

Mikrobiom pčela

Lulić, Nina

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:859155>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-04**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Nina Lulić

Mikrobiom pčela

Završni rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Nina Lulić

The Bee Microbiome

Bachelor thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularne biologije na Botaničkom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv.prof.dr.sc. Sunčice Bosak.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Mikrobiom pčela

Nina Lulić

Rooseveltov trg 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

U novije su vrijeme mnoga istraživanja usredotočena na ljudski mikrobiom za kojega je dokazano da ima značajan utjecaj na imunosti sustav, sintezu esencijalnih vitamina, razgradnju štetnih tvari, poboljšanje metabolizma, itd. Posljednjih godina dolazi do znatnog opadanja brojnosti pčela te se njihov mikrobiom intenzivno istražuje radi njihove važnosti. U ovom se završnom radu navode osnovni mikroorganizmi koji čine mikrobiom pčela, te se opisuje njihov razvoj i utjecaj kojeg imaju na domaćine. Objasnjeni su određeni antropogeni utjecaji te su navedeni patogeni organizmi koji su potencijalno doveli do smanjenja vijabilnosti pčela. Naglasak je stavljen na medonosnu pčelu zbog mnogih istraživanja provedenih na ovoj vrsti zbog njene komercijalne važnosti.

Ključne riječi: pčele, mikrobiom, pesticidi, virom

(25 stranica, 5 slika, 0 tablica, 16 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv.prof.dr.sc. Sunčica Bosak

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

The Bee Microbiome

Nina Lulić

Rooseveltova trg 6, 10 000 Zagreb, Croatia

In recent years, scientific research has focused on the human microbiome because it has a vital impact on the immune system, essential vitamin synthesis, toxin degradation, metabolism improvement, etc. Due to the recent significant decline in bee populations worldwide, scientific focus has shifted to the bee microbiome because of its important effect on insect health. In this bachelor thesis core microorganisms are reviewed which compose the bee microbiome, as well as their influence on bee health. Certain anthropogenic influences are also explained and pathogens are listed which potentially led to decline in bee viability. Emphasis is placed on the honey bee because of many research conducted on this species for its commercial value.

Keywords: bees, microbiome, pesticides, virome

(25 pages, 5 figures, 0 tables, 16 references, original in: croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library

Mentor: Assoc.prof. Sunčica Bosak, PhD

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 Uvod u društvene interakcije i podjelu rada pčele medarice (<i>Apis mellifera</i>)	1
1.2 Kratak osvrt na anatomiju pčela	2
1.3 Zašto proučavati pčele i njihov mikrobiom?	5
2. Uvod u mikrobiom pčela	6
2.1 Mikrobiom	6
2.2 Utjecaj prehrane.....	8
3. Razvoj mikrobioma pčela	8
3.1 Razvoj mikrobioma društvenih pčela	8
3.2 Razvoj mikrobioma solitarnih pčela.....	10
3.3 Utjecaji na raznolikost pčelinjeg mikrobioma.....	12
4. Važnost mikrobioma.....	13
4.1 Disbioza	13
4.2 Uloge u metabolizmu.....	13
4.3 Utjecaj pesticida	15
4.4 Urođeni imunosni sustav	17
4.5 Paraziti	18
4.6 Virom pčela	19
5. Zaključak.....	22
6. LITERATURA	23
7. Životopis	25

1. UVOD

1.1 UVOD U DRUŠTVENE INTERAKCIJE I PODJELU RADA PČELE MEDARICE (*APIS MELLIFERA*)

Pčele su biljojedni kukci koji spadaju u red *Hymenoptera* unutar koljena *Arthropoda*. Red *Hymenoptera* osim pčela obuhvaća i mrave i ose. Smatra se kako su pčele evoluirale od osa. Nalaze se po cijelom svijetu te stoga ne čudi što ih karakterizira velika raznolikost unutar vrste (Engel i sur., 2016). Ovaj se završni rad usredotočio primarno na medonosnu pčelu (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) jer je ona najviše istražena zbog svoje komercijalne važnosti. Iako velika većina pčelinjih vrsta spada u solitarne pčele, medonosne pčele su društvene vrste pčela što znači da stvaraju kolonije u kojima žive u košnicama (Voulgari-Kokota i sur., 2019). Košnice su njihova višegodišnja skloništa građena od voska kojeg radilice simetrično slažu kako bi izgradile stanice saća. Vosak je produkt voštanih žlijezda koje se nalaze na zadku (Slika 1).

Na čelu kolonije nalazi se kraljica čija je jedina uloga polaganje jaja. Prilikom prvog polaganja jaja, kraljica odlazi po hranu i othranjuje ličinke, a kada se prvi potomci pojave, radilice kreću u potragu za hranom i hrane cijelu zajednicu. Kraljica se i morfološki razlikuje od ostalih pčela u jer ima šiljate zube u vilici, gladak žalac i produljen zadak. Životni vijek kraljice je tri godine.

Većinu pčela u košnici čine radilice. Sve radilice su ženke, no manje su od kraljice i nisu sposobne za reprodukciju. Uloga radilice ovisi o njenom životnom stadiju. Već sa tri dana starosti radilice uklanjaju nečistoće iz košnice uključujući i pčele koje su umrle ili nerazvijene ličinke, s četiri dana starosti mogu hraniti ličinke medom i peludi, a nakon sedmog dana starosti mogu se brinuti o kraljici, hraniti ju i čistiti. Ove radilice imaju i važnu zadaću širenja kraljičinog mandibularnog feromona po košnici što je signal ostalim pčelama da košnica i dalje ima živu kraljicu. U kasnijem životnom stadiju (nakon 12. dana) sakupljaju nektar i pelud koje onda u obliku meda spremaju u voštano saće kako se ne bi pokvarili. U ovom periodu sposobne su i sudjelovati u gradnji košnice. Također im je važna uloga i hlađenje košnice te donošenje vode. Košnicu hlade svojim krilima uzrokujući isparavanje vode. Nakon 18. dana radilice mogu biti zaštitari košnice na njenome ulazu i konačno, najstarije radilice sakupljaju hranu za ostale članove zajednice (www.perfectbee.com). Glavni izvor hrane pčelama predstavljaju nektar i pelud. One nektar prerađuju u med koji je glavni izvor ugljikohidrata za pčele u zajednici, a pelud prerađuju u pčelinji kruh (perga) koji je glavni izvor esencijalnih aminokiselina, lipida,

vitamina i minerala na način koji je i dalje nepoznat, no vjeruje se da uključuje fermentaciju pomoću anaerobnih mikroorganizama mikrobioma. Cilj je dobiti kvalitetan izvor hrane za ostale stanovnike košnice (Lee i sur., 2015). Detaljnije o ulogama pojedinih bakterija u mikrobiomu biti će govora u potpoglavlju 4.2. Uloga u metabolizmu.

Košnicu nastanjuju i trutovi koji se razvijaju iz neoplođenih jaja koja položi kraljica. Isključivo su mužjaci. Slične su mase kao kraljica, dakle veći od radilica. Od kraljice se morfološki razlikuju prema obliku trbuha, veličini krila, zaobljenosti glave i veličini očiju. Njihova je jedina uloga oploditi kraljicu nakon čega ugibaju (www.perfectbee.com). Životni ciklus pčele odvija se u četiri stadija – jaje, ličinka, kukuljica i odrasla jedinka (Weiss K., 1997).

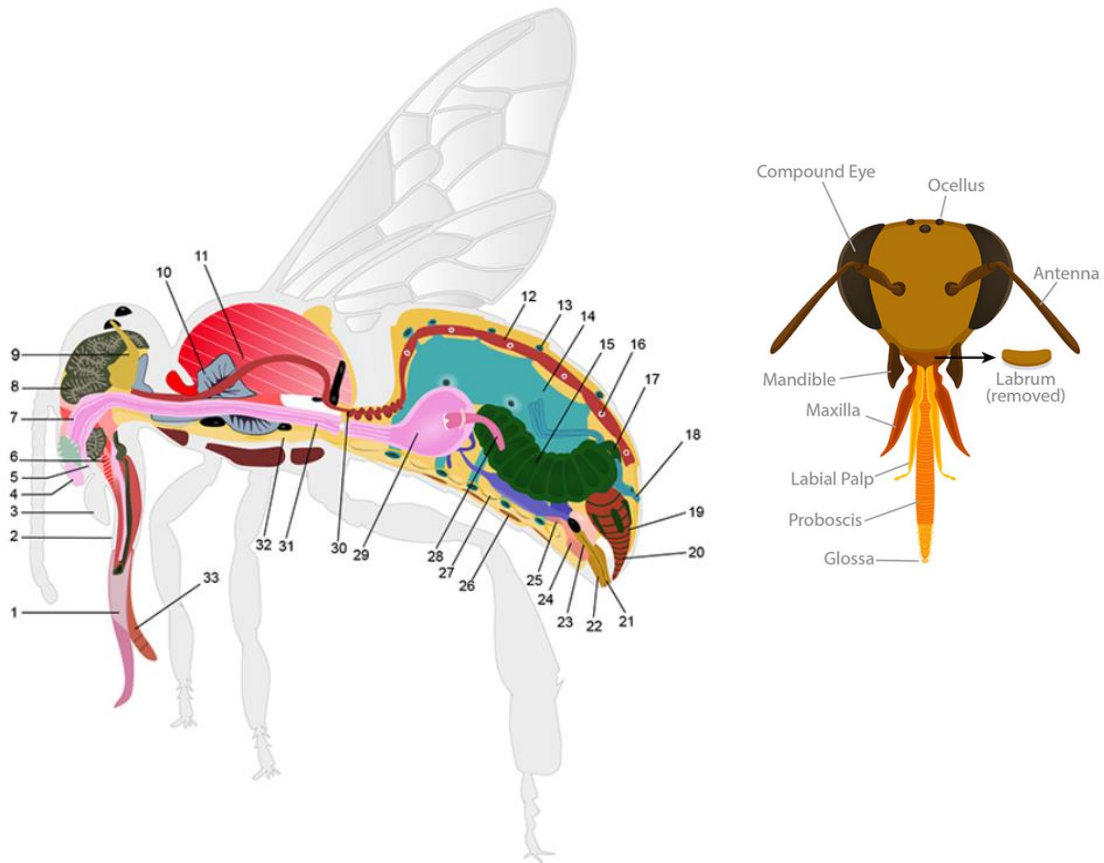
1.2 KRATAK OSVRT NA ANATOMIJU PČELA

Pčele (kao i sve kukce) karakterizira podijeljenost tijela na glavu, prsa i zadak. Na glavi se nalaze tri jednostavna oka (oceli) koja služe za razaznavanje svjetla i dva složena oka koja služe za razaznavanje oblika, ticala koja su ključna za dodir, okus i miris te se koriste za komunikaciju unutar kolonije i usni organi prilagođeni za srkanje i griženje koji uz dugi jezik (proboscis) omogućavaju pčelama srkanje nektara po principu slamke. Za razliku od osa, pčele su isključivo biljojedi i njihova je hrana uglavnom tekuća (nektar ili med). Na glavi se nalazi i hipofaringealna žlijezda koja služi za proizvodnju tvari potrebnih za stvaranje matične mliječi.

Na prsima se nalaze tri para nogu i dva para krila. Prva dva para nogu imaju češljaste strukture koje služe za čišćenje peludi sa tijela i ticala, a na posljednjem paru nogu kod radilica nalaze se peludne košarice koje služe za sakupljanje peludi. Unutar prsa nalaze se žlijezde i mišići za letenje. Žlijezde imaju mnoge funkcije pa tako slinske žlijezde služe za stvaranje tvari potrebnih za razgradnju šećera, ali i tvari potrebnih za čišćenje tijela.

Zadak je jako fleksibilan dio tijela i na njemu se ne nalaze nikakvi privjesci osim bodlji i ovipozitora. U zadku su smješteni unutarnji organi poput reproduktivnih organa te probavnog i dišnog sustava, voštane žlijezde i žalac. Voštane žlijezde služe za proizvodnju voska od kojega je građena košnica. Probavilo je podijeljeno na tri dijela. Prednji dio probavila je proširen i diferenciran u medni želudac u kojemu pčela prenosi nektar od cvijeta do košnice. Sadrži antibakterijske enzime koji daju zdravstvene prednosti medu. Na kraju mednog želuca nalazi se suženje (proventrikulus) koji kontrolira prolazak nektara i krutih tvari probavnim sustavom čime se omogućava skladištenje nektara bez njegove probave. Srednji dio služi za obradu hrane,

a zadnji dio probavila služi za izlučivanje. Disanje se odvija pomoću otvora Malpighijevih cjevčica na zadku koje propuštaju kisik u trahealne elemente. Žalac je građen od tri dijela i spojen je na vrećicu s otrovom, a imaju ga samo radilice i kraljica. U vrećici s otrovom nalazi se otrov proizveden u otrovnoj žlijezdi. Radilice imaju nazubljen žalac kojega mogu iskoristiti samo jednom nakon čega uginu dok kraljica ima gladak žalac koji mogu koristiti više puta. Vaskularni je sustav otvoren, što znači da krv i intersticijska tekućina nisu odvojeni već se miješaju dajući hemolimfu koja se slobodno izljujeva u tjelesne šupljine. Sastoji se od srca koje se nalazi u zadku i koje pumpa hemolimfu kroz aortu dalje u ostale organe. Zanimljivo je da kod kukaca hemolimfa ne sadrži eritrocite i zbog toga ne prenosi kisik. Imaju ljestvičav živčani sustav koji se sastoji od mozga u glavi i para živčanih vlakana povezanih ganglijima (Weiss K., 1997). Sastav unutarnjih organa pčele medarice prikazan je na Slici 1.



Slika 1. Anatomija pčele. 1 – proboscis, 2 – maksile, 3 – mandibula, 4 – labrum, 5 – probavna cijev, 6 – ždrijelo, 7, 31 – jednjak, 8 – hipofaringealna žlijezda, 9 – mozak, 10 – slinska žlijezda, 11 – letni mišići, 12 – srce, 13 – otvori traheja, 14 – zračna vrećica, 15 – srednje crijevo, 16 – srčani otvori koji primaju i ispumpavaju hemolimfu, 17 – ileum, 18 – Malpighijeve cjevčice, 19 – rektum, 20 – anus, 21 – žalac, 22 - omotač žalca, 23 – kanal žalca, 24 – vrećica s otrovom, 25 – otrovna žlijezda, 26 – voštane žlijezde, 27, 32 – ventralni živčani sustav, 28 – proventrikulus, 29 – medni želudac, 30 – aorta, 33 - labium. Preuzeto sa: Arizona State University (<https://askabiologist.asu.edu/honey-bee-anatomy>), pristupljeno 15.05.2022.

1.3 ZAŠTO PROUČAVATI PČELE I NJIHOV MIKROBIOM?

Ovo pitanje ima više odgovora, no jedan od glavnih je taj da je posljednjih godina zabilježen intenzivan pad u brojnosti pčela u cijelome svijetu. Uzroci ovog opadajućeg trenda su brojni i uglavnom uzrokovani ljudskim aktivnostima. To je važno jer su pčele jedni od ključnih oprašivača u raznim ekosustavima i agrikulturi. Dovoljno govori činjenica da skoro trećina proizvoda korištenih u prehrambenoj industriji ovisi o oprašivanju koje obavljaju upravo pčele pa ne čudi da njihovim pomorom dolazi i do gubitka velike količine novca. Osim toga, izvor su proizvoda koji se koriste i za ljudsko zdravlje i koji imaju komercijalnu vrijednost poput meda, propolisa, peludi, voska, pčelinjeg otrova itd. (Ullah i sur., 2021). Zbog toga je ljudima važno otkriti što uzrokuje pomor pčela i načine na koje se možemo protiv toga boriti.

Otkriveno je da korištenje raznih pesticida, herbicida i fungicida u agrokulturi rezultira smanjenjem vijabilnosti pčela utječući na njihov mikrobiom. Primjeri štetnih fungicida su propamokarb, propikonazol, azoksistrobin i klorotalonil, herbicida glifosat, a insekticida neonikotinoid. Načini njihova djelovanja su različiti, primjerice fungicidi mogu uzrokovati pomor simbiotskih gljivica u mikrobiomu, glifosat izravno utječe na metabolizam mikrobioma, a neonikotinoid na imunitet domaćina što se negativno odražava na simbiotske mikroorganizme i rezultira disbiozom.

Osim ovih kemikalija, za pomor je odgovorno i držanje košnica u blizini polja na kojima se nalaze monokulture jer se time pčelama ograničava raznolikost nutrijenata koje mogu dobiti iz cvijeća u prirodi. Zbog toga pčelari pokušavaju nadoknaditi te nutrijente raznim jeftinim otopinama baziranim na saharozu ili hranjivima baziranim na peludi. Ove su namirnice jako prerađene i imaju negativan utjecaj na osnovne rodove mikrobiote, pogotovo *Snodgrassella alvi* i *Lactobacillus* spp, a pozitivno utječu na razvoj oportunističkih patogena.

Dokazano je i da je dodatak proteinskih suplemenata pčelama jako važan jer proteini potiču nastanak antimikrobnih peptida poboljšavajući sposobnost pčele da se obrani od patogena. Problem je u tome što ovi proteinski suplementi često sadrže biljne spojeve poput pektina koji su toksični za neke od osnovnih pripadnika mikrobioma. Pektin potiče proliferaciju oportunističkih patogena poput bakterije *Gilliamella apicola* koja ga može razgraditi.

Osim toga, u apikulturi se koristi širok raspon antibiotika koji također direktno moduliraju mikrobiom. Ovo je samo mali primjer stresora koje pčelama nameću ljudi, a koji mogu rezultirati disbiozom njihova mikrobioma. Upravo su to razlozi za proučavanje i istraživanje

mikrobioma pčela – razumijevanje ljudskog utjecaja i uvođenje promjena kako bi se negativan trend pomora pčela pokušao smanjiti ili čak obrnuti (Daisley i sur., 2020).

2. UVOD U MIKROBIOM PČELA

2.1 MIKROBIOM

Mikrobiom je raznolika zajednica mikroorganizama koji žive zajedno sa nekim organizmom u (uglavnom) komenzalnom odnosu. Mikrobiom pčela sastoji se od raznih virusa, gljiva, protista, arheja i bakterija od kojih je veći dio za pčele patogen (Engel i sur., 2016). Bakterije su zastupljene u puno većem broju nego arheje i mikrobni eukarioti, no od njih su ipak brojniji virusi (Ullah i sur., 2021). Bez obzira na to, svaki pripadnik mikrobioma ima važnu ulogu, primjerice za kvasce se smatra da imaju značajnu ulogu u procesu stvaranja pčelinjeg kruha (Lee i sur., 2015). Nepatogeni mikroorganizmi često sudjeluju u probavljanju makromolekula, neutralizaciji toksina, obrani od parazita, modulaciji imunosnog odgovora i sintezi nekih spojeva koji su potrebni u prehrani o čemu će biti govora u nastavku. I dalje nije u potpunosti razrađen mehanizam pomoću kojega mikrobiom modulira imunosni odgovor, ali jasno je da ima i važnu ulogu u zaštiti domaćina. Stoga ne čudi da su zbog pada u broju populacija medonosnih pčela i bumbara pokrenute brojne studije njihovog mikrobioma kako bi se pokušala ustanoviti poveznica i rješenje nastalog problema.

Najveći dio mikrobne biomase se kod pčela medarica nalazi u ileumu i rektumu gdje dolazi do nakupljanja prehrambenih tvari koje domaćin ne može razgraditi. Mikrobiom pčele medarice (*A. mellifera*) sastoji od pet osnovnih bakterijskih sojeva (eng. „core phylotypes“) koji su uvijek prisutni kod radilica i drugih srodnih pčela. Oni uključuju rodove *Snodgrassella*, *Gilliamella*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* Firm-4 i *Lactobacillus* Firm-5 (Kwong i sur. 2017). Osim ovih osnovnih bakterijskih sojeva, prisutni su i drugi sojevi no oni se ne moraju nalaziti kod svih pčela, često variraju i imaju razne utjecaje na same domaćine. Razlika u sastavu mikrobioma može biti posljedica doba godine, prehrane, starosti domaćina, kaste i lokacije. Unatoč mogućim fluktuacijama, sastav mikrobioma unutar vrste na istom geografskom području relativno je stabilan. To nije začuđujuće jer je prehrana pčela visoko-specijalizirana i ograničena na pelud i nektar koje mogu pronaći u okolišu u kojem se nalaze. Zato je raznolikost mikrobioma među vrstama veća. Genomska su istraživanja pokazala da većina bakterija u

mikrobiomu pčele ima malene genome koji više ne mogu obavljati osnovne metaboličke funkcije ali kodiraju za putove stvaranja biofilma i međustaničnih interakcija, ali i za nepotpun put limunske kiseline zbog čega se može zaključiti da je fermentacija glavni metabolizam koji se odvija u pčelinjem probavilu. Takve su alternacije u genomu prilagodba ovih mikroba na pčelinju prehranu koja se sastoji uglavnom od ugljikohidrata (Bonilla i Engel, 2018).

2.2 UTJECAJ PREHRANE

Općenito na razvoj mikrobioma utječu mnogi faktori poput prehrane, okolišnih stresora i patogena. Prehrana ima snažan utjecaj na razvoj mikrobioma i viroma jer se hranom direktno unose bakterije i virusne čestice čiji je najveći rezervoar probavni sustav jedinke. Mnogi sastojci nektara i peludi zasigurno imaju dobre utjecaje na imunosni sustav pčele zbog raznih esencijalnih sastojaka koji se u njima nalaze poput ugljikohidrata, vitamina, minerala, proteina, lipida i ostalih fitonutrijenata. Pelud skupljena iz različitih biljaka raznolikija je esencijalnim tvarima i ima pozitivan utjecaj na razvoj imunosnog sustava, a proteini, vitamini i minerali imaju utjecaj na duljinu životnog vijeka pčele. Iz tog su razloga nektar i pelud esencijalni za razvoj ličinki, a dokazano je da lošije othranjene ličinke u odraslom životu teže pronalaze hranu što se negativno odražava i na samu jedinku ali i na čitavu zajednicu. (Ullah i sur., 2021).

3. RAZVOJ MIKROBIOMA PČELA

3.1 RAZVOJ MIKROBIOMA DRUŠTVENIH PČELA

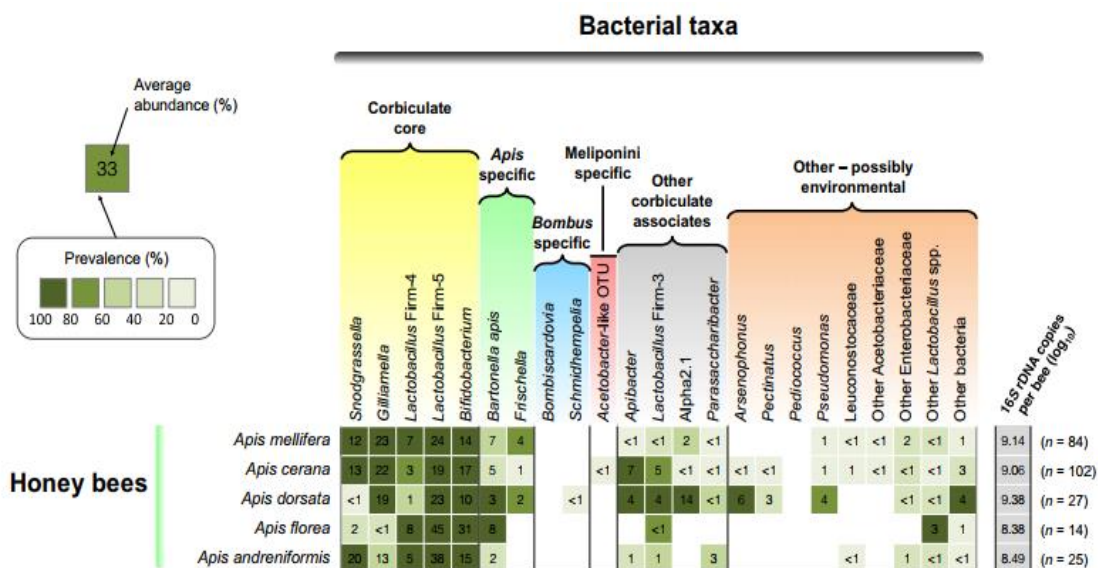
Na razvoj mikrobioma utječu mnogi fiziološki i ekološki procesi koji rezultiraju specijaliziranim mikrobnim zajednicama koje su taksonomski i funkcionalno raznolike i prilagođene domaćinima. Promatrajući vrstu *Apis mellifera*, utvrđeno je kako radilice dijele hranu svim kastama prisutnim u košnici metodom trofolaksije koja podrazumijeva prijenos hrane „usta na usta“. Naime radilice procesiraju kompleksno građeno zrno peludi enzimima proizvedenim u žlijezdama pri čemu im pomaže i sam mikrobiom osiguravajući nizak pH. Takvom se procesiranom peludi onda ličinke i kraljica mogu hraniti jer inicijalna razgradnja peludi osigurava hranjiv i proteinima bogat obrok (Voulgari-Kokota i sur., 2018). Zbog toga se za kolonije ovih pčela kaže da imaju „društveni želudac“ te je jasno da se osim hrane prenosi i mikrobiom (Tarpay i sur. 2015). Osim trofolaksijom, mikrobiom se kod društvenih pčela

prenosi i dodiranjem materijala iz košnice i fekalno-oralnom vezom (Voulgari-Kokota i sur., 2019). Tako se mikrobiom prenosio i prilikom njegova formiranja tijekom evolucije.

Kao najpoznatiji predstavnici društvenih pčela ističu se medonosne pčele, bumbari i pčele bez žalca koji su među najznačajnijim oprašivačima na svijetu. Sličnost njihovih mikrobioma upućuje na to da su visokospecijalizirane bakterije mikrobioma oprašivača konzervirane. To je pet osnovnih bakterijskih sojeva koji obuhvaćaju rodove *Snodgrassella*, *Gilliamella*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* Firm-4 i *Lactobacillus* Firm-5 u raznim omjerima ovisno o vrsti, iako u određenim vrstama neki od ovih osnovnih filotipova bakterija ne moraju biti prisutni. *Gilliamella*, *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* su rodovi koji su metabolički optimizirani za svoje domaćine jer im svojom aktivnošću omogućavaju razgradnju i fermentaciju šećera iz peludi, meda i nektara. Osim ovih osnovnih rodova bakterija, u mikrobiomu se naravno nalaze i druge bakterije koje pčele najčešće „pokupe“ prilikom traženja hrane u okolišu.

Veće pčele su očekivano domaćini većim mikrobnim zajednicama, ali sam sastav mikroorganizama ne ovisi o veličini pčele već o veličini zajednice u kojoj žive. Veličina zajednice ima utjecaj na sastav mikrobioma jer će u većim zajednicama biti više pčela koje će oprašivanjem sakupiti velik raspon mikroorganizama u odnosu na manje zajednice u kojima se nalazi manje pčela, a društveno ponašanje osigurava prijenos ovih mikroba među jedinkama u istoj zajednici (Kwong i sur., 2017). Osim tih simbiotskih mikroorganizama čija je aktivnost pozitivna za domaćina, društveno ponašanje pčela osigurava i prijenos patogenih mikroorganizama (Engel i sur., 2016). Medonosne pčele, bumbari i pčele bez žalca se dodatno međusobno razlikuju prema drugim rodovima bakterija u mikrobiomu. Činjenica da nijedna bakterijska vrsta nije prisutna u svim vrstama pčela u jednakom omjeru dobar je indikator da je glavni mehanizam prilikom razvoja mikrobioma bio „sakupljanje“ mikrobnih loza iz okoliša tijekom evolucije i njihovo prenošenje na potomstvo, a ne ponovno proizvoljno „sastavljanje“ u svakoj novoj jedinki.

Pokazano je i da sastav mikrobioma nije nužno određen geografskim položajem već rodovima domaćina. Dakle, sve medonosne pčele dijele uglavnom jednak sastav mikroorganizama uz manje promjene u omjerima bez obzira na njihov geografski smještaj pa će zapadnjačka vrsta *Apis mellifera* imati skoro jednake bakterije u svom mikrobiomu kao istočnjačka vrsta *Apis cerana* Fabricius 1793 (Slika 2.), a sastav mikrobioma uzorkovan iz *A. cerana* iz pet različitih zemalja također ne pokazuje velika međusobna odstupanja. Korištenjem ovih znanja o mikrobiomu pojedinih vrsta pčela moguće je svrstati ih u filogenetske odnose i odrediti koje su vrste srodne te kako su evoluirale (Kwong i sur. 2017).



Slika 2. Prikaz raznolikosti pčelinjeg mikrobioma na primjeru medonosnih pčela. n označava broj individualnih pčela kojima je uzorkovan mikrobiom. Prikazan je dio slike preuzete iz rada Kwong i sur. 2017.

3.2 RAZVOJ MIKROBIOMA SOLITARNIH PČELA

Iako su društvene vrste pčela poznatije u široj javnosti (poput bumbara i pčele medarice), činjenica je da više od 90% vrsta pčela spada u solitarne pčele. One imaju raznolikiji sastav mikrobioma od društvenih pčela jer su izloženi okolišu i ne brinu za potomstvo na način na koji to rade društvene pčele. Stoga je model određen za evoluciju mikrobioma društvenih pčela neprikladan za opisivanje razvoja njihova mikrobioma.

Zajednice solitarnih pčela posjeduju veoma širok raspon bakterijskih porodica jer ih one generalno stječu u okolišu - neke od porodica su *Acetobacteraceae*, *Bacillaceae*, *Lactobacillaceae*, *Methylobacteriaceae* i *Sphingomonadaceae* (Voulgari-Kokota i sur., 2019). Smatra se da neke vrste solitarnih pčela inokuliraju položena jaja bakterijama, no većina vrsta

3.3 UTJECAJI NA RAZNOLIKOST PČELINJEG MIKROBIOMA

Iako društvene pčele imaju karakteristične zajednice mikroorganizama, sastav tih zajednica varira ovisno o vrsti ili čak pojedinim pčelama unutar vrste. Ulogu u raznolikosti mikrobne zajednice može imati i prehrana kao i veličina zajednice u kojoj domaćin obitava jer u takvim zajednicama dolazi do izmjene mikrobiote među jedinkama. Stoga pčele u većim zajednicama imaju veću raznolikost mikrobioma. Upravo je izmjena mikrobioma među jedinkama (trofolaksija) glavni način oblikovanja mikrobioma društvenih pčela i dokazano je da društveno ponašanje domaćina u zajednici olakšava prijenos mikrobnih zajednica sa jedne jedinke na drugu kao i njihovo održavanje (Kwong i sur. 2017).

Kao model za proučavanje razvoja mikrobioma solitarnih i društvenih pčela zgodno je koristiti populacije pčela koje grade i solitarne i društvene zajednice. Takve fakultativno društvene populacije su primjerice vrste *Megalopta genalis* Meade-Waldo, 1916 i *Megalopta centralis* Friese, 1926. McFrederick i sur. (2014) su istraživanjima na ovim pčelama dokazali su da ne postoji razlika u sastavu mikrobioma između društvenih i solitarnih pčela iste vrste, no kao što je već i otprije ustanovljeno postoji razlika među različitim vrstama. To je tako jer se i društve i solitarne pčele hrane sa istih cvijetova na istom području zbog čega su izloženi istim okolišnim uvjetima. U ovom je istraživanju dokazana i važnost životnog stadija na sastav mikrobioma koja je otprije istražena na bumbarima i pčelama medaricama – naime, ličinke i mlade radilice nakon pražnjenja crijeva nemaju karakterističan sastav mikrobioma, no steknu ga trofolaksijom ili sakupljanjem peludi. Treba naglasiti da u tom periodu one nisu u potpunosti lišene simbiotskih mikroorganizama već ih je teško detektirati (McFrederick i sur., 2014).

4. VAŽNOST MIKROBIOMA

4.1 DISBIOZA

Pčele medarice, kao i ostale vrste pčela snažno se oslanjaju na svoje mikrobne simbiote za obranu od patogena, parazita, ali i pesticida i toksina te za sintezu hranjivih tvari koju ne mogu jednostavno uzeti hranom iz okoliša ili razgraditi (Bonilla i Engel, 2018). Osim što smanjuje mogućnost prijanjanja patogena na epitelne stanice domaćina, mikrobiom sudjeluje i u rastu i razvoju pčela. Simbiotski mikroorganizmi moduliraju imunost sustava domaćina na način da stimuliraju proizvodnju antimikrobnih tvari koje ne utječu na njih same nego na neke oportunističke patogene bakterije poput *Gammaproteobacteria*. To je jedan od razloga zašto se osnovni mikrobiom sastoji od samo nekoliko vrsta bakterija. Starenjem dolazi do svojevrsnog kržljanja imunost sustava, a samim time i smanjenja sposobnosti regulacije sastava mikrobioma zbog čega jedinka postaje podložnija takvim oportunističkim patogenima zbog disbioze. Točan utjecaj disbioze na jedinku ovisi o jačini disbioze. Osim toga pripadnici osnovnih simbiotskih bakterijskih sojeva često su na meti raznih agrokemikalija (herbicidi, fungicidi, antibiotici) kojima su pčele izložene u prirodi, ali i zaraznim bolestima i parazitima poput virusa što rezultira njihovim nestankom. Gubitkom ovih simbiotskih bakterija pčele postaju podložnije nepovoljnim uvjetima u okolišu (Daisley i sur., 2020).

4.2 ULOGE U METABOLIZMU

Pčele medarice sve potrebne nutrijente dobivaju iz peludi i nektara na čiju razgradnju velik utjecaj imaju komenzalni mikroorganizmi u crijevima. Nektar je uglavnom građen od saharoze te glukoze i fruktoze, ali i od drugih monosaharida i disaharida. Pčela ne može koristiti svaki od njih na jednak način, a neki (poput manoze) mogu biti i toksični. Mikrobiom može olakšati metabolizam tih štetnih šećera. Također, pelud ima jako debelu teško razgradivu stijenku građenu od sporopolenina, hemiceluloze i lignina. Radilice ovu teško probavljivu namirnicu prerađuju kako bi drugim članovima zajednice olakšali njenu konzumaciju, a u tome joj pomažu pripadnici mikrobioma. Takva prerađena pelud naziva se pčelinji kruh koji nastaje uglavnom

miješanjem peludi sa sadržajem prednjeg crijeva pčele u kojem se naravno nalazi i sam mikrobiom karakterističan za taj dio probavila (Lee i sur. 2015).

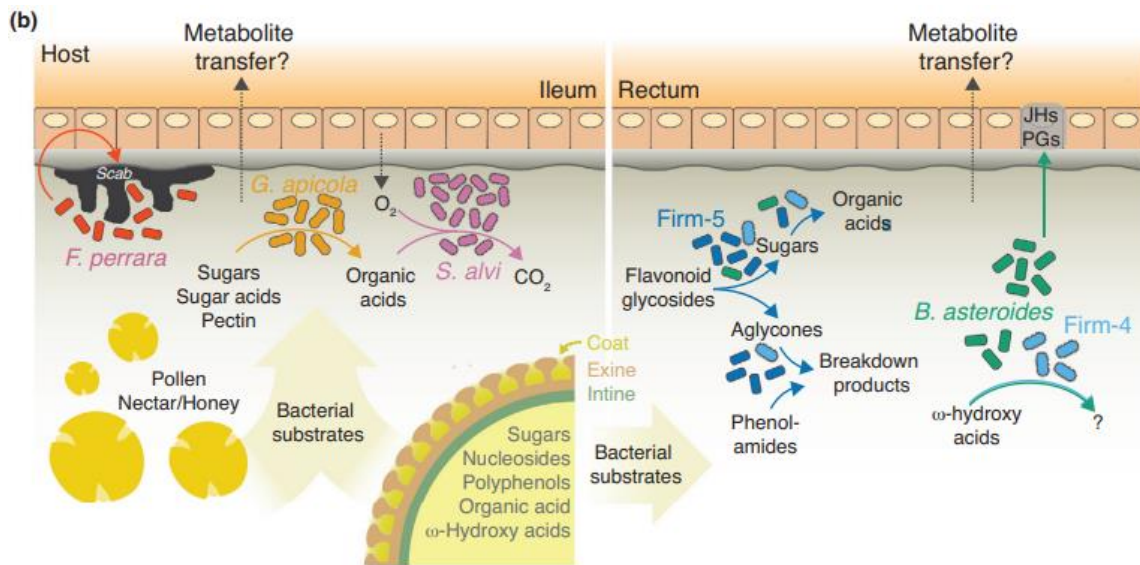
Primjerice komenzal *Gilliamella apicola* u ileumu može razgraditi pektin koji je glavna komponenta unutarnje stijenke peludnog zrna. Produkti razgradnje polisaharida, ali i glukoze i fruktoze koje su prisutne u peludi su organske kiseline (acetat, piruvat, sukcinat), što je također dokaz da je glavni način razgradnje fermentacija. Organske kiseline zatim *Snodgrassella alvi* može koristiti uz kisik smanjujući tako parcijalni tlak kisika u ileumu.

Lactobacillus Firm-4 i Firm-5 koriste razne aromatske spojeve iz vanjske stijenke peludnog zrna poput flavonoida i fenolamida, kao i ω -hidroksi kiseline iz egzine. Flavonoidi se obrađuju na način da se deglikoziliraju i nastali šećeri se fermentiraju. Lee i sur. (2015) su također otkrili da *Lactobacilli* proizvode 2,3 – butandiol koji služi kao rezerva ugljika i antifriz, ali i za sprečavanje unutarstanične acidoze.

Bifidobacterium asteroides potiču stvaranje hormona i signalnih molekula. Na kraju se svi ti produkti nakupljaju u stražnjem crijevu, od kojih se neki reapsorbiraju a drugi ekskrecijom izbace. Shematski prikaz funkcionalnih metaboličkih uloga mikrobioma prikazan je na Slici 4. Samo je za neke vrste određeno na koji način moduliraju crijevni okoliš. Kao što je već spomenuto, *G. apicola* fermentacijom stvara organske kiseline koje onda mikroaerofilna bakterija *S. alvi* koristi uz kisik alternativnim ciklusom limunske kiseline kako bi održala anoksične uvjete u ileumu. Ove dvije bakterije stvaraju biofilme na epitelu crijeva domaćina.

Frischella perrara je gamaproteobakterija koja se nalazi na pilorusu i sudjeluje u lokalnom odlaganju melanina čime se potiče imunosni odgovor domaćina. To se zove fenotip kraste (eng. *scab phenotype*). Na žalost, točan mehanizam i dalje nije razjašnjen, no njegova je važnost u tome što potvrđuje da je mikrobiom u direktnoj vezi sa domaćinom i ima utjecaj na sam imunosni sustav.

Uglavnom se metatranskriptom mikrobioma može podijeliti u sedam funkcionalnih kategorija: metabolizam proteina (17%), ugljikohidrata (13%), RNA (8%), disanje (7%), prijenos preko membrane (6%), odgovor na stres (6%) i virulencija (5%) uz ostale koji su prisutni u niskim frekvencijama. Većina šećera koji se prenesu u citoplazmu skrenu se u glikolizu ili put pentoza fosfata koji zbog proizvodnje važnih metaboličkih intermedijera i recikliranja reducirajućih agensa imaju važnu ulogu u fermentaciji (Lee i sur. 2015).



Slika 4. Funkcionalna metabolička uloga mikrobioma pčela. Sve sastavnice u crijeva dolaze hranjenjem medom, nektarom i peludi. *Lactobacillus* spp. i *Bifidobacterium asteroides* većinom se nalaze u rektumu, *Gilliamella apicola* po cijelom probavnom traktu, no najviše u ileumu, kao i *Snodgrassella alvi*. *Frischella perrara* nalazi se u ileumu (pogotovo na pilorusu). Prikazan je dio slike iz rada Bonilla i Engel, 2018.

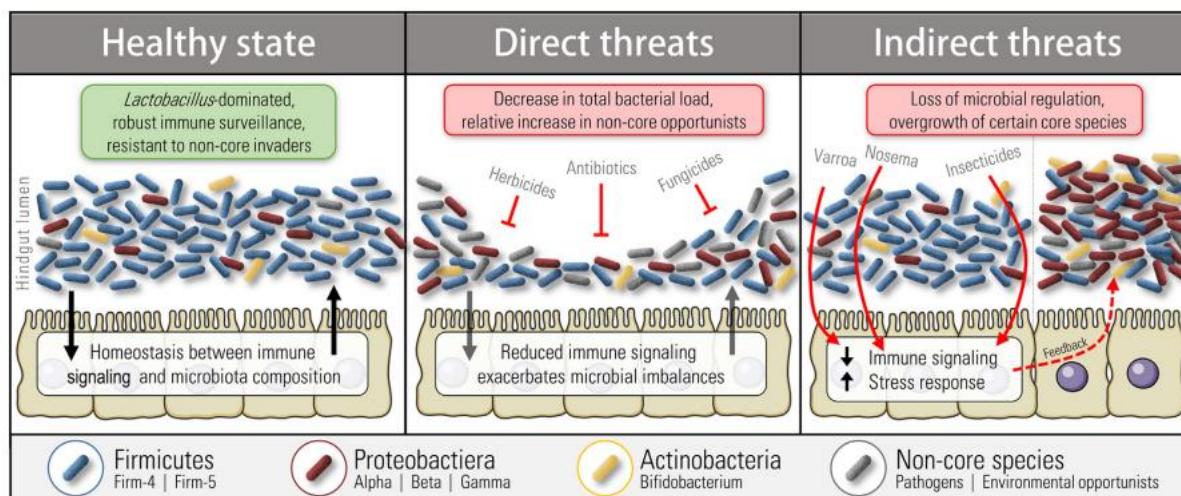
4.3 UTJECAJ PESTICIDA

Djelovanjem fungicida (poput propamokarba, propikonazola, azoksistrobina ili klorotalonila) može doći do povećanja udjela oportunističkih patogena *Gammaproteobacteria* te smanjenja udjela simbiotskih *Alfaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Actinobacteria* i *Lactobacillus* spp. (Slika 5.). Gubitak potonjih između ostalog rezultira smanjenjem udjela bakterija koje proizvode antimikotike pa stoga postoji veći rizik za domaćina od zaraze nekom patogenom gljivicom. Jasno je i da fungicidi izravno negativno djeluju na gljivice koje su sastavni dio mikrobioma, a usto povećanjem udjela *Gammaproteobacteria* otpornih na fungicide dugoročno dolazi do širenja rezistencije na fungicide te raste broj pčela podložnih gljivičnim infekcijama i slabljenja mikrobnih zajednica.

Analogno, izlaganjem pčela herbicidima (poput glifosata) dolazi do inhibicije 5-enolpiruvilshikimat-3- fosfat sintaze u osnovnim rodovima bakterija. Prilikom infekcije patogenim bakterijama roda *Serratia* primjećeno je da pčele pod utjecajem ovog herbicida imaju smanjenu vijabilnost. Inhibicija 5-enolpiruvilshikimat-3- fosfat sintaze uzrok je smanjenja udjela rodova *Firmicutes*, *Actinobacteria* i *Betaproteobacteria*, dok se udio oportunističkih patogena roda *Gammaproteobacteria* povećava. Izlaganjem ovom herbicidu tijekom razvoja također dolazi do smanjenja hipofaringealne žlijezde koja kod radilica sudjeluje u stvaranju matične mliječi koja je neophodna za društveni imunitet i za regulaciju mikroba u košnici.

Neki insekticidi (poput neonikotinoida) kod društvenih i solitarnih kukaca rezultiraju supresijom imunskog odgovora ako se primjene u ranim fazama razvoja čime dolazi do disregulacije mikrobioma i povećane podložnosti oportunističkim patogenima. Čini se da to nije slučaj prilikom izlaganja kukaca tom insekticidu u kasnijim fazama razvoja zbog nedostatka antimikrobnih svojstava, no to još nije u potpunosti dokazano kod pčele medarice (Daisley i sur., 2020).

Sastojci nekih pesticida mogu uništiti sposobnost olfaktornog učenja kod pčela i dodatno potaknuti diobu virusa prilikom virusne infekcije (Ullah i sur., 2021). I dalje nije u potpunosti poznato je li disbioza mikroorganizama uzrokovana njihovim direktnim pomorom zbog pesticida ili zbog disregulacije imunskog odgovora domaćina, no razlog se vjerojatno nalazi negdje u sredini te oba faktora zasigurno imaju značajan utjecaj (Daisley i sur., 2020).



Slika 5. Okolišni utjecaji na mikrobiom pčela. U homeostazi dolazi do snažne kontrole imunskog odgovora i smanjena je mogućnost invazije patogenim mikroorganizmima. Pod utjecajem raznih pesticida dolazi do direktnog utjecaja na mikrobiom što rezultira disbiozom i otvara mogućnost nastanjivanja patogenih mikroorganizama. Pod utjecajem parazita i insekticida dolazi do direktnog utjecaja na mikrobiom, ali i do utjecaja na imunski sustav domaćina zbog čega se smanjuje sposobnost domaćina da regulira sastav mikrobioma i otvara se mogućnost invazije patogenih mikroorganizama. Slika je preuzeta iz Daisley i sur., 2020.

4.4 UROĐENI IMUNOSNI SUSTAV

Mikrobiom može utjecati na zdravlje domaćina direktnom modulacijom imunskih odgovora. Imunosni sustav pčele medarice jako je važan u stvaranju simbiotskih odnosa sa mikrobiomom. Jedan od primjera utjecaja pripadnika mikrobioma na imunski sustav domaćina je utjecaj bakterije *Snodgrassella alvi*. *S. alvi* je već spomenuta mikroaerofilna bakterija koja kolonizira većinom ileum u probavnom sustavu pčele medarice. Znamo da su jedinke koje imaju zdrav mikrobiom manje podložne bolestima. Ne zna se točan mehanizam na koji mikrobiom djeluje na imunski sustav domaćina, ali pretpostavlja se da je jedan od glavnih načina upravo mehanička barijera koju stvara biofilm, u prvom redu sastavljen od *S. alvi* (donji

sloj) i *G. apicola* (gornji sloj). Bilo kakva disbioza dovodi do povećane podložnosti domaćina raznim patogenima.

Ostali mehanizmi vjerojatno uključuju sniženje pH i udjela kisika, stvaranje kratkolančanih masnih kiselina, ali mogu uključivati i aktivaciju domaćinovog imunskog sustava. Mehanizam imunostimulacije uključuje pojačanu ekspresiju apidaecina. Apidaecin je antimikrobni peptid (AMP) koji proizvode pčele medarice i važan je u imunskom odgovoru za perforaciju membrane patogena. Osim apidaecina, postoje i drugi AMP-ovi poput abaecina, defenzina i himenoptecina. Svi oni se proizvode u probavnom sustavu pčela osim defenzina koji je uglavnom pronađen u žlijezdama glave i toraksa. Iako se proizvode u probavnom sustavu, AMP-ovi dopijevaju u hemolimfu gdje onda izazivaju sistemski imunski odgovor (Kwong i sur., 2017). Proučavanjem imunskog odgovora na zarazu patogenom bakterijom *Serratia marcescens* dokazano je da *S. alvi* stimulira pčelu na pojačanu proizvodnju apidaecina koji svojim djelovanjem olakšava imunskom sustavu obranu od patogena. Dapače, čak i toplinom ubijene *S. alvi* imaju imunostimulacijski učinak, i čak veću ekspresiju imunskih regulatornih gena jer ne mogu stvarati biofilmove pa lizirane bakterije dolaze izravno u doticaj sa epitelnim stanicama probavnog sustava, no ekspresija AMP-ova ostaje jednaka. Prisutnost *S. alvi* ne utječe na nastanak ostalih AMP-ova (Horak i sur., 2020). Pčele lišene mikrobioma u laboratorijskim uvjetima imaju smanjenu bazalnu ekspresiju AMP-ova što može negativno utjecati na sposobnost obrane od patogena.

U istraživanjima utjecaja antibiotika na daljnju zarazu oportunističkim patogenima otkriveno je da tretman pčela kombinacijom penicilina i streptomicina rezultira povećanom podložnošću zarazi gljivicom *Nosema ceranae* Fries i sur. 1996. zbog smanjenja udjela osnovnih rodova bakterija koje proizvode AMP-ove abaecin i defenzin (Daisley i sur., 2020).

4.5 PARAZITI

Paraziti (kao i neki patogeni) mogu olakšati vlastiti prijenos u druge jedinice manipulacijom ponašanja domaćina. Prijenos unutar jedne kolonije za patogene nije problematičan i često se jako brzo odvija, ali paraziti si moraju osigurati da se mogu prenijeti i na druge kolonije. To se najčešće dogodi tako da radilice ne uđu usvoju košnicu već u neku drugu i tako sa sobom donesu i parazite. Paraziti osiguravaju ovakav događaj remećenjem orijentacije domaćina zbog čega postoji veća šansa da će ta pčela pogriješiti košnicu. Također reguliraju cijelu koloniju

zaraženih pčela kako bi prihvaćale pčele iz drugih kolonija. Nakon zaraze, ove se pčele vraćaju u svoje matične kolonije i prenose zarazu. Tako primjerice između ostalog djeluje grinja *Varroa destructor* Anderson i Trueman, 2000. Postoje i razni drugi načini za interkolonijalni prijenos patogena pčele medarice. Primjerice kontakt sa zaraženom jedinkom ili inficiranim materijalom uoči krađe hrane iz košnice, kontakt sa zaraženom jedinkom iz druge kolonije prilikom traženja hrane, kontakt sa inficiranim materijalom iz okoliša (Forfert i sur., 2015).

Razni paraziti imaju različite utjecaje na pčeljinji mikrobiom. Osim već spomenutog utjecaja, prilikom zaraze gljivom *N. ceranae*, mijenja se omjer mikroba u mikrobiomu – povećava se udio *Giliamella apicola* i *Snodgrassella alvi*, a smanjuje se udio *Alfaproteobacteria* vjerojatno jer *N. ceranae* direktno utječe na probavu i imunosti sustav domaćina. Ovo posljedično rezultira pothranjenošću pčela i većom podložnosti patogenima, pogotvo virusnim (Ullah i sur., 2021).

Prilikom zaraze tripanosomom dolazi do imunostimulacije u stražnjem crijevu. Tada dolazi do ekspresije već spomenutih antimikrobnih peptida defenzin-1, abaecin i himenoptacein čime tripanosome sudjeluju u održanju zdravog mikrobioma kako domaćina ne bi napali drugi patogeni zbog kojih bi se mogla smanjiti njihova vijabilnost.

Grinja *Varroa destructor* može djelovati imunosupresivno na imunitet domaćina te se mikroorganizmi sa parazita mogu prenositi na domaćina olakšavajući horizontalan prijenos patogena. Dokazano je da se zarazom ovim parazitom smanjuje udio *Alfaproteobacteria* i *Lactobacillus* spp., dok se udio ostalih rodova u mikrobiomu povećava.

Dakle, raznim utjecajima na imunosnu regulaciju sastava mikrobioma paraziti si osiguravaju održanje mikrobioma pod njihovim kontroliranim uvjetima kako bi domaćin bio zaštićen od ostalih patogena čime sebi osiguravaju siguran opstanak (Daisley i sur., 2020).

4.6 VIROM PČELA

Virom je naziv za zajednicu virusa povezanih sa nekim organizmom. S obzirom na to da se u probavnom sustavu pčela nalazi velika količina bakterija, jasno je da su i one podložne infekciji brojnim virusima koji se nazivaju bakteriofagi. Važni su u oblikovanju mikrobnih zajednica probavila direktnim ubijanjem bakterija, izazivanjem imunosnih odgovora domaćina ili poticanjem prijenosa gena među bakterijama, ali točan mehanizam i dalje nije poznat. Metagenomskim istraživanjem bakteriofaga izoliranih iz pčela medarica zaključeno je da je

većinu faga pronađenih u pčelama nemoguće klasificirati među one koji su otprije poznati. Teško je istražiti baš svaku vrstu faga koji inficira bakterije mikrobioma zbog postojanja lizogenih faga koji se ugrađuju u sam genom bakterije i zbog toga se ne nalaze u uzorku izoliranih virusa, no utvrđeno je da većina faga (90%) ipak spada pod litičke fage i mogu se otkriti ovakvim istraživanjima. Od porodica koje su se mogle klasificirati, većina je pripadala u porodicu *Myoviridae*, *Podoviridae* i *Siphoviridae*. Pokazano je da sastav faga nije stalan kao što je bakterijski sastav i ovisi o vremenu uzorkovanja i o geografskom položaju uzorkovanja, ali ipak je bilo moguće odrediti koje virusne čestice generalno napadaju bakterije koje pripadaju osnovnim bakterijskim sojevima poput *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Gilliamella*. I dalje nisu poznati faktori koji upravljaju interakcijama između faga i bakterija, no vjerojatno je da fagi ulaze u interakciju sa domaćinima izmjenjujući njihov metabolizam pomoću gena koje nose u svojem genomu i koji se onda ugrađuju u same bakterijske domaćine (Kwong, 2020).

Što se tiče virusa koji su patogeni za same pčele, oni su manje istraženi od virusa drugih insekata ali utvrđeno je da ih čine uglavnom RNA (ss+) virusi uz poneke DNA viruse. Kod pčela je u novijim istraživanjima opisano približno 20 vrsta virusa uglavnom iz porodica *Dicistroviridae* i *Iflaviridae*. U porodicu *Dicistroviridae* spadaju *Acute bee paralysis virus* (ABPV), *Kashmir bee virus* (KBV), *Israeli acute paralysis virus* (IAPV) i *Black queen cell virus* (BQCV), a u porodicu *Iflaviridae* pripadaju *Deformed wing virus* (DWV), *Slow bee paralysis virus* (SBPV), *Varroa destructor virus* (VDV1) i *Lake Sinai viruses* (LSV).

Posljednjih je godina nekontrolirana razmjena i prodaja pčela medarica rezultirala širenjem zaraznih bolesti na nova geografska područja. Virusi moduliraju fiziologiju i morfologiju uzrokujući malformacije tijela, smanjuju reproduktivne sposobnosti, a mogu uzrokovati i promjene u ponašanju pčela koje zaraze. Primjeri su mnogobrojni, pa su ovdje spomenuti samo neki – primjerice CBPV je virus koji se agregira u centralnom živčanom sustavu kojega uništava oslabljujući senzornu percepciju zbog čega inficirane pčele ne mogu letjeti i nekontrolirano se tresu. BQCV i DWV u probavnom sustavu i jajnicima kraljice uzrokuju između ostalog i smanjenu reproduktivnu sposobnost. IAPV može se detektirati u svim razvojnim stadijima pčele u svim tkivima no najviše napada hipofaringealnu žlijezdu, centralni živčani sustav i probavni sustav i time negativno utječe na sve fiziološke procese zaražene pčele.

Dokazano je da su virusi glavni rizični faktor koji utječe na zdravlje pčela, pogotovo kada napadnu kraljicu jer je ona neophodna za lijeganje jaja i koordinaciju članova zajednice čije ponašanje modulira proizvodnjom feromona. Predstavljaju velik problem jer prilikom virusne infekcije pčele ne pokazuju karakteristične simptome zaraze, a ako pokažu neke simptome oni

se mogu protumačiti kao rezultat zaraze nekakvim parazitom ili bakterijom. Osim toga, može doći do zaraze u bilo kojem od razvojnih stadija jedinke zbog mogućnosti vertikalnog prijenosa virusa sa kraljice ili trutova na potomstvo. Osim vertikalnog, moguć je i horizontalan prijenos među jedinkama izravnim kontaktom, trofolaksijom ili čak prijenos preko posrednika (primjerice ako parazit poput *V. destructor* zarazi inficiranu jedinku i onda prijeđe na drugu jedinku i ta druga jedinka zarazit će se virusom). Moguć je i prijenos nekih virusa među različitim vrstama pčela, kao što je primjerice IAPV za kojega je primjećen prijenos sa *A. mellifera* na *A. cerrana*.

Jedna od najizraženijih posljedica zaraze virusima je poremećaj kolapsa kolonija (eng. *colony collapse disorder*, CCD). To je poremećaj čitave zajednice pčela u košnici kojega karakterizira potpun i brz nestanak svih odraslih pčela iz košnice čime preostane samo kraljica sa malim brojem mladih potomaka. Za glavne uzročnike ove bolesti smatraju se IAPV i KBV no dokazano je da oni nisu jedini i da je ova bolest rezultat međudjelovanja većeg broja virusa. Zanimljivo je da su se virusi ABPV i DWV pojavili u Ujedinjenom Kraljevstvu prije pojave *V. destructor*, ali tek nakon pojave ove grinje spomenuti virusi izazivaju CCD što ukazuje na to da su oba patogena potrebna te u sinergističkom odnosu pridonose razvoju ove bolesti. Ovi virusi uzrokuju drhtavicu i onemogućavaju kretanje pčela rezultirajući visokim mortalitetom. Međuovisnost ovog parazita i drugih virusa kasnije je dokazana i istraživanjima u drugim državama. Moguće je da je pojava *V. destructor* povećala virulenciju virusa olakšavajući njihov prijenos. Zarazom kraljice, virusi osiguravaju siguran prijenos na potomstvo vertikalnim prijenosom. Virusnom zarazom dolazi do supresije imuniteta pčele domaćina čime one postaju osjetljivije na druge okolišne stresore (Ullah i sur., 2021).

U svakom slučaju, proučavanjem viroma pčela, bilo virusa koji zaražavaju bakterije mikrobioma ili onih koji direktno zaražavaju pčele, moguće je razumjeti i poboljšati zdravlje pčela što bi rezultiralo širenjem mogućnosti liječenja pčela i poboljšanjem njihova fitnesa (Kwong, 2020).

5. ZAKLJUČAK

Pčele su važni oprašivači o čijoj aktivnosti ovisi trećina svjetskih usjeva zbog čega imaju izniman utjecaj na razne ekosustave i agrikulturu. Ljudima su komercijalno važne zbog proizvodnje meda, propolisa, voska i drugih dobara koje ljudi prodaju i koriste. Pčele, kao i ostale životinje tijekom evolucije razvile su svoj vlastiti mikrobiom koji se sastoji od bakterija, arheja, gljivica i virusa od kojih su neki za pčele patogeni dok drugi imaju pozitivne utjecaje na svoje pčelinje domaćine. Oni mogu pomagati u razgradnji hrane i oslobađanju hranjivih tvari, mogu izravno proizvoditi hranjive tvari, a mogu i modulirati imunosni odgovor domaćina.

Razne tvari i pesticidi koje mi ljudi otpuštamo u okoliš imaju negativan utjecaj na mikroorganizme koji se nalaze u pčelinjem mikrobiomu. Daljnjim istraživanjem bilo bi moguće zamjenom štetnih pesticida ili prestankom njihova korištenja umanjiti negativne posljedice koji imaju na ove insekte. No pčelinji mikrobiom nije nimalo jednostavno proučavati zbog mnogih parametara koji se trebaju uzeti u obzir (vrsta pčele, društvenost pčele, mjesto na kojem obitavaju, veličina i smještaj košnice...) i koji se ne mogu uvijek zadovoljiti pa samim time reproducibilnost rezultata može biti izazovna.

Činjenica je da se razumijevanjem mikrobioma pčela, načina na koji su ga stekle, kao i načina na koji se on održava može razviti snažan alat koji bi pomogao znanstvenicima kako bi zaštitili ove insekte, ali i kako bi razumjeli mikrobiom drugih životinja, pa tako i čovjeka.

6. LITERATURA

1. Bonilla-Rosso, G., & Engel, P. (2018). Functional Roles and Metabolic Niches in the Honey Bee Gut Microbiota. In *Current Opinion in Microbiology* (Vol. 43, pp. 69–76). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.12.009>
2. 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. In *Trends in Microbiology* (Vol. 28, Issue 12, pp. 1010–1021). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.06.006>
3. Engel, P., Kwong, W. K., McFrederick, Q., Anderson, K. E., Barribeau, S. M., Chandler, J. A., Cornman, R. S., Dainat, J., de Miranda, J. R., Doublet, V., Emery, O., Evans, J. D., Farinelli, L., Flenniken, M. L., Granberg, F., Grasis, J. A., Gauthier, L., Hayer, J., Koch, H., Kocher, S., Martinson, V. G., Moran N., Munoz-Torres, M., Newton, I., Paxton R., J., Powell, E., Sadd B. M., Schmid-Hempel, P., Schmid-Hempel, R., Song, S. J., Schwarz R. S., vanEngelsdorp, D., Dainat, B. (2016). The Bee Microbiome: Impact on Bee Health and Model for Evolution and Ecology of Host-Microbe Interactions. *MBio*, 7(2). <https://doi.org/10.1128/mBio.02164-15>
4. Forfert, N., Natsopoulou, M. E., Frey, E., Rosenkranz, P., Paxton, R. J., & Moritz, R. F. A. (2015). Parasites and Pathogens of the Honeybee (*Apis mellifera*) and Their Influence on Inter-colonial Transmission. *PLoS ONE*, 10(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140337>
5. Horak, R. D., Leonard, S. P., & Moran, N. A. (2020). Symbionts Shape Host Innate Immunity In Honeybees: Symbionts Shape Honey Bee Immunity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1933). <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.1184>
6. Kwong, W. K. (2020). Bee Microbiomes Go Viral. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 117,no. 21
7. Kwong, W. K., Mancenido, A. L., & Moran, N. A. (2017). Immune System Stimulation by the Native Gut Microbiota of Honey Bees. *Royal Society Open Science*, 4(2). <https://doi.org/10.1098/rsos.170003>
8. Kwong, W. K., Medina, L. A., Koch, H., Sing, K. W., Soh, E., Ascher, J. S., Jaffé, R., & Moran, N. A. (2017). Dynamic microbiome evolution in social bees. *Science advances*, 3(3), e1600513. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600513>

9. Lee, F. J., Rusch, D. B., Stewart, F. J., Mattila, H. R., & Newton, I. L. G. (2015). Saccharide Breakdown and Fermentation by the Honey Bee Gut Microbiome. *Environmental Microbiology*, 17(3), 796–815. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12526>
10. McFrederick, Q. S., Wcislo, W. T., Hout, M. C., & Mueller, U. G. (2014). Host Species and Developmental Stage, But Not Host Social Structure, Affects Bacterial Community Structure In Socially Polymorphic Bees. *FEMS Microbiology Ecology*, 88(2), 398–406. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12302>
11. Perfectbee: <https://www.perfectbee.com/learn-about-bees/the-life-of-bees/the-role-of-the-worker-bee> pristupljeno 15.05.2022.
12. Tarpy, D. R., Mattila, H. R., i Newton, I. L. G. (2015). Development of the Honey Bee Gut Microbiome Throughout the Queen-rearing Process. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(9), 3182–3191. <https://doi.org/10.1128/AEM.00307-15>
13. Ullah, A., Tlak Gajger, I., Majoros, A., Dar, S. A., Khan, S., Kalimullah, Haleem Shah, A., Nasir Khabir, M., Hussain, R., Khan, H. U., Hameed, M., & Anjum, S. I. (2021). Viral Impacts on Honey Bee Populations: A review. In *Saudi Journal of Biological Sciences* (Vol. 28, Issue 1, pp. 523–530). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.037>
14. Voulgari-Kokota, A., Grimmer, G., Steffan-Dewenter, I., & Keller, A. (2018). Bacterial Community Structure and Succession in Nests of Two Megachilid Bee Genera. *FEMS Microbiology Ecology*, 95(1). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy218>
15. Voulgari-Kokota, A., McFrederick, Q. S., Steffan-Dewenter, I., & Keller, A. (2019). Drivers, Diversity, and Functions of the Solitary-Bee Microbiota. In *Trends in Microbiology* (Vol. 27, Issue 12, pp. 1034–1044). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.07.011>
16. Weiss K. (1997): *The Little Book of Bees*. Copernicus Books, New York

7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 4. listopada 2000. godine u Splitu u Republici Hrvatskoj. Po završetku osnovnoškolskog obrazovanja 2015. godine upisujem Prvu gimnaziju u Splitu (klasični smijer). Za vrijeme srednjoškolskog obrazovanja dvije sam se godine bavila volontiranjem u udruzi Dyxy u Splitu (2017. i 2018. godine) te sam 2017. godine volontirala u sklopu programa 72 sata bez kompromisa. Gimnaziju završavam 2019. godine i tada započinjem preddiplomski studij Molekularne biologije na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu na kojem sam trenutno treća godina. Za vrijeme studiranja volontirala sam u sklopu Noći muzeja 2020. godine u Prirodoslovnom muzeju u Zagrebu, a 2022. godine sam volontirala u udruzi BIOTEKA u sklopu popularizacije znanosti među darovitom djecom. Također sam 2021. godine odradila laboratorijsku stručnu praksu u herbarijskoj zbirci *Herbarium Croaticum* i 2022. godine na Institutu Ruđer Bošković na Zavodu za molekularnu biologiju.