

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE

ZBORNİK PREDAVANJA
XLIII SEMINARA
ZA INOVACIJE
ZNAJJA VETERINARA



UNIVERZITET U BEOGRADU

FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE

ZBORNİK PREDAVANJA XLIII SEMINARA ZA INOVACIJE ZNANJA VETERINARA

Beograd, 2022.

XLIII SEMINAR ZA INOVACIJE ZNANJA VETERINARA
Beograd, 25.02.2022.

Organizator:

Fakultet veterinarske medicine
Univerzitet u Beogradu

Organizacioni odbor:

Počasni predsednik: Prof. dr Milorad Mirilović, dekan

Predsednik: Prof. dr Danijela Kirovski

Članovi: Prof. dr Vanja Krstić, Doc. dr Milan Maletić, Doc. dr Slađan Nešić,
Doc. dr Ljubomir Jovanović, Asist. dr Branislav Vejnović, Maja Gabrić

Programski odbor:

Predsednik: Prof. dr Jakov Nišavić

Članovi: Prof. dr Ivan Jovanović, Prof. dr Vladimir Nešić, Prof. dr Nedeljko Karabasil, Prof. dr Dragan Šefer,
Prof. dr Sonja Radojičić, Prof. dr Ivan Vujanac, Doc. dr Miloš Vučićević



Izdavač:

Fakultet veterinarske medicine, Beograd
Centar za izdavačku delatnost i promet učila

CID

Za izdavača:

Prof. dr Milorad Mirilović, dekan FVM

Urednik:

Prof. dr Dragan Gvozdić

Lektura i korektura:

Prof. dr Ivan B. Jovanović
Prof. dr Jakov Nišavić
Prof. dr Dragan Gvozdić

Dizajn korica:

Prof. dr Ivan B. Jovanović

Prelom teksta:

Gordana Lazarević

Štampa:

Naučna KMD, Beograd, 2022

Tiraž: 450 primeraka

ISBN 978-86-80446-46-2

NOVI TRENDОВI U KONTROLI *Nosema ceranae*

Uroš Glavinić, Marko Ristanić, Nemanja M. Jovanović, Milan Rajković,
Mia Niketić, Jevrosima Stevanović, Zoran Stanimirović*

Mikrosporidija Nosema ceranae je obligatni intestinalni parazit medonosne pčele (Apis mellifera). Izaziva bolest nozemozu (nozematozu) i u zavisnosti od stepena infekcije i jačine pčelinjih društava, ostavlja značajne posledice na zdravlje, reproduktivne i produktivne sposobnosti pčela.

*Antibiotik fumagilin je godinama bio jedini lek dostupan za kontrolu ovog patogena. Njegova primena dovedena je u pitanje zbog nedostataka koji prate njegovu primenu (efikasnost, mortalitet pčela i pojava rezidua u pčelinjim proizvodima). Širom sveta se sprovode istraživanja sa ciljem pronalaska alternative za kontrolu nozeme. U ovom radu prikazani su naši rezultati ispitivanja dijetetskih suplemenata na bazi prirodnih/biljnih ekstrakata (Medenko forte i ekstrakti gljiva *Agaricus blazei* i *A. bisporus*), timola i vitaminsko-mineralnog aditiva (BEEWELL AminoPlus). Kod pčela tretiranih svim nabrojanim suplemenatima i fumagilinom kao kontrolnim tretmanom, praćen je broj spora *N. ceranae*, nivoi ekspresije gena značajnih za imunitet pčela kao i parametri oksidativnog stresa. Svi preparati primenjivani su preventivno (tri dana pre infekcije), u trenutku inficiranja, kao i tri dana nakon infekcije sa *N. ceranae*, u cilju određivanja najboljeg momenta za primenu. Dokazani su negativni efekti fumagilina kada je preventivno primenjivan kod neinficiranih pčela. Kod inficiranih pčela većina testiranih suplemenata dovela je do smanjenja broja spora *N. ceranae*, a pokazali su i zaštitni efekat u smislu sprečavanja imunosupresije i oksidativnog stresa.*

Ključne reči: ekspresija gena, dijetetski suplementi, fumagilin, medonosna pčela, *Nosema ceranae*, oksidativni stres

* Dr Uroš Glavinić, docent, Marko Ristanić, asistent, Nemanja M. Jovanović, asistent, Milan Rajković, istraživač saradnik, Mia Niketić, istraživač pripravnik, dr Jevrosima Stevanović, profesor, dr Zoran Stanimirović, profesor, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Katedra za biologiju, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, R. Srbija

UVOD

Gajene medonosne pčele (*Apis mellifera*) značajne su pre svega zbog uloge u oprašivanju biljaka, ali i zbog proizvodnje meda i drugih pčelinjih proizvoda. Kao oprašivači mnogih gajenih biljaka, pčele su nezamenljiva karika u lancu proizvodnje hrane, kako za životinje tako i za ljude. Veliki gubici pčelinjih društava u Evropi i SAD zabrinjavaju istraživače i pčelare, posebno zbog toga što još uvek nema saglasnosti o konkretnom uzroku (ili uzrocima) gubitaka. Opsežna istraživanja su pokazala da ne postoji pojedinačni faktor koji se može posebno izdvojiti kao „krivac“ za gubitke, te se zaključuje da je uključen veći broj stresora: nedostatak adekvatne paše, prisustvo patogena, parazita, agropesticida, ali i greške u pčelarskoj praksi (Stanimirovic i sar., 2019). Veoma često kao uzrok gubitaka navode se mikrosporidije iz roda *Nosema*. Dve vrste iz navedenog roda imaju najveći značaj kada su u pitanju medonosne pčele: *N. ceranae*, najčešće prisutna i globalno rasprostranjena i *N. apis* koja prevladava nad *N. ceranae* samo u regionima sa hladnom klimom. U Srbiji i zemljama u okruženju u pčelinjim društvima dominira vrsta *N. ceranae* (Stevanovic i sar., 2011; 2013, 2016).

Što se tiče prevalencije *N. ceranae* u pčelinjim zajednicama u Srbiji, naša istraživanja (Stevanovic i sar., 2013) su pokazala da je ona kontinuirano visoka jer se kretala u opsegu od 73 do 98% (u periodu 2008-2012); najviša prevalencija je zabeležena u martu i to u opsegu od 94% (2008) do 98% (2010). Niža, ali opet značajna prevalencija zabeležena je u oktobru (67-87%) i junu (73-91%). Odsustvo sezonalnosti, ili bilo kakvog jasnog simptoma i neminovni kolaps zajednica ukoliko nisu tretirane, nikad nisu zabeleženi kod *N. ceranae*-inficiranih pčela u Srbiji (Stevanovic i sar., 2013). Zapravo utvrđeno je (1) da je postojala sezonalnost u pojavljivanju *N. ceranae* u periodu 2008-2011; (2) u većini *N. ceranae*-inficiranih zajednica uočeni su simptomi koji se tradicionalno pripisuju infekciji sa *N. apis* (mrlje fecesa, mrtve i bolesne pčele koje puze); (3) odsustvo jasne povezanosti između *N. ceranae* infekcije i gubitaka zajednica ne samo tokom zimske, već i tokom letnje sezone (Stevanovic i sar., 2013). Pošto su simptomi nozemoze uočavani kako kod društava koja su kasnije uginula, tako i kod preživelih društava (kod njih čak i češće u periodu 2010-2012) ti simptomi se ne mogu koristiti kao prediktivni markeri, odnosno ne mogu biti merodavni za predviđanje gubitaka pčelinjih društava. Isto važi i za neka druga stanja zabeležena u košnicama inficiranim sa *N. ceranae*: A) rastresito klube tokom hladnih zimskih dana (na temperaturama ispod -5°C) nasuprot kompaktnom kod neinficiranih i B) i povećana uznemirenost pčela tokom nižih temperatura (0°C ili nešto iznad) manifestovana neobično velikim brojem pčela na ulazu u košnicu nakon uznemiravanja (Stanimirovic i sar., 2019). U prilog navedenom ide i nalaz iz naše laboratorije po kome je prevalencija *N. ceranae* u odraslim pčelama sakupljenim iz košnica sa vidljivim simptomima bolesti tokom petogodišnjeg perioda (2014-2018) bila 92,31-97-71% (Stanimirovic i sar., 2019). Naša istraživanja su takođe pokazala da *N. ceranae* može biti uzrok za smanjenje reproduktivnog kapaciteta pčela i proizvodnje meda (Simeunović i sar., 2014). Uticaj *N. ceranae* je ispitan na ujednačenim pčelinjim

zajednicama čije su matice različite starosti (1-godišnje, 2-godišnje i 3-godišnje), imajući na umu da bi obnova populacije radilica mogla biti kompromitovana usled iscrpljenosti matice zbog infekcije nozemom. Nalaz značajno većih proizvodnih i reproduktivnih vredosti u zajednicama sa mlađom maticom objašnjen je njihovim većim kapacitetom da kompenzuju gubitke radilica (izazvane infekcijom *N. ceranae*), a koji se postepeno smanjuje sa starenjem matice (Simeunovic i sar., 2014).

N. ceranae je primarno endoparazit srednjeg creva medonosne pčele, međutim, spore ili DNK ove mikrosporidije pronađene su i u drugim tkivima i hemolimfi (Glavinić i sar., 2014). Kao posledica oštećenja strukture i funkcije creva, dolazi do digestivnih i metaboličkih poremećaja koje izazivaju malnutriciju adultnih pčela, dijareju, smanjenu produkciju i povećan mortalitet kod zimskih pčela. Nozema infekcija može dovesti i do indukovanja oksidativnog stresa kod pčela (Glavinić i sar., 2021a). Molekularno-genetička istraživanja, uključujući i naša, potvrdila su negativan uticaj *N. ceranae* infekcije na zdravlje i životni vek pčela i to putem uticaja na njihove gene značajne za metabolizam, ishranu, imunitet, energetsku homeostazu i bihevioralno sazrevanje (revijalno prikazano u Formato i sar., 2022). Ove promene posledično izazivaju metaboličke poremećaje, energetski, nutritivni i oksidativni stres (Martín-Hernández i sar., 2018; Stanimirovic i sar., 2019, Glavinić i sar., 2021a), imunosupresiju i prerani prelazak pčela iz stadijuma "kućne" (negovateljice) u izletnice. Imunosupresivni efekat na pčele *N. ceranae* ostvaruje preko različitih mehanizama, a najčešće preko uticaja na ekspresiju gena domaćina i to gena koji kodiraju sintezu antimikrobnih peptida (abecina, apidecina, defenzina i himenoptecina) i vitelogenina što su dokazala i naša istraživanja (Glavinić, 2019; Glavinić i sar., 2017; 2021a; 2021b).

Primarna terapija nozemoze sastoji se od primene fumagilina, antibiotika dobijenog od gljivice *Aspergillus fumigatus*. Ubrzo po otkriću fumagilina dokazana je njegova efikasnost u suzbijanju nozeme, ali par godina kasnije utvrđeni su i njegovi negativni efekti, kao što su rezidue u pčelinjim proizvodima i njegov genotoksični i mutageni efekat (Stanimirovic i sar., 2007; Van den Heever i sar., 2016a; 2016b). Fumagilin je bio dostupan u nekoliko komercijalnih formulacija (Fumagilin-B, Fumidil B, Fumagilin DCH itd.) registrovanih u SAD, Kanadi i Argentini, dok u Evropi nema registrovanih formulacija (Glavinić i sar., 2021a). Istraživači širom sveta neprestano rade na pronalaženju alternativnih supstanci koje bi zamenile fumagilin. Ulažu se veliki naponi sa ciljem pronalaska više rešenja u kontroli nozemoze. Jedan od najvažnijih pristupa u prevenciji i kontroli nozemoze jeste primena alternativnih metoda koje podrazumevaju upotrebu fitoterapeutskih preparata, organskih kiselina, eteričnih ulja, polisaharida, bakterija i njihovih metabolita. Njihova prednost se ogleda kroz dostupnost u velikom broju zemalja, smanjen rizik kontaminacije pčelinjih proizvoda, nizak stepen toksičnosti prema životnoj sredini i za sada nedokazane rezistencije.

Ispitivani su različiti biljni ekstrakti i prirodni preparati koji mogu da smanje stepen nozema infekcije kod pčela, kako u laboratorijskim, tako i u košničkim uslovima. Mnoga istraživanja su pokazala da ekstrakti različitih lekovitih biljaka i algi ispoljavaju antinozematoznu aktivnost, a da pri tome ne izazivaju toksične

efekte na pčele. Tako na primer, ishrana koja sadrži različitu količinu glukozinolata poreklom od crne slačice (*Brassica nigra*) i rukole (*Eruca sativa*) mogu da redukuju nozema infekciju. Prirodni sastojci biljaka, prvenstveno flavonoidi i polisaharidi koji su zastupljeni u lekovitim biljkama ispoljavaju antinozematozni efekat. Antinozematozni efekat su pokazala i eterična ulja, i to pre svega alkoholni ekstrakti biljaka *Laurus nobilis*, *Origanum nubilis*, *Rosmarinus officinalis*. Propolis, pčelinji proizvod koji je mešavina biljnih smola, voska i polena, nakon primene u prihrani pčela, u formi alkoholnog rastvora, u srednjem crevu biva izložen enzimskoj i mlečnokiselinskoj fermentaciji postičući jako antivirusno, antibakterijsko i antiparazitsko delovanje. Rezultati istraživanja potvrđuju bezbednost upotrebe alkoholnog rastvora propolisa u smanjenju nozema infekcija (revijalno prikazano u Shumkova i sar., 2021)

Veliki broj komercijalnih suplemenata (HiveAlive™, Api-Bioxal® and Api-Herb®, "BEEWELL AminoPlus", Nozevit®, BeePro®, MegaBee®) eksperimentalno je testiran u pogledu antinozematozne aktivnosti (Glavinic i sar., 2017; 2021b; Glavinic, 2019). Rezultati istraživanja su pokazali da fitofarmakološki suplement Nozevit (koji sadrži biljne polifenole, vitamine, minerale i amino-kiseline) može da poboljša zdravlje zajednica i smanji infekciju nozeme (Gajger i sar., 2011). Biljni suplementi NOZEMAT HERB i NOZEMAT HERB PLUS su pokazali smanjenje stepena infekcije u inficiranim košnicama uz povećanje jačine društava i smanjenje zimskog mortaliteta pčela (Shumkova i sar., 2021). I drugi testirani komercijalni preparati (Nosestat, Fenil-salicilat i Vitafeed Gold) su doprineli smanjenju stepena nozema infekcije u terenskim uslovima.

U dostupnoj literaturi su opisani i efekti organskih kiselina (mlečna i sirćetna kiselina) proizvedenih od strane bakterije *Lactobacillus johnsonii*. Redukcija nozema infekcije je posmatrana nakon dva tretmana gde nisu zabeleženi neželjeni efekti. Zanimljivo je istaći i pozitivan efekat zabeležen nakon primene β -glukana koji ispoljavaju imunomodulatorni efekat kod mnogih vrsta, pa i pčela. Naime, dokazano je da sulfopolisaharidi i β -glukani stimilišu imuni sistem što vodi ka smanjenju stepena infekcije nozemom i povećanom preživljavanju pčela (Glavinic i sar., 2021a; 2021b).

Naša istraživanja antinozematoznih formulacija

Fumagilin u kontroli nozeme

Fumagilin je moćan antibiotik koji se primenjuje protiv mikrosporidijalnih infekcija u veterinarskoj i humanoj medicini. Međutim, njegova efikasnost u kontroli *N. ceranae* infekcija nije konstantna, te je neophodno ponavljati sezonske tretmane (Glavinic i sar., 2021a). Međutim, treba biti oprezan jer na ovaj način, iako fumagilin degradira tokom vremena, nekoliko generacija pčela biva izloženo niskim nivoima fumagilina zaostalog u košnici što može dovesti do suprotnog efekta, odnosno hiperproliferacije *Nosema* spp. (Glavinic i sar., 2021a).

U kaveznom eksperimentu ispitivali smo uticaj fumagilina na preživljavanje pčela, količinu spora, parametre oksidativnog stresa i nivoe ekspresije gena značajnih za imunitet. Dobijeni rezultati pokazali su odsustvo statistički značajne razlike u broju uginulih pčela između kontrolne grupe i grupe koja je sve vreme dobijala fumagilin, a nije bila inficirana nozemom. Osim toga, odsustvo značajnih razlika u preživljavanju pčela u kontrolnoj neinficiranoj grupi i grupama koje su pored infekcije nozemom dobijale fumagilin od prvog i trećeg dana, govori o smanjenju smrtnosti kod inficiranih pčela ukoliko se tretiraju fumagilinom, što je u skladu sa mnogim ranijim istraživanjima (Van den Heever i sar., 2016b). Broj spora nozeme bio je značajno veći u kontrolnoj inficiranoj u odnosu na sve ostale grupe. Ovi rezultati govore o direktnoj vezi između tretmana fumagilinom i brojnosti spora nozeme, odnosno potvrđuju poznati antinozematozni efekat fumagilina (Glavinić, 2019; Glavinić i sar., 2021a).

Posmatrajući nivoe ekspresije gena kod pčela žrtvovanih devetog dana eksperimenta izdvaja se nekoliko značajnih razlika. Ekspresija gena za abecin, apidecin i vitelogenin bila je viša u inficiranoj (kontrolnoj) grupi u odnosu na ostale. Iz ovoga se zaključuje da je suprimirajući uticaj fumagilina na ekspresiju gena u ovom trenutku bio veći nego infekcija sa *N. ceranae*. Ovo može biti objašnjeno i činjenicom da infekcija nozemom nije stigla da se razvije u punoj meri do ovog trenutka. Osim toga, fumagilin je moćan antibiotik koji ima potvrđen genotoksični potencijal (Stanimirović i sar., 2007), negativan uticaj na zdravlje pčela, ali samo nekoliko istraživanja je potvrdilo uticaj na mortalitet pčela (Van den Heever i sar. 2016b). Nasuprot tome, aktivnost antioksidativnih enzima (CAT, GST i SOD) u ovom trenutku bila je najniža u grupi tretiranoj fumagilinom, što potvrđuje da upotreba fumagilina ne izaziva oksidativni stres (Glavinić, 2019; Glavinić i sar., 2021a).

Kod pčela žrtvovanih 15. dana aktivnost antioksidativnih enzima, a pre svega SOD i GST koja je bila viša u inficiranoj grupi (kontrolnoj) u odnosu na grupu tretiranu fumagilinom, u skladu je sa ranijim nalazima o uticaju nozeme na povećanje aktivnosti GST usled infekcije sa *N. ceranae* (Glavinić, 2019). Nasuprot tome, niže aktivnosti CAT, SOD i GST i koncentracije MDA u ovoj grupi (koja je dobijala fumagilin sve vreme eksperimenta, a nije bila inficirana) u odnosu na većinu drugih grupa, govori o odsustvu oksidativnog stresa indukovano upotrebom fumagilina. Nivoi ekspresije svih gena za imune peptide bili su značajno viši kod grupa koje su dobijale fumagilin pre, u istom trenutku ili nakon infekcije sporama *N. ceranae* u odnosu na inficiranu grupu (kontrolnu). Dakle, supresija gena značajnih za imunitet pčela izazvana infekcijom nozemom potvrđena je u ovom eksperimentu i u skladu je sa ranijim istraživanjima (Glavinić, 2019; Glavinić i sar., 2021a). Sa druge strane, nivoi ekspresije u grupama koje su pored infekcije nozemom dobijale fumagilin, bili su povišeni i govore o efektu fumagilina. Fumagilin je sprečio supresiju gena izazvanu sa *N. ceranae* u kontrolnoj inficiranoj grupi. Pozitivni efekat fumagilina je, u našem istraživanju, potvrđen i analizom nivoa ekspresije gena kroz vreme, prateći nivo ekspresije kroz različite momente uzorkovanja pčela (6., 9. i 15. dana). U svim grupama u kojima su pčele pored infekcije

nozomom dobijale i fumagilin, nivo ekspresije većine gena bio je najviši 15. dana. Efikasnost fumagilina u kontroli nozema infekcije je odavno dokazana u tretmanu pčela širom sveta. Značajno je reći da, iako se u pčelarstvu fumagilin koristi više od pola veka, još uvek nije prijavljena pojava rezistencija nozeme na ovaj antibiotik (Van den Heever i sar., 2016). Posmatrajući detaljnije nivoe ekspresije gena za himenoptecin, defenzin i apidecin kod različitih grupa u našem eksperimentu, uočava se da je najviši nivo ekspresije bio u grupi koja je fumagilin dobijala pre infekcije nozomom, dakle u grupi u kojoj je on bio aplikovan „preventivno“. Međutim, preventivnu aplikaciju antibiotika svakako treba izbegavati, imajući u vidu činjenicu da fumagilin može ostaviti rezidue u košnici, ali i nalaze pojedinih istraživača da, iako ima efekta na količinu nozeme, tretman fumagilinom ne povećava prinos društava (Glavinić, 2019). Takođe, niži nivoi ekspresija gena kod pčela koje su tokom našeg eksperimenta dobijale samo fumagilin (a nisu bile inficirane sporama *N. ceranae*) pokazuju negativan efekat fumagilina na imuni sistem pčela, što je u skladu sa rezultatima uticaja nekih drugih antibiotika na ekspresiju gena za imuneptide (Glavinić, 2019). Iz ovoga se može zaključiti da sam fumagilin ne povećava ekspresiju gena značajnih za imunitet, naprotiv, kod nekih gena (abecin i defenzin) je 15. dana doveo i do veće supresije nego *N. ceranae*. Međutim, u grupama koje su inficirane nozomom, fumagilin je smanjio supresivni efekat ovog parazita na ekspresiju praćenih gena. Imajući u vidu da sam fumagilin snižava ekspresiju gena tj. da samostalno aplikovan nema imunoprotektivni efekat, zaključujemo da je njegov pozitivni efekat, zabeležen u ovom istraživanju, posledica redukcije količine *N. ceranae* čime je smanjen i supresivni uticaj ove mikrosporidije na imuno gene. Iako su za fumagilin dokazana određena negativna dejstva u nekoliko evropskih zemalja, zbog velikih gubitaka pčela i visoke prevalencije *N. ceranae* (Ujedinjeno Kraljevstvo, Španija, Belgija, Grčka, Mađarska, Rumunija i dr.) dobijena su privremena odobrenja za lečenje nozeme u pozitivnim društvima upotrebom fumagilina pod veterinarskim nadzorom (Glavinić, 2019).

Timol u kontroli nozeme

Timol, eng: Thymol (3-hydroxy-p-cymene), je sastojak eteričnog ulja dobijenog od timijana (*Thymus vulgaris*) i mnogih drugih biljnih vrsta. Godinama je poznat inhibitorni uticaj timola na rast patogenih bakterija i gljivica, kao što su *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus flavus* i *Cryptococcus neoformans*. U pčelarstvu se već decenijama upotrebljava za suzbijanje pčelinjeg krpelja *Varroa destructor*. Početkom 21. veka obavljena su i prva istraživanja potencijalnog efekta timola u suzbijanju *Nosema* infekcije u košnici (Glavinić, 2019).

Rezultati mortaliteta pčela u našem kaveznom eksperimentu pokazali su da broj uginulih pčela u grupama koje su hranjene timolom nije bio statistički značajno različit u odnosu na uginuća u inficiranoj grupi (kontrolnoj). Ovaj nalaz u skladu je sa rezultatima Maistrello i sar. (2008) u čijim istraživanjima, takođe, nije bilo razlike u preživljavanju pčela koje su bile inficirane nozomom i onih kod kojih je u ishrani dodavan timol. Efekat timola na uginuće pčela može biti objašnjen

potencijalnim toksičnim efektom eteričnih ulja timijana zbog kojih je timol klasifikovan kao umereno toksičan proizvod (Maistrello i sar., 2008). Sa druge strane u našem eksperimentu nije bilo statistički značajne razlike ni u preživljavanju pčela hranjenih timolom i pčela u netretiranoj grupi, što govori o tome da je mortalitet izazvan timolom umeren. Prema regulativi Evropske unije No. 834/2007 timol je odobren za kontrolu pčelinjeg krpelja *V. destructor* u organskom pčelarenju (Maistrello i sar., 2008).

Broj spora nozeme kod pčela žrtvovanih 9. dana u našem eksperimentu nije se statistički značajno razlikovao među kontrolnim i grupama koje su hranjene uz dodatak timola, za razliku od pčela uzorkovanih 15. dana kada je značajno veći broj spora detektovan u kontrolnoj, inficiranoj grupi. Ovaj nalaz u skladu je sa rezultatima Maistrello i sar. (2008) koji su ovaj efekat tumačili time da timol inhibira razvoj nozeme što za posledicu ima niži broj spora nozeme na kraju eksperimenta u poređenju sa ranijim uzorkovanjima tokom eksperimenta. Takođe, Costa i sar. (2009) dokazali su signifikantno niži nivo infekcije nozemom kod pčela hranjenih sirupom sa timolom kao i Van den Heever i sar. (2016) u čijim eksperimentima je dokazano da timol smanjuje nivo nozeme u proseku za 40%. Imajući u vidu oprečne rezultate o toksičnosti i preživljavanju pčela koje su konzumirale timol, eksperimentalno smo ispitivali njegov uticaj na ekspresiju gena značajnih za imunitet i nivo oksidativnog stresa kod pčela.

Analiza pčela uzorkovanih devet dana nakon izleganja otkrila je da je nivo ekspresije gena za abecin bio najviši u inficiranoj grupi, odnosno da je bio niži kod svih grupa koje su u nekom trenutku (1., 3. ili 6 dana) počele da dobijaju timol u ishrani. Dakle, timol je doveo do veće supresije ovog gena nego sama infekcija *N. ceranae*. Ovakav nalaz je i očekivan, imajući na umu činjenicu da je i u drugim istraživanjima timol ispoljio svoje najbolje efekte tek na kraju eksperimenta (Maistrello i sar., 2008; Costa i sar., 2009), dok nozema, nasuprot tome, sve veće posledice po pčele ostavlja tokom dužeg vremena (Costa i sar., 2009; Glavinić i sar., 2017). Ova supresija javila se kao posledica efekta timola konzumiranog tokom prethodnih devet dana (sve vreme života pčela) i ide u prilog nekim ranijim nalazima koji su pokazali da timol konzumiran duže ili u većim koncentracijama može imati negativne efekte po zdravlje i ponašanje pčela (Maistrello i sar., 2008). Osim toga 9. dana parametri oksidativnog stresa nisu pokazivali jasnu pravilnost u svojim koncentracijama (MDA) i aktivnostima (GST, SOD i CAT), odnosno dosta su se razlikovali pojedinačno posmatrani. Ovaj nalaz u skladu je sa rezultatom broja spora 9. dana, kada nije bilo statistički značajne razlike u broju spora među svim grupama i može biti objašnjen borbom organizma da savlada napad endoparazita (*N. ceranae*) kroz produkciju ROS (nepotpuno redukovanih kiseonikovih produkata) i, sa druge strane, aktiviranjem antioksidativnih (zaštitnih) mehanizama kako bi sprečilo oštećenje tkiva stvorenim ROS.

Na kraju eksperimenta (15. dana) timol konzumiran kroz šećerni sirup pokazao je najveći antinozematozni efekat posmatrano kroz broj spora nozeme. Osim toga rezultati aktivnosti i koncentracije praćenih parametara oksidativnog stresa pokazali su daleko povoljnije efekte timola u odnosu na uzorke iz prethodnog žr-

tvovanja. Aktivnosti svih antioksidativnih enzima (SOD, CAT i GST) i koncentracije MDA bile su statistički značajno više u inficiranoj grupi u odnosu na većinu drugih uzoraka, dok su najniže aktivnosti pomenutih enzima zabeležene u grupama koje su sve vreme eksperimenta (od prvog dana) hranjene uz dodatak timola. Ovi rezultati govore o postignutom balansu u redoks potencijalu organizama pčela hranjenih timolom, odnosno uspehu organizma u kontroli antioksidativnog odgovora kod ovih pčela. Nasuprot tome, u kontrolnoj inficiranoj grupi, *N. ceranae* je na kraju eksperimenta izazivala oksidativni stres produkcijom ROS, što je dovelo do povećanja parametara antioksidativne zaštite.

Nivoi ekspresije gena za apidecin i himenoptecin 15. dana bili su značajno viši u svim grupama koje su dobijale timol u odnosu na inficiranu kontrolu. Međutim, kod apidecina su nivoi bili i statistički značajno niži u grupi koja je dobijala timol, a nije imala infekciju, u odnosu na inficirane i timolom tretirane pčele, dok kod himenoptecina ove razlike nije bilo. Osim kod apidecina, ova grupa je imala niže vrednosti za ekspresiju gena za abecin i defenzin u odnosu na ostale grupe koje su inficirane i tretirane timolom od prvog, trećeg i šestog dana. Kod defenzina su ove vrednosti (u grupi koje je dobijala timol, a nije inficirana) bile niže čak i od inficirane (kontrolne) grupe (Glavinić, 2019).

Broj spora nozeme na kraju eksperimenta govori o evidentnom antinozematoznom efektu timola. U skladu sa tim, rezultati ekspresije gena pokazuju da ovakav efekat timola sprečava supresivni efekat *N. ceranae* na ekspresiju gena značajnih za imunitet, ali i smanjenje oksidativnog stresa o čemu govore aktivnosti SOD, CAT i GST i koncentracija MDA (Glavinić, 2019). Međutim, supresija pojedinih gena u grupi koja je primala timol bez infekcije nozemom govori o potencijalnom imunosupresivnom efektu timola na neinficirane pčele. O negativnom uticaju timola na neke druge vrste insekata odavno se zna, on ima dokazanu efikasnost u supresiji razvoja i preživljavanja odraslih komaraca i bubašvaba (Glavinić, 2019). Ukoliko posmatramo kretanje nivoa ekspresije gena kroz vreme, kako je eksperiment odmicao, primećuje se da je u gotovo svim grupama koje su inficirane nozemom i tretirane timolom, za sve gene, osim vitelogenina, nivo ekspresije rastao, odnosno da je timol kod inficiranih pčela imao imunoprotektivni efekat. Ovi rezultati idu u prilog nalazima da timol svoj efekat najbolje pokazuje nakon duže primene (Costa i sar., 2009; Maistrello i sar., 2008) i dokazuju pozitivan efekat kod nozematoznih pčela.

Naše istraživanje pokazalo je pozitivne efekte timola na zdravlje pčela inficiranih nozemom, ali svakako bi trebalo sprovesti opsežnija istraživanja o uticaju ovog fitogenog preparata na imunitet neinficiranih pčela. Naime, ukoliko je pčela inficirana nozemom, nisu zabeleženi negativni efekti aplikovanog timola, jer on u ovom slučaju ima terapijski, antinozematozni efekat, koji je daleko značajniji od eventualnih propratnih neželjenih dejstava. Međutim, i naši rezultati ukazuju da kod pčela bez infekcije nozemom sam timol može dovesti do pojedinih poremećaja, te treba biti obazriv sa preventivnom, nekontrolisanom i prekomernom upotrebom timola.

Suplementi i nozema

Visok kvalitet hrane predstavlja jedan od osnovnih faktora koji utiču na zdravstveni status pčela, i čiji nedostatak može bitno uticati na gubitke (Stanimirovic i sar., 2019). Globalne promene u dinamici cvetanja, količini i kvalitetu polena i nektara kao i praksa uzgoja nekih monokultura (npr. kukuruza), koje su izvor lošeg kvaliteta hrane za pčele, dodatno povećava rizik od manjka proteina u ishrani pčela (Stanimirovic i sar., 2019). Pored manjeg unosa nektara u košnicu, dodatni problem prave pčelari tako što često iz društava uzmu neadekvatno veliku količinu meda koju kompenzuju dodavanjem šećernog sirupa, čime dodatno pogoršaju stanje, jer šećer predstavlja samo izvor energije koji dovodi do pojave oksidativnog i energetskog stresa, a time povećava prijemčivost na patogene, posebno nozemu, koja je pre svega energetski parazit (revijalno prikazano u Stanimirovic i sar., 2019; Jovanovic i sar., 2021). Imajući na umu sve ovo, kao i činjenicu da ne postoji adekvatan i potpuno bezbedan način za suzbijanje nozeme, sve češće se u košnice dodaju aditivi u prihrani pčela. Stoga je od ogromnog značaja pronalazjenje i testiranje novih preparata koji će, rešavajući nutritivne nedostatake, imati pozitivan efekat na nozema infekciju.

Mi smo u kaveznom eksperimentu ispitivali potencijalne efekte aditiva na preživljavanje, količinu spora, nivo oksidativnog stresa i ekspresiju gena značajnih za imunitet kod pčela inficiranih sa *N. ceranae*.

Rezultati preživljavanja pčela pokazali su da je ishrana pčela inficiranih sporama *N. ceranae* uz dodatak bilo kog od četiri testirana suplemena: Beewell AminoPlus, Medenko forte i ekstrakti gljiva *Agaricus blazei* i *A. bisporus* povećala preživljavanje pčela dokazujući protektivni efekat aditiva nakon preventivne (prihrana pre infekcije) i primene istovremeno sa infekcijom (Glavinić, 2019; Glavinic i sar., 2017; 2021a; 2021b). Kada je u pitanju broj spora nozeme, u svim grupama koje su inficirane i hranjene uz dodatak nekog od preparata, broj spora nozeme bio je statistički značajno niži u odnosu na kontrolnu (inficiranu) grupu, kako kod pčela žrtvovanih 9. dana tako i kod onih koje su žrtvovane 15. dana.

Aktivnosti svih antioksidativnih enzima (CAT, GST i SOD) kod pčela koje su u ishrani dobijale preparat Medenko forte bile su u gotovo svim slučajevima niže u odnosu na kontrolnu inficiranu grupu, naročito na kraju eksperimenta (15. dana). Poznato je da je ekstrakt hrastove kore, koji je jedan od glavnih sastojaka preparata Medenko forte, bogat fenolnim jedinjenjima nazvanim tanini. Ovi fenoli velike molekulske mase imaju dovoljan broj hidroksi grupa koje formiraju komplekse sa proteinima, celulozom i nekim mineralima i na ovaj način sprečavaju pojavu dijareje izazvanu nozemom kod pčela (Gajger i sar., 2011), što u velikoj meri ima blagotvoran efekat po inficirane pčele. Osim ekstrakta hrastove kore, preparat Medenko forte sadrži i ekstrakte pelena koji, takođe, ima dokazani antinozematozni efekat (Glavinić, 2019).

Rezultat nivoa ekspresije gena kod pčela koje nisu bile inficirane, a u ishrani su dobijale suplement, pokazali su da su nivoi gena za defenzin, himenoptecin,

apidecin i vitelogenin značajno bili viši u poređenju sa svim ostalim grupama, a posebno kontrolnom inficiranom grupom. Osim u odnosu na ove grupe, nivo ekspresije gena za defenzin, himenoptecin i apidecin bio je značajno niži u inficiranoj grupi u odnosu većinu grupa koje su inficirane, ali su u ishrani dobijale neki od aditiva. Ovi rezultati su u skladu sa ranijim rezultatima supresije gena značajnih za imunitet pod uticajem *N. ceranae* (Glavinic i sar., 2017). Rezultati nivoa ekspresije gena i sprečavanje supresije indukovane nozemom govore o postizanju ravnoteže između brzine aktiviranja odbrambenih mehanizama i sposobnosti očuvanja energije (Glavinic i sar., 2017). Kod pčela hranjenih uz dodatak preparata Medenko forte u većini slučajeva je dokazana povećana ekspresija u odnosu na inficiranu grupu. Nivoi ekspresije gena značajnih za imunitet u grupi koja nije bila inficirana, ali je dobijala preparat Medenko forte bili su ispod nivoa zabeleženih u grupama inficiranim i tretiranim ovim suplementom (Glavinić, 2019). Ovaj nalaz ukazuje na manji imunostimulativni efekat preparata Medenko forte u poređenju sa drugim testiranim aditivima, odnosno dokazuje značajniji antinozematozni nego imunostimulativni efekat, što se može videti i na osnovu rezultata broja spora *N. ceranae* na kraju eksperimenta i rezultata o nivoima oksidativnog stresa (Glavinić, 2019). Antinozematozni efekat ekstrakta hrastove kore koji se nalazi u preparatu Medenko forte dokazan je i u ranijim istraživanjima (Glavinić, 2019), u kojima je on objašnjen efektom stimulisanja produkcije i sekrecije sluzi u epitelnim ćelijama, čime se oblaže peritrofnu membrana i formira zaštitni sloj. Na ovaj način smanjuje se broj inficiranih ćelija srednjeg creva pčele, redukujući količinu nozeme u pčelama, a samim tim i njen štetni efekat.

Beewell AminoPlus je preparat veoma je bogat amino-kiselinama i vitaminima, te je njegov veći imunostimulativni nego antinozematozni efekat očekivan. Preporuka proizvođača je da se ovaj preparat kao dopuna ishrani daje početkom zime u cilju poboljšanja zdravlja društava tokom zime. Međutim, ovo može izazvati neželjene efekte, kao što je u eksperimentima u kojima je prirodni polen dodavan kao prihrana pčela u jesen izazvao produženi uzgoj legla koji nije prirodan i može biti problematičan za društva (Glavinic i sar., 2017; Glavinić, 2019). Rezultati aktivnosti GST i CAT i koncentracija MDA kao antioksidativnih parametara kod pčela koje su hranjene uz dodatak preparata Beewell AminoPlus dosta su bili nekonzistentni. Ovaj nalaz može se objasniti kao pokušaj organizma da savlada infekciju *N. ceranae* produkcijom ROS, a zatim ulaskom u situaciju oštećenja sopstvenog tkiva, aktiviranjem antioksidativnih (zaštitnih) mehanizama kako bi se oštećenje tkiva sprečilo. Međutim, aktivnost SOD imala je homogene vrednosti iz kojih se jasno vidi najviši nivo oksidativnog stresa u kontrolnoj inficiranoj grupi, kao i najniži u grupi koja nije inficirana, a hranjena je uz dodatak preparata Beewell AminoPlus, što ukazuje na njegov antioksidativni potencijal kod nozematoznih pčela. Osim toga, dobijeni rezultati imunoprotektivnog efekta ovog aditiva veoma bogatog amino-kiselinama i vitaminima koje se lako apsorbuju, govore da on omogućava postizanje sličnih efekata kao fermentisana poliflorna ishrana

ili perga (prirodna visoko proteinska hrana za pčele), odnosno ima bolje efekte u odnosu na druge veštački sintetisane proteinske aditive (Glavinc i sar., 2017).

Nivoi ekspresije gena značajnih za imunitet kod pčela žrtvovanih 15. dana pokazali su izraženi imunostimulativni efekat ekstrakata gljiva *A. blazeri* i *A. bisporus* u grupama pčela koje su njima hranjene, a nisu bile inficirane sporama *N. ceranae* (Glavinc 2019; Glavinc i sar., 2021a; 2021b). Nivoi ekspresije većine gena kod grupa koje su osim infekcije nozemom hranjene uz dodatak ekstrakata, ukazuju na njegov pozitivan uticaj u sprečavanju supresije izazvane nozemom. Nivoi navedenih gena bili su između suprimiranih vrednosti (zabeleženih kod pčela iz kontrolne inficirane grupe) i zabeleženih visokih vrednosti u kontrolnim tretmanskim grupama (neinficiranim a hranjenim uz dodatak ekstrakata pečuraka). Osim toga, aktivnosti antioksidativnih enzima (SOD, GST i CAT) uglavnom su bile najniže u ovim grupama, što ukazuje na odsustvo oksidativnog stresa, koji je, nasuprot tome, zabeležen u kontrolnoj inficiranoj grupi (naročito aktivnost SOD i CAT). Vodeni ekstrakti gljiva iz roda *Agaricus* koji su korišćeni u ovim istraživanjima bogati su polisaharidima i imaju dokazan antioksidativni efekat (Glavinc i sar., 2021a; 2021b). Istraživanja u kojima su korišćeni ekstrakti algi za tretman nozematoznih pčela, takođe bogati polisaharidima, pokazala su pozitivan efekat na nozemom inficirane pčele (Roussel i sar., 2015). Ovaj efekat objašnjen je inhibicijom adhezije mikrosporidija za ciljne ćelije (Roussel i sar., 2015). Naime, sulfatni glikani iz ekstrakata (npr. heparin, hondroitin sulfat, mucin, dekstran sulfat i dr.) inhibiraju adheziju mikrosporidija za ćelije domaćina i na ovaj način smanjuju količinu inficiranih ćelija, a samim tim i stepen infekcije (Roussel i sar., 2015). Međutim, posmatrajući broj spora u grupama koje su tretirane fumagilinom i grupama koje su dobijale ekstrakt uviđa se nešto manji stepen infekcije nakon tretmana fumagilinom. Sličan nalaz imali su i Roussel i sar. (2015) koji to objašnjavaju činjenicom da blokada adhezije nozeme sulfatnim glikanima ne sprečava autoinfekciju koja se javlja sekundarno između nozemom inficiranih ćelija i susednih ćelija srednjeg creva pčela, odnosno da je pomenuta blokada nešto manje efikasna u odnosu na inhibiciju rasta nozeme fumagilinom (Roussel i sar., 2015). Međutim, imajući u vidu sve štetne efekte koje upotreba antibiotika fumagilina sa sobom nosi, dokazani protektivni efekat ekstrakata gljiva iz roda *Agaricus* predstavlja ogroman potencijal koji treba dodatno istražiti i raditi na kreiranju komercijalnih preparata za kontrolu nozeme.

Zahvalnica:

Rad je podržan sredstvima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije u okviru projekta evidencioni br. III46002 kojim rukovodi prof. dr Zoran Stanimirović i Ugovorom o realizaciji i finansiranju naučnoistraživačkog rada Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu (Ugovor br: 451-03-9/2021-14).

LITERATURA

1. Costa C, Lodesani M, Maistrello L, 2010, Effect of thymol and resveratrol administered with candy or syrup on the development of *Nosema ceranae* and on the longevity of honeybees (*Apis mellifera* L.) in laboratory conditions. *Apidologie*, 41: 141-150.
2. Formato G, Rivera-Gomis J, Bubnic J, Martín-Hernández R, Milito M, Croppi S and Higes M, 2022, Nosemosis Prevention and Control. *Applied Sciences*, 12(2), p.783.
3. Gajger IT, Kozaric Z, Berta D, Nejedli S, Petrincic Z, 2011, Effect of the herbal preparation Nozevit on the mid-gut structure of honey bees (*Apis mellifera*) infected with *Nosema sp.* spores. *Veterinarni medicina* 56, 343–350.
4. Glavinic U, Stevanovic J, Gajic B, Simeunovic P, Đuric S, Vejnovic B, Stanimirovic Z, 2014, *Nosema ceranae* DNA in honey bee haemolymph and honey bee mite *Varroa destructor*. *Acta Veterinaria* 64, 349-357.
5. Glavinic U, Stankovic B, Draskovic V, Stevanovic J, Petrovic T, Lakic N, Stanimirovic Z, 2017, Dietary amino acid and vitamin complex protects honey bee from immunosuppression caused by *Nosema ceranae*. *PLoS ONE* 12, e0187726
6. Glavinic U, 2019, Uticaj različitih antimikrobnih preparata i aditiva na ekspresiju gena značajnih za imunitet, oksidativni stres i preživljavanje pčela *Apis mellifera* inficiranih mikrosporidijom *Nosema ceranae*, *Doktorska disertacija*, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu.
7. Glavinic U, Rajkovic M, Vunduk J, Vejnovic B, Stevanovic J, Milenkovic I, Stanimirovic Z, 2021, Effects of *Agaricus bisporus* mushroom extract on honey bees infected with *Nosema ceranae*. *Insects*, 12, 915.
8. Glavinic, Stevanovic J, Ristanic M, Rajkovic M, Davitkov D, Lakic N, Stanimirovic Z, 2021, Potential of fumagillin and *Agaricus blazei* mushroom extract to reduce *Nosema ceranae* in honey bees. *Insects*, 12, 282.
9. Maistrello L, Lodesani M, Costa C, Leonardi F, Marani G, Caldon M, Mutinelli F, Granato A, 2008, Screening of natural compounds for the control of nosema disease in honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie* 39, 436–444.
10. Martín-Hernández R, Bartolomé C, Chejanovsky N, Le Conte Y, Dalmon A, Dussaubat C, García-Palencia P, Meana A, Pinto MA, Soroker V, Higes M, 2018, *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years postdetection perspective. *Environ. Microbiol.* 20, 1302-1329.
11. Shumkova R, Balkanska R and Hristov P, 2021, The Herbal Supplements NOZEMAT HERB® and NOZEMAT HERB PLUS®: An Alternative Therapy for *N. ceranae* Infection and Its Effects on Honey Bee Strength and Production Traits. *Pathogens*, 10, p.234.
12. Simeunovic P, Stevanovic J, Cirkovic D, Radojicic S, Lakic N, Stanicic L, Stanimirovic Z, 2014, *Nosema ceranae* and queen age influence the reproduction and productivity of the honey bee colony. *J Apicult Res*, 53, 545-554.
13. Stanimirovic Z, Stevanovic J, Bajic V, Radovic I, 2007, Evaluation of genotoxic effects of fumagillin (dicyclohexylamine) by cytogenetic tests in vivo. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 628, 1–10.
14. Stanimirovic Z, Glavinic U, Ristanic M, Aleksic N, Jovanovic NM, Vejnovic B, Stevanovic J, 2019, Looking for the causes of and solutions to the issue of honey bee colony losses. *Acta Vet.* 69, 1–31.
15. Stevanovic J, Stanimirovic Z, Genersch E, Kovacevic RS, Ljubenkovic J, Radakovic M, Aleksic N, 2011, Dominance of *Nosema ceranae* in honey bees in the Balkan countries in the absence of symptoms of colony collapse disorder. *Apidologie*, 42:49-58.
16. Stevanovic J, Simeunovic P, Gajic B, Lakic N, Radovic D, Fries I, Stanimirovic Z, 2013, Characteristics of *Nosema ceranae* infection in Serbian honey bee colonies. *Apidologie*, 44:522-536.
17. Stevanovic J, Schwarz RS, Vejnovic B, Evans JD, Irwin RE, Glavinic U, Stanimirovic Z, 2016, Species-specific diagnostics of *Apis mellifera* trypanosomatids: a nine-year survey (2007-

- 2015) for trypanosomatids and microsporidians in Serbian honey bees. *J Invertebr Pathol*, 139:6-11.
18. Roussel M, Villay A, Delbac F, Michaud P, Laroche C, Roriz D, El Alaoui H, Diogon M, 2015, Antimicrosporidian activity of sulphated polysaccharides from algae and their potential to control honeybee nosemosis. *Carbohydrate polymers* 133, 213-220.
19. Van den Heever JP, Thompson TS, Otto SJG, Curtis JM, Ibrahim AA, Pernal SF, 2016a, Evaluation of Fumagillin-B® and other potential alternative chemotherapies against *Nosema ceranae*-infected honeybees (*Apis mellifera*) in cage trial assays. *Apidologie* 47, 617-630.
20. Van den Heever JP, Thompson TS, Otto SJ, Curtis JM, Ibrahim A, Pernal SF, 2016b, The effect of dicyclohexylamine and fumagillin on *Nosema ceranae*-infected honey bee (*Apis mellifera*) mortality in cage trial assays. *Apidologie* 47, 663-670.

ADVANCES IN *Nosema ceranae* CONTROL

**Uroš Glavinić, Marko Ristanić, Nemanja M. Jovanović, Milan Rajković,
Mia Niketić, Jevrosima Stevanović, Zoran Stanimirović**

The microsporidian *Nosema ceranae* is an obligate intestinal parasite of the honey bee (*Apis mellifera*). It causes nosemosis and, depending on the infection level and the strength of the infected bee colonies, causes significant health disorders, including malfunction of reproductive and productive capabilities of bees. The antibiotic fumagillin was the only drug available for *Nosema* control for many years. However, use of fumagillin has been questioned due to the drawbacks related to its efficacy, bee mortality and the presence of residues in bee products. Studies aimed to find alternatives for *Nosema* control are being conducted worldwide. In this paper, our results related to diet supplements based on natural/plant extracts (Medenko forte and extracts of *Agaricus blazei* and *A. bisporus*), thymol and vitamin-mineral additive (BEEWELL AminoPlus) are presented. Bees were treated with these supplements and fumagillin (control treatment) and gene expression levels (important for bee immunity), as well as oxidative stress parameters were assessed. In order to determine adequate time for application, all supplements were applied preventively (three days before infection), at the time of infection, as well as three days after *N. ceranae* infection. In uninfected bees, fumagillin demonstrated adverse effects when applied prophylactically. In *Nosema*-infected bees, tested supplements mainly contributed to the decrease of *N. ceranae* spore levels, but also exhibited a protective effect based on level of immune-related gene expression and parameters of oxidative stress.

Keywords: gene expression, diet supplements, fumagillin, honey bee, *Nosema ceranae*, oxidative stress

**Organizaciju XLIII simpozijuma za inovacije znanja veterinara,
finansijski su podržale sledeće organizacije i preduzeća:**

Pokrovitelj

Ministarstvo poljoprivrede šumarstva i vodoprivrede – Uprava za veterinu
uz podršku Veterinarske komore Srbije

Veliki sponzori:

Ave & Vetmedic
Aevum pet care
Kinološki savez Srbije
Veterinarski institut dr Vaso Butozan

Sponzori:

VSI Kraljevo
VSI Jagodina
Naučni institut za veterinarstvo Srbije
Institut za higijenu u tehnologiju mesa
Marlofarma
Promedia
Vivogen
VS Bujanovac
Veterinarski zavod Subotica
Hrana produkt
Superlab
VSI Šabac
Naučni institut za veterinarstvo Novi Sad
UVPS
VSI Niš
Krka Farma
Fishcorp 2000 feed
Evrolek
Zoolek
Biochem Balkan
VSI Subotica
VSI Sombor
VS Mladenovac
Naturavitalis
VSI Pančevo
VSI Zaječar
Lusa vet
Royal Vet
VSI Požarevac
Primavet

CIP - Каталогизација у публикацији - Народна библиотека Србије, Београд

636.09(082)

СЕМИНАР за иновације знања ветеринара (43 ; 2022 ; Београд)

Zbornik predavanja XLIII Seminara za inovacije znanja veterinara, Beograd, [25.02.2022.] / [urednik Dragan Gvozdić]. - Beograd : Fakultet veterinarske medicine, Centar za izdavačku delatnost i promet učila, 2022

(Beograd : Naučna KMD). - [7], 205 str. : ilustr. ; 24 cm

Na vrhu nasl. str.: Univerzitet u Beogradu. - Tiraž 450. - Str. [3]: Predgovor / Milorad Mirilović, Danijela Kirovski. - Bibliografija uz svaki rad. - Summeries. - Registar.

ISBN 978-86-80446-46-2

а) Ветерина - Зборници

COBISS.SR-ID 58357769