido:2005052>
37. Ifantidis, M. D. (1990). Re-examination of some parameters concerning reproduction of the mite *Varroa jacobsoni*

- ni Oud. U: *Proceedings of the International Symposium on Resent Research on Bee Pathology*, pp. 20-26, Gent, Belgija
38. James, R. R., & Hayes, G. (2007). Microbial control of varroa: misadventures in the field. *Journal of Anhui Agricultural University*, 34(2): 162-166.
  39. Kanga, L. H. B., Adamczyk, J., Patt, J., Gracia, C. & Cascino, J. (2010). Development of a user-friendly delivery method for the fungus *Metarhizium anisopliae* to control the ectoparasitic mite *Varroa destructor* in honey bee, *Apis mellifera*, colonies. *Experimental and Applied Acarology*, 52(4), 327-342. <https://doi.org/10.1007/s10493-010-9369-5>
  40. Kaya, H. K., Marston, J. M., Lindegren, J. E., & Peng, Y. S. (1982). Low susceptibility of the honey bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) to the entomogenous nematode, *Neoplectana carpocapsae* Weiser. *Environmental Entomology*, 11(4), 920-924.
  41. Kleespies, R. G., Radtke, J., & Bienefeld, K. (2000). Virus-like particles found in the ectoparasitic bee mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Journal of Invertebrate Pathology*, 75(1), 87-90. <https://doi.org/10.1006/jipa.1999.4890>
  42. Libardoni, G., Abati, R., Sampaio, A. R., Colombo, F. C., Maciel, R. M. A., Guide, B., & Potrich, M. (2020). Impact of entomopathogenic nematodes on Africanized honey bees *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) workers. *Semina: Ciências Agrárias*, 41(6Supl2), 3441-3448. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2020v41n6Supl2p3441>
  43. Liu, C., Leonard, J. J., & Feddes, J. J. (1990). Automated monitoring of flight activity at a beehive entrance using infrared light sensors. *Journal of Apicultural Research*, 29(1), 20-27. <https://doi.org/10.1080/00218839.1990.11101193>
  44. Majić, I., Sarajlić, A., Lakatos, T., Toth, T., Raspudić, E., Puškadija, Z., Kanizai Šarić, G., & Laznik, Ž. (2019). Virulence of new strain of *Heterorhabditis bacteriophora* from Croatia against *Lasiotera rubi*. *Plant Protection Science*, 55(2), 134-141. <https://doi.org/10.17221/119/2018-PPS>
  45. Majić, I., Sarajlić, A., Lakatos, T., Tóth, T., Raspudić, E., Zebec, V., ... & Laznik, Ž. (2018). First report of entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) from Croatia. *Helminthologia*, 55(3), 256-260. <https://doi.org/10.2478/helm-2018-0024>
  46. Martel, A. C., Zeggane, S., Aurleres, C., Drajundel, P., Faucon, J. P., & Aubert, M. (2007). Acaricide residues in honey and wax after treatment of honey bee colonies with Apivar or Asuntol. *Apidologie*, 38(6), 534-544. <https://doi.org/10.1051/apido:2007038>
  47. Martin, S. (1995). Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in drone brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Experimental and Applied Acarology*, 19(4), 199-210. <https://doi.org/10.1007/BF00055033>
  48. Maulon, H., Barr, N., & Panoma, S. (1993). Pathogenicity of 17 isolates of entomophagous nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for the ticks *Amblyomma variegatum* (Fabricius), *Boophilus microplus* (Canestrini) and *Boophilus annulatus* (Say). *Experimental and Applied Acarology*, 17(11), 831-838. <https://doi.org/10.1007/BF00225856>
  49. Meikle, W. G., Mercadier, G., Annas, F., & Holst, N. (2009). Effects of multiple applications of a *Beauveria* based biopesticide on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) densities in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Journal of Apicultural Research*, 48(3), 220-222. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.48.3.13>
  50. Meikle, W. G., Mercadier, G., Girod, V., Derouané, F., & Jones, W.A. (2006). Evaluation of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycota: Hyphomycetes) strains isolated from varroa mites in southern France. *Journal of Apicultural Research*, 45(4), 219-220. <https://doi.org/10.1080/00218839.2006.11101352>
  51. Meikle, W. G., Mercadier, G., Holst, N., & Girod, V. (2008). Impact of two treatments of a formulation of *Beauveria bassiana* (Deuteromycota: Hyphomycetes) conidia on *Varroa mites* (Acari: Varroidae) and on honeybee (Hymenoptera: Apidae) colony health. *Experimental and Applied Acarology*, 46, 105-117. <https://doi.org/10.1007/s10493-008-9160-z>
  52. Mondet, F., Parejo, M., Meixner, M. D., Costa, C., Kryger, P., Andonov, S., ... & Büchler, R. (2020). Evaluation of suppressed mite reproduction (SMR) reveals potential for Varroa resistance in European honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insects*, 11(9), 595. <https://doi.org/10.3390/insects11090595>
  53. Morse, R. A., & Flottum, K. (2013). Honey Bee Pests, Predators and Diseases. *Northern Bee Books*.
  54. Muerrle, T. M., Neumann, P., Dames, J. F., Hepburn, H. R., & Hill, M. P. (2006). Susceptibility of adult *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) to entomopathogenic fungi. *Journal of Economic Entomology*, 99(1), 1-6. <https://doi.org/10.1093/jee/99.1.1>
  55. Ramsey, S. D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J. D., Cohen, A., ... & Hawthorne, D. (2019). *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(5), 1792-1801. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818371116>
  56. Rangel, J., & Ward, L. (2018). Evaluation of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* for the biological control of the honey bee ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Journal of Apicultural Research*, 57(3), 425-432. <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1457864>
  57. Raymann, K., Coon, K. L., Shaffer, Z., Salisbury, S., & Moran, N. A. (2018). Pathogenicity of *Serratia marcescens* strains in honey bees. *MBio*, 9(5). <https://doi.org/10.1128/mBio.01649-18>
  58. Rodríguez, M., Gerding, M., France, A., & Ceballos, R. (2009). Evaluation of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* qu-M845 isolate to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in laboratory and field trials. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 69(4), 541-547. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392009000400009>
  59. Rosenkranz, P., Aumeier, P. & Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, 96-119. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>
  60. Sabo, R., Kopčáková, A., Hamarová, L., Maruščáková, I. C., Mudroňová, D., Sabová, L. & Legáth, J. (2020).



- Sublethal effects of commercial plant protection product containing spores *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713 (formerly subtilis) on winter adult honeybees. *Apidologie*, 51, 226-239. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00705-9>
61. Sammartaro, D., Untalan, P., Guerrero, F., & Finley, J. (2005). The resistance of varroa mites (Acari: Varroidae) to acaricides and the presence of esterase. *International Journal of Acarology*, 31(1), 67-74. <https://doi.org/10.1080/01647950508684419>
  62. Stafford, K. C., & Allan, S.A. (2010). Field applications of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* F52 (Hypocreales: Clavicipitaceae) for the control of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 47(6), 1107-1115. <https://doi.org/10.1603/ME10019>
  63. Steenberg, T., Kryger, P. & Holst, N. (2010). A scientific note on the fungus *Beauveria bassiana* infecting *Varroa destructor* in worker brood cells in honey bee hives. *Apidologie*, 41(1), 127-128. <https://doi.org/10.1051/apido/2009057>
  64. Takasu, K., & Nakamura, S. (2008). Life history of the tick parasitoid *Ixodiphagus hookeri* (Hymenoptera: Encyrtidae) in Kenya. *Biological Control*, 46(2), 114-121. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.04.013>
  65. Trdan, S., Laznik, Ž., & Bohinc, T. (2020). Thirty years of research and professional work in the field of biological control (predators, parasitoids, entomopathogenic and parasitic nematodes) in Slovenia: A Review. *Applied Science*, 10(21), 7468. <https://doi.org/10.3390/app10217468>
  66. Tu, S., Qiu, X., Cao, L., Han, R., Zhang, Y., & Liu, X. (2010). Expression and characterization of the chitinases from *Serratia marcescens* GEI strain for the control of *Varroa destructor*, a honey bee parasite. *Journal of Invertebrate Pathology*, 104(2), 75-82. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.02.002>
  67. Van der Geest, L. P., Elliot, S. L., Breeuwer, J. A. J., & Beerling, E. A. M. (2000). Diseases of mites. *Experimental and Applied Acarology*, 24(7), 497-560. <https://doi.org/10.1023/A:1026518418163>
  68. Van Toor, R. F., Thompson, S. E., Gibson, D. M., & Smith, G. R. (2015). Ingestion of *Varroa destructor* by pseudoscorpions in honey bee hives confirmed by PCR analysis. *Journal of Apicultural Research*, 54(5), 555-562. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1184845>

## BIOCONTROL AGENTS OF *Varroa destructor*, HONEYBEE (*Apis mellifera*) PARASITE

### SUMMARY

**The honeybee (*Apis mellifera*) is highly susceptible to the *Varroa destructor* mite. The unprotected colonies typically collapse after one to three years, usually. A chemical protection is inconsistent due to the mite's resistance and pose a toxicological threat because of residues in bee products. This review aimed to investigate the advantages and disadvantages of biological agents for the *Varroa* control. We have elaborated the importance and biological aspects of the mite's interaction with the bee as a host and with the potential bioagents. The impact of physical conditions in a colony on the bioagents' efficacy has been discussed. During the last two decades, the beneficial arthropods, entomopathogenic nematodes, entomopathogenic fungi and bacteria have been studied for their acaricidal activity against the *Varroa* or similar organisms. The entomopathogenic fungi of the genera *Metarhizium* and *Beauveria*, the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis*, and the symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes are recognized as the potential bioagents due to their high efficiency against the *Varroa* and due to their provision of safety for the bees. In the future studies, the bioassay standards for a testing of the *Varroa* bioagents' should be developed. The biotechnological enhancements of potential bioagents are necessary to increase their tolerance to the physical conditions in a beehive and to maintain the bees' and beekeeper's safety and honey quality.**

**Keywords:** varroosis, beneficial arthropods, entomopathogens, *Metarhizium*, *Beauveria*, *Bacillus*

(Primljeno 7. siječnja 2021.; prihvaćeno 12. travnja 2021. – Received on January 7, 2021; accepted on April 12, 2021)