

Analiza populacija velikog voskovog moljca *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) geometrijskom morfometrijom

Radan, Vinko

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:692643>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**ANALIZA POPULACIJA VELIKOG VOSKOVOG MOLJCA
Galleria mellonella (LINNAEUS, 1758)
GEOMETRIJSKOM MORFOMETRIJOM**

ZAVRŠNI RAD

Vinko Radan

Zagreb, rujan, 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Preddiplomski studij:
Fitomedicina

**ANALIZA POPULACIJA VELIKOG VOSKOVOG MOLJCA
Galleria mellonella (LINNAEUS, 1758)
GEOMETRIJSKOM MORFOMETRIJOM**

ZAVRŠNI RAD

Vinko Radan

Mentor: dr. sc. Helena Virić Gašparić

Zagreb, rujan, 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Vinko Radan**, JMBAG 0125166538, izjavljujem da sam samostalno izradio završni rad pod naslovom:

**ANALIZA POPULACIJA VELIKOG VOSKOVOG MOLJCA *Galleria mellonella* (LINNAEUS, 1758)
GEOMETRIJSKOM MORFOMETRIJOM**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Završni rad studenta **Vinka Radana**, JMBAG 0125166538, naslova

**ANALIZA POPULACIJA VELIKOG VOSKOVOG MOLJCA *Galleria mellonella* (LINNAEUS, 1758)
GEOMETRIJSKOM MORFOMETRIJOM**

mentor je ocijenio ocjenom _____.

Završni rad obranjen je dana _____ pred povjerenstvom koje je prezentaciju

ocijenilo ocjenom _____, te je student postigao ukupnu ocjenu¹

_____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. dr. sc. Helena Virić Gašparić, mentor _____

2. izv. prof. dr. sc. Darija Lemić, član _____

3. doc. dr. sc. Saša Prđun, član _____

¹ Ocjenu završnog rada čine ocjena rada koju daje mentor (2/3 ocjene) i prosječna ocjena prezentacije koju daju članovi povjerenstva (1/3 ocjene).

Zahvala

Zahvaljujem svojoj mentorici dr. sc. Heleni Virić Gašparić na strpljenju i velikoj pomoći pri izradi završnog rada što je omogućilo uspješan dovršetak preddiplomskog studija. Zahvalio bih se profesorici Dariji Lemić na detaljnem objašnjenju metodologije rada. Hvala docentu Saši Prđunu na korisnim savjetima iz pčelarstva.

Sadržaj

1.	Uvod	1
1.1.	Cilj rada.....	2
2.	Pregled literature	3
2.1.	Povijest pčelarstva.....	3
2.2.	Pčelarstvo na području Republike Hrvatske	4
2.3.	Najvažniji štetnici u pčelarstvu.....	6
2.4.	Veliki voskov moljac.....	10
2.5.	Geometrijska morfometrija u istraživanju velikog voskovog moljca.....	15
3.	Materijali i metode	17
4.	Rezultati	22
5.	Rasprava.....	25
6.	Zaključci.....	27
7.	Popis literature	28
	Životopis	32

Sažetak

Završnog rada studenta **Vinka Radana**, naslova

ANALIZA POPULACIJA VELIKOG VOSKOVOG MOLJCA *Galleria mellonella* (LINNAEUS, 1758) GEOMETRIJSKOM MORFOMETRIJOM

Veliki voskov moljac (*Galleria mellonella*) jedan je od najvažnijih štetnika pčelinjih zajednica posebno na saćima pohranjenim izvan pčelarske sezone. Ošteće sače i dijelom neizgrađenu satnu osnovu, pčelinju pelud i drvene dijelove košnice. Također prenose razne patogene. Napadi voskova moljaca najčešći su u ranoj jeseni i kasnom proljeću. Cilj ovog rada bio je analizom oblika krila utvrditi razlike između populacija voskova moljaca prikupljenih iz konvencionalne i ekološke proizvodnje na području Hrvatske. U tu svrhu korištene su metode geometrijske morfometrije. Provedene su analize glavnih komponenti (PCA) i kanonijska diskriminantna analiza (CVA). Ukupno je analizirano 135 uzoraka krila približno podjednakog omjera mužjaka i ženki (48 : 52 %). Na krila voskova moljaca postavljeni su specifični markeri; 12 na donja i 11 na gornja krila. Nije utvrđena varijabilnost između spolova, odnosno spolni dimorfizam što ukazuje na stabilne populacije. Nadalje, razlike u agroekološkim uvjetima i tipovima proizvodnje ne utječu značajno na varijabilnost populacija, što sugerira prisutnost fenotipske plastičnosti te sposobnost prilagodbe novim staništima uz stabilne genotipove. Utvrđena je varijabilnost u veličini gornjih krila, osobito kod ženki s područja Zadra. Ovakav nalaz upućuje na potencijalne razlike između kopnenih i obalnih populacija, što može dati ovoj vrsti konkurentske prednosti pri širenju na nova područja. Dodatna istraživanja pomoću geometrijske morfometrije na vrsti *G. mellonella* mogla bi bolje osvijetliti povezanost između morfologije krila i prilagodljivosti, pružajući tako bolje temelje za razvoj strategija kontrole te sprječavanje širenja na nova okruženja.

Ključne riječi: CVA, *Galleria mellonella*, geometrijska morfometrija, PCA, pčelarstvo

Summary

Of the final work – student **Vinko Radan**, entitled

ANALYSIS OF POPULATIONS OF THE GREATER WAX MOTH *Galleria mellonella* (LINNAEUS, 1758) USING GEOMETRIC MORPHOMETRICS

The Greater Wax Moth (*Galleria mellonella*) is one of the most important pests of bee colonies, especially on combs stored outside the beekeeping season. It damages the comb and partly the undrawn comb foundation, bee pollen, and wooden parts of the hive. They also transmit various pathogens. Wax moth attacks are most common in early autumn and late spring. The aim of this study was to determine differences between populations of wax moths collected from conventional and organic production in Croatia using wing shape analysis. Geometric morphometrics methods were used for this purpose. Principal component analyses (PCA) and canonical discriminant analysis (CVA) were conducted. A total of 135 wing samples were analyzed, approximately with an equal ratio of males to females (48 : 52%). Specific markers were placed on the wax moth wings; 12 on the lower and 11 on the upper wings. No variability was found between sexes, that is, sexual dimorphism, indicating stable populations. Furthermore, differences in agroecological conditions and types of production do not significantly affect population variability, suggesting the presence of phenotypic plasticity and the ability to adapt to new habitats with stable genotypes. Variability in the size of the upper wings was observed, especially in females from the Zadar area. This finding suggests potential differences between inland and coastal populations, which can give this species a competitive advantage when spreading to new areas. Further research using geometric morphometrics on the *G. mellonella* species could better elucidate the connection between wing morphology and adaptability, thus providing a better foundation for the development of control strategies and preventing the spread to new environments.

Keywords: CVA, *Galleria mellonella*, geometric morphometrics, PCA, beekeeping

1. Uvod

Pčelarstvo na našim prostorima ima dugu tradiciju. U najstarijim zapisima (Vinodolski zakonik) češće se spominju podaci o medu, te voštanica (svijećama), nego o samom pčelarenju. U srednjem vijeku vosak i med služili su kao vrlo vrijedan resurs razmjene i trgovine. Tako je u Dubrovniku, još u 15. stoljeću postojala radionica koja je izrađivala voštanice nazvana „voskovarnicom“ (Medved, 2022.). Pčelarska oprema, oblik košnica, kao i sam način pčelarenja isti je i nepromijenjen već stoljećima. U zapisu iz 1905. godine navedeno je da se Hrvatskoj nalazi 96 000 košnica. (Belčić i sur., 1990.). Prema podacima iz 2007. godine pčelarstvo nije bilo ravnomjerno ni adekvatno raspoređeno cijelim teritorijem države; 2007. u Hrvatskoj je registrirano 313 978 pčelinjih zajednica, 76 % toga broja u panonskoj regiji, 19 % na Mediteranu, te samo 5 % u Gorskem Kotaru i Lici (Svečnjak, 2008.). Noviji podaci iz 2018. godine govore o 372 002 pčelinjih zajednica, na 7283 registriranih pčelara, od čega je najveći broj pčelara (10,7%) zabilježen u Splitsko-Dalmatinskoj županiji, a najmanji u Ličko-Senjskoj (2,16%). (MP, 2018.).

Većina pčelara učlanjena je u lokalne pčelarske zadruge, a većinu zadruga obuhvaća Hrvatski pčelarski savez. Prema podacima Hrvatskog pčelarskog saveza iz 2018. godine, 41,5 % pčelara ima do 30 zajednica, 55 % 31 do 150, te samo 3,5 % pčelara više od 150 zajednica. Godišnja proizvodnja meda, kao i vrste meda (iz različitih paša) ovise o godišnjim vremenskim prilikama i samim biljkama dostupnima dometu pojedine košnice; procjena iz 2018. govori o godišnjem prosječnom prinosu od 20 kg meda po košnici (Hrvatski pčelarski savez, 2018.).

Veliki voskovi moljci, *Galleria mellonella*, (Linneaus, 1758.), važni su štetnici koji na našim prostorima, ali i u cijelom svijetu, štete pčelinjim zajednicama. Za život i razvoj same zajednice nisu štetni kao bolest koju uzrokuje grinja *Varroa destructor*, no mogu uzrokovati razne štete, kako na voštanim bazama okvira, tako i na drvenim dijelovima košnice. Moljci kopuliraju ubrzo po izlasku odraslog oblika iz kukuljice, a mužjaci su ti koji privlače ženku proizvođenjem zvučnih, ultrasoničnih signala koji pospješuju lučenje feromona i lakši pronalazak spolova (Ellis, Graham i Mortensen, 2013.). Ženka za odraslog života obično položi oko 700 jaja u rupe u vosku ili drvenim dijelovima košnice (Ferguson, 1978.). Odrasli oblici se ne hrane, te žive od 12 (ženke) do 21 (mužjaci) dan. Najštetniji su u stadiju gusjenice, jer se tada hrane voskom i pripremaju za kukuljenje te pri tome rade par vrsta šteta unutar košnice. Štete na voštanim okvirima očituju se kada moljci skidaju voštane poklopce komorica u kojima se nalaze ličinke pčela, čime leglo postaje izloženo te ličinka pčele ugiba. Kod jačih zaraza mogu pojesti i cijeli vosak sa pojedinog okvira. Još jedna od direktnih šteta za pčelinju zajednicu je i ta što moljci obavljaju defikaciju unutar košnice, što utječe na zdravlje cjelokupne zajednice. Kako se približava vrijeme kukuljenja, moljci kreću dubiti rupe u drvenim stijenkama košnice u koje će se kasnije smjestiti kukuljica u ispletrenom kokonu. Oštećenja nalikuju plitkim kanalićima u obliku lađice. Štete nanose i okvirima uskladištenim izvan košnice pri čemu lakše dolaze do voska (Ellis, Graham i Mortensen, 2013.).

Morfometrija se definira kao „istraživanje problema oblika i veličine morfoloških cjelina korištenjem statističkih metoda, na osnovi podataka dobivenih mjerjenjima“ (Rohlf, 1990.).

Prema Oxnardovom radu iz 1978., podaci se dobivaju mjerjenjem morfometrijskih varijabli, odnosno dužinskih karakteristika i mjerjenjem udaljenosti između točno definiranih, specifičnih točaka jedne morfološke cjeline. Drugim riječima; princip metode leži u označavaju unaprijed određenih točaka markerima, koje se na svakoj pojedinoj analiziranoj jedinki nalaze na istim mjestima. Uz dovoljno velik uzorak uočavaju se fenotipske promjene u populaciji ili razlike između dvije ili više populacija iste vrste (intraspecijska varijabilnost). Dobivene točke smještaju se u 2D ili 3D koordinatne sustave zbog vizualizacije rezultata. Morfometrijske analize obično uključuju mjerjenje različitih kostiju ili cijelog skeleta organizma, položaja i rasporeda stigmi na abdomenu ili nervature krila kukaca. Specifičnost ove metode očituje se u svojoj izrazitoj „statističkoj osjetljivosti“, odnosno omogućava uočavanje vrlo malenih promjena u fenotipskim karakteristikama (Klingenberg, 2011.). U geometrijskoj morfometriji postoje metodološki i konceptualno različiti pristupi analizama, a najčešći je već spomenuta analiza točaka u 2D koordinatnom sustavu (Adams i sur. 2004.).

1.1. Cilj rada

Cilj rada je analizom oblika krila utvrditi razlike između populacija voskovih moljaca prikupljenih iz konvencionalne i ekološke proizvodnje na području Hrvatske.

2. Pregled literature

2.1. Povijest pčelarstva

Pčelarstvo je oduvijek bilo asocirano s magijom i magičnim obredima. Prema egipatskoj mitologiji, kad je drevni egipatski bog Sunca Ra plakao, njegove suze bi se, dodirnuvši tlo, pretvorile u pčele koje proizvode med. Zbog toga je pčela bila sveta u drevnoj egipatskoj kulturi. Od umjetnosti koja prikazuje pčele na zidovima hramova do upotrebe pčelinjeg voska kao ljekovite masti, pčela je bila sveprisutni kulturni motiv u drevnom Egiptu zbog njene veze s bogom Sunca (Kritsky, 2015.). U Hrvatskoj folklornoj tradiciji pčela se smatrala Božjim stvorenjem koje ne ugiba kao ostale domaće životinje, već umire. U narodu se vjerovalo da će pčelara pratiti sreća ako jedan roj dobije na poklon, drugi nađe, a treći ukrade. Vjerovalo se da će pčele biti zaštićene od djelovanja zlih sila ako se na pčelinjak stavi životinska lubanja, kosti ili rog te da će rojenje biti uspješnije i brže ako pčelarova žena sjedne golim tijelom na zemlju (Hrvatska enciklopedija, 2021.).

Prvi put se pčelarstvo spominje u Vinodolskom zakoniku na našim prostorima. Prema Belčić i sur. (1955.) početkom 20. stoljeća se na području Hrvatske nalazilo 96 000 košnica. Postoji i dokument iz 1211. godine, o pčelarstvu na području Banovine, kojim kralj Andrija II. izdaje samostanu u Topuskom ispravu u kojoj pripisuje dohotke koji uključuju med. Ti dohotci plaćani u medu bili su namijenjeni opskrbi vojnih postrojbi i posada u petrinjskom kraju (Franić i sur., 2020.). Vosak je bio iznimno cijenjen i vrijedan pčelinji proizvod, nadmašujući med po važnosti sve do kraja 19. stoljeća. U srednjem vijeku se često koristio kao način plaćanja dugova. Izvoz voska bio je uobičajen prema Veneciji i Papinskoj Državi. Voštane svijeće izrađivane su u različitim oblicima, često povezanim s određenim običajima. Primjerice, u Dubrovniku je postojala „voskovarnica“, radionica za izradu voštanih i lojenih svijeća, već u 15. stoljeću. Vlada (Republika) bi svake godine sklapala ugovor s majstorima svjećarima i regulirala cijene voska, loja i samih svijeća. Čak su i ljekarnici u Dubrovniku bili uključeni u proizvodnju svijeća. Kraljica Marija Terezija je 1775. godine izdala "Patent o pčelarstvu", kojim je postavila smjernice za širenje i unapređenje pčelarstva u svim dijelovima monarhije. Terezija je zatražila od Kraljevskog vijeća za Hrvatsku, Slavoniju i Dalmaciju da imenuje učitelja pčelarstva na tom području. Prvi učitelj pčelarstva imenovan je 1770. godine, a bio je Anton Gruber iz Varaždina. Gruber je obnašao tu dužnost u Varaždinskoj, Zagrebačkoj i Križevačkoj županiji (Medved, 2022.).

Broj pčelinjih zajednica na našem području te količinu voska i proizvodnju meda, detaljno je pratio austrijski statističar Demian u razdoblju od 1801. do 1806. godine. O proizvodnji meda i pčelarenju objavljeno je mnogo članaka u tadašnjem časopisu „Banovcu“, lokalnom časopisu koji je izlazio od 1888. do 1912. godine (Hrvatska enciklopedija, 2021.). Ljudi su u davnini, prije kultivacije pčelinjih zajednica, uzimali pčelama med iz dupli drveta, špilja ili rupa u stijenama te ga koristili kao hranu. Vosak se koristio za izradu svijeća voštanica, preradu kože, voštenje platna itd. (Hrvatska enciklopedija, 2021.). Osnivanjem naselja i agrarnom

revolucijom, počela je i kultivacija pčela, obično u izdubljenim panjevima, a kasnije u pletarama od pruća ili trstike, premazanih blatom. Takav dizajn bio je dobra zaštita od vremenskih uvjeta, no negativna mu je strana bila što bi pčelar na kraju sezone morao odstraniti ili ubiti zajednicu, najčešće dimom, kako bi skupio med te sezone. Takve stare košnice, kao što su pletare i daščare, zovu se košnice s nepokretnim saćem. Početkom 19. stoljeća dizajnirana je košnica sa pokretnim saćem, odnosno košnica sa okvirima (Hrvatska enciklopedija 2021.).

2.2. Pčelarstvo na području Republike Hrvatske

Pčelarstvo je grana poljoprivrede koje u ukupnoj strukturi stočarske proizvodnje sudjeluje sa 0,1 % (Grahovac, 2005.). Bavi se uzgojem pčelinjih zajednica od kojih dobivamo šest različitih pčelinjih proizvoda; med, vosak, matičnu mlječ, pelud, propolis i pčelinji otrov. Uz ovih šest proizvoda zajednice se mogu uzgajati u svrhu prodaje samih zajednica ili matica (Hrvatska enciklopedija, 2021.).

Prema podacima Ministarstva poljoprivrede (2023.) u Republici Hrvatskoj je zabilježeno 8900 pčelara koji skrbe o oko 530 000 pčelinjih zajednica. Među njima, 41,5 % pčelara posjeduje do 30 zajednica, 55 % ima između 31 i 150 zajednica, dok samo 3,5 % pčelara ima više od 150 zajednica. Godišnji prosječan prinos meda po košnici iznosi više od 20 kg.

Prema podacima Hrvatskog pčelarskog saveza iz 2007. godine, godišnja proizvodnja meda iznosila je 5000 tona, a potrošeno je tek 2000 tona. Iz Hrvatske je 2003. godine izvezeno 1051 tona meda, a 2007., 274 tone. Ovi podaci ukazuju na negativan trend, odnosno smanjenje ukupno izvezenog meda u tom četverogodišnjem periodu. Velik broj pčelara dio je lokalnih pčelarskih udruga. Sve lokalne pčelarske udruge i zadruge dio su Hrvatskog pčelarskog saveza. Najveći broj košnica, prema podacima Hrvatskog pčelarskog saveza iz 2018. godine, zabilježen je u Splitsko-Dalmatinskoj, a najmanji u Ličko-Senjskoj županiji (HPS, 2018.).

Područje Hrvatske bogato je raznim medonosnim biljem, kako livadnim, tako i šumskim. Raznolikost terena, klime i područja zaslužna je za stalnu pčelinju pašu, odnosno cvatnju bilja u različitim dobima godine. To se najbolje iskorištava pokretnim pčelinjacima i seljenjem košnica do aktualne paše. Same paše dijele se na one nektarne, te na mednu rosu ili medljikovac. Neke od najbitnijih godišnjih paša su: bagrem, lipa, kesten, ružmarin, lavanda, uljana repica itd. Medna rosa je izlučina lisnih i štitastih uši po biljkama, koja svojom slatkoćom i mirisom privlači pčele koje je sakupljaju (Hrvatska enciklopedija, 2021.).

Autohtona pasmina na području Hrvatske, koja se ujedno i koristi za proizvodnju meda, je siva pčela (slika 2.2.1.) (*Apis mellifera carnica* Pollman, 1879.), još poznata kao kranjska pčela, kranjica ili sivka koja se dijeli na tri morfološki, biološki i gospodarski prepoznatljiva ekotipa sive pčele: panonski, gorski i mediteranski ekotip (Svečnjak i sur., 2008.).

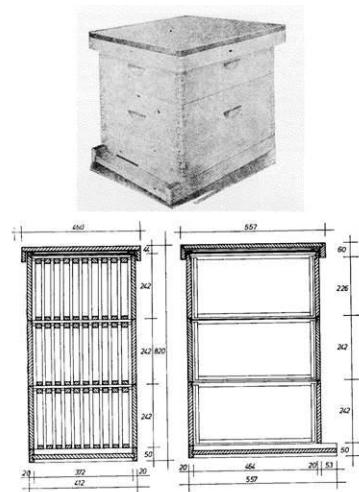


Slika 2.2.1. Siva pčela

Izvor: https://www.freepik.com/free-vector/bee-on-white_54158243.htm

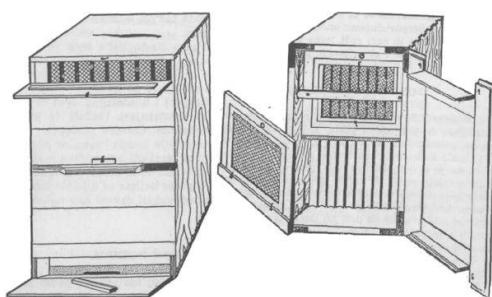
Potječe iz tropске Afrike, sjeverne Afrike, sjeverne Europe, Indije i Kine. Nakon kolonizacije Amerike proširila se diljem svijeta (Koning, 1994.). Ova pasmina veličinom je gotovo ista kao i tamna europska pčela (*Apis mellifera mellifera* Linnaeus, 1758), sa dužim rilom dužine od 6,5 do 6,7 mm. Cijenjena je zbog svoje urođene otpornosti na neke pčelinje bolesti i štetnike. Nije agresivna. Ova pasmina ima urođenu sposobnost prilagoditi veličinu zajednice količini nektara i peludi u prirodi (Karlović, 2005). Osim navedenih, na širem području europskog kontinenta nalazimo još dvije ekonomski značajne podvrste medonosne pčele: *Apis mellifera caucasica* Pollman, 1888. – kavkaska (tamna i žuta) medonosna pčela i *Apis mellifera ligustica* Spinola, 1806. – talijanska (žuta) medonosna pčela. Najveću raznolikost vrsta nalazimo na području Mediterana dok na staništima u planinskim područjima obitava najveći broj endemskih vrsta pčela (Hrvatska enciklopedija, 2021.).

U pčelarstvu se danas najčešće koriste dva osnovna tipa košnice; lisnjače i nastavljače. Lisnjače (Slika 2.2.3.) su jednodijelne košnice koje se otvaraju sa zadnje strane, koje se ne mogu proširivati dodavanjem nastavaka ili novih okvira, kao ni smanjivati. Matična rešetka stoji vodoravno i dijeli košnicu na dva dijela. Prednost ovog tipa košnice je što ih možemo ugrađivati u pokretne ili nepokretne paviljone. U Hrvatskoj se najviše koristi Alberti-Žnidaršićeva (AŽ) košnica (Hrvatska enciklopedija, 2021.). Nastavljače obuhvaćaju Langstroth-Rootove (LR) (Slika 2.2.4.) i Datant-Blatove košnica (slika 2.2.2.). Najčešće se slažu na dva nastavka, položena okomito, jedan na drugi. U donjem nastavku najčešće je namijenjen za leglo, a gornji je namijenjen spremanju paše (medište). Ovakav tip košnica možemo proširivati i smanjivati ovisno o dostupnoj paši i jačini zajednice, što je prednost nad košnicama AŽ tipa (Hrvatska enciklopedija, 2021.). Prema Svečnjak i sur. (2005.) od košnica sa pokretnim sačem, u Hrvatskoj uporaba tradicionalnih AŽ zauzima 49 %, standardnih LR 45 %, a udio drugih tipova košnica poput Farrar, Dadant - Blat, pološka, itd., je samo 6 %. Pčelarenje dijelimo na stacionarno i selidbeno pri čemu u Hrvatskoj prevladava stacionarno sa 62 % zastupljenosti u odnosu na selidbeni način pčelarenja (38 %) Dražić i sur. (2000.).



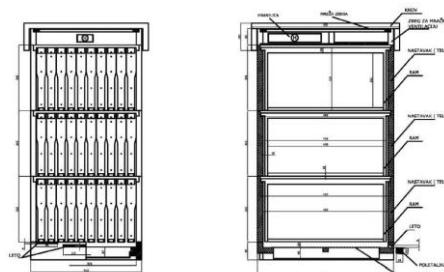
Slika 2.2.2. DB košnica; nastavljač

Izvor: <https://www.seminarski-diplomski.co.rs/Poljoprivreda/Izrada-kosnica-za-pcele.html>



Slika 2.2.3. AŽ košnica; lisnjača

Izvor: <https://svebas.com/konstrukcija-kosnice-alberti-znidersic-az/>



Slika 2.2.4. LR košnica: nastavljачa

Izvor: <https://svebas.com/langstrot-rut-kosnica-lr/>

2.3. Najvažniji štetnici u pčelarstvu

Pčelinja zajednica složen je organizam. Život u zajednici pridonosi širenju i prijenosu bolesti, kako između jedinki, tako i između zajednica. Kontrola bolesti unutar zajednice vrlo je složen proces. Svjetska organizacija za zdravlje životinja (OIE) ima popis najznačajnijih bolesti i štetnika pčelinjih zajednica, to su: američka gnjiloća legla, europska gnjiloća legla, kornjaš *Aethina tumida* Murray, 1867. (etinoza), grinje koje uzrokuju tropilelozu i varoozu, te voskovi moljci (Dražić, 2013.).

2.3.1. Američka gnjiloća pčelinjeg legla

Američka gnjiloća pčelinjeg legla je zarazna bolest poklopljenog i nepoklopljenog pčelinjeg legla uzrokovana je bakterijom *Paenibacillus larvae* var. *larvae* White, 1906. U sredini saća se obično nalazi najstarije leglo, pošto matica liježe jaja od sredine saća prema rubovima prema uzorku koji se može opisati kao širenje koncentričnih krugova. Poklopljeno leglo znači da su stanice saća u kojima se nalaze ličinke pčela poklopljene ili prekrivene izlučenim voskom (MP, 2014.). Vrlo brzo se razmnožava u ličinkama te ih ubija. U tijelu mrtve ličinke bakterija nema povoljne uvjete za razvoj te prelazi u trajni oblik endospore. Spore su izuzetno otporne, te mogu ostati infektivne više desetljeća. Uništavaju se kuhanjem u vodi u trajanju od 30 minuta, kao i sterilizacijom voska na temperaturi od 120 °C, također kroz 30 minuta. Bakterija ulazi hranom u probavni trakt nepoklopljenih ličinki. Iz crijeva prelazi u tkivo kada se ličinke krenu pružati. Odrasle pčele ne mogu oboljeti od ove bolesti. Dakle bolest je vidljiva na leglu koje je poklopljeno. Prvi simptomi mogu se uočiti tri tjedna nakon poklapanja legla; to su tamno smeđe mrlje na donjim rubovima poklopaca. Kod dužeg trajanja bolesti, može se uočiti mnogo nepravilno poklopljenih stanica legla. Na samom početku zaraze ličinka je svijetlo žuta, a nakon ugibanja propada i pretvara se u smeđu masu koja se razvlači u niti. Posljedično zajednica slabi. Bolest unutar zajednice prenose pčele radilice (hraniteljice), a između zajednica sami pčelari premještanjem zaraženih okvira. Oslabljene zajednice često su meta ostalim zajednicama te dolazi do grabeži (Dražić, 2013.). Ova se bolest smatra jednom od najtežih pčelinjih bolesti zbog visoke otpornosti spora uzročnika i posebnog načina suzbijanja bolesti (Tlak Gajger, 2017.).



Slika 2.3.1. Američka gnjiloća legla
Izvor: <https://upbehar.weebly.com/ameri268ka-gnjilo262a.html>

2.3.2. Europska gnjiloća pčelinjeg legla

Europska gnjiloća medonosne pčele je zarazna bolest koja se obično javlja u nepoklopljenom pčelinjem leglu. Glavni uzročnik bolesti je bakterija *Melissococcus plutonius* White, 1912., ali često se istodobno javljaju i drugi uzročnici sekundarnih infekcija, poput *Paenibacillus alvei* Cheshire i Cheyne, 1885. *Brevibacillus laterosporus* Laubach, 1996. ili

Enterococcus faecalis Andrewes i Horder, 1906. (Tlak Gajger, 2017.). Obolijevaju ličinke 3 - 4 dana starosti (Dražić, 2013.). Jedan od simptoma ove bolesti je smrt zaraženih pčelinjih ličinki neposredno prije nego što se stanica saća poklopi. Prethodno se mogu primijetiti specifični znakovi kao što su promjena položaja savijene ličinke, njezina "napuhnutost" ili jasno vidljive dušnice (Tlak Gajger, 2017.). Može se primijetiti i razlika pri čemu kiselasti miris osjetimo u slučaju zaraze sa *S. apis*, a miris pokvarena sira dolazi pri zarazi sa *P. alvei*. Može se dogoditi da ličinka ne ugine odmah, već se zakukulji što je slučaj kod zaraze sa *P. alvei*. Ostali simptomi slični su američkoj gnjiloći. Tijek zaraze, kao i kod američke gnjiloće, ovisi i o vanjskim čimbenicima. Neke od metoda saniranja bolesti su sužavanje plodišta, uklanjanje okvira s većinom propalog legla, dodavanje okvira sa zdravim poklopljenim leglom (Dražić, 2013.) te održavati zajednice u dobrom biološko-uzgojnem stanju (Tlak Gajger, 2017.).

2.3.3. Etinioza

Ovog kornjaša, latinskog imena *Aethina tumida* Murray, 1867. ili malog kornjaša košnice, smatra se ozbiljnom prijetnjom pčelarstvu. Njegovo širenje tema je mnogih istraživanja i praćenja. Na području Europe još nije prisutan, no proširio se područjem Australije i SAD-a (Dražić, 2013.). Kad uđe u košnicu hrani se leglom, peludom i medom te tako oslabljuje zajednice. U košnici se i razmnožava. Kada su uvjeti za razvoj povoljni, uništava sače i luči ekskremente u med koji tada fermentira i kvari se (Tlak Gajger, 2017.). Ako je napad velik, te ako je pčelar u nemogućnosti iskontrolirati ga, pčele napuštaju košnicu ili zajednica propadne. Ako se sumnja na zarazu, treba što prije obavijestiti Upravu za veterinarstvo i sigurnost hrane, koja propisuje mjere suzbijanja. Sve stadije koji se nađu unutar košnice dostaviti na identifikaciju u laboratorij. Uz sami uzorak štetnika, obavezno je dostaviti i osobne podatke, te lokaciju pčelinjaka s kojeg potječe zaraza. Kako bi se spriječila introdukcija na područje Europe, moraju se pratiti propisi Europske Unije o prometu pčelama i bumbarima (na snazi od 1. srpnja 2013. godine) (MP, 2021.).



© Feria

Slika 2.3.3. Mali kornjaš košnice
Izvor: <http://www.veterinarstvo.hr/default.aspx?id=1271>

2.3.4. Tropileloza

Ovu bolest uzrokuje grinja pod nazivom *Tropilaelaps clareae* Delfinado i Baker, 1962., a kao i prije navedeni štetnici, nametnik je legla. Glavni je neprijatelj velike azijske pčele (*Apis dorsata* Fabricius, 1793.), ali i na europskoj pčeli (*A. mellifera*) i mnogim drugim *Apis* vrstama. Grinja se hrani hemolimfom ličinki, a bez izvora hrane ne preživi više od dva dana. Napadnute zajednice slabe i propadaju nakon otprilike godinu dana. Još nije zabilježena u Europi. Dražić (2013.) navodi da bi pojava u umjerenom klimatu Europe prouzročila veće štete nego što to trenutno čini *Varroa destructor* Anderson i Trueman, 2000. Ima četiri para nogu, te izduženo, ne segmentirano tijelo. Oblikom tijela se jasno može razlikovati od grinja *V. destructor*, a i značajno je manja (0,7 do 1 mm dužine, te 0,5 do 0,7 mm širine). Razlika između *T. clareae* i *V. destructor*, prikazana je slikom 2.3.4. Morfološka istraživanja u laboratoriju su zahtjevna i složena, te je za njih neophodna uporaba optičke opreme i referentnih uzoraka. Prisutnost u košnici provjerava se pregledom podložaka na podnici košnice (Tlak Gajger, 2017.).



Slika 2.3.4. Usporedba veličina *V. destructor* (lijevo) i *Tropilelaps* spp. (desno)

Izvor: <https://beeinformed.org/2013/09/04/tropilaelaps-mites-part-2/>

2.3.5. Varooza

Uzročnik ove nametničke bolesti pčelinjih zajednica je grinja *Varroa destructor* Anderson i Trueman, 2000. Odrasla ženka živi na odraslim pčelama i siše hemolimfu, dok mlađi razvojni stadiji sišu hemolimfu pčelinjih kukuljica. Stoga se bolest očituje kako na leglu, tako i na odraslim pčelama. U slučaju ne tretiranja akaricidom nakon otkrivanja, zajednica slabí i kasnije ugiba. *V. destructor* važan je prijenosnik virusa, te potencira širenje i ostalih bolesti. Utvrđivanje varooze provodi se tako zvanim apitehničkim radnjama te laboratorijskim pretragama. Kako raste pčelinja zajednica, odnosno leglo, tako se i broj grinja u košnici povećava. Ako pčelar ne provodi dostatne kontrolne mjere, dolazi do jake zaraze, što se najčešće događa u kasno ljeto. Pojavnost i štetni učinci varooze u zadnjih su par godina izraženiji, zbog razvitka rezistentnosti na često i nepravilno korištena sredstva, kao i zbog okolišnih uvjeta, ali i zbog provođenja loše pčelarske prakse. Za uspješno suzbijanje, važno je redovito kontrolirati zajednice na prisutnost, po potrebi i laboratorijsku dijagnostiku, te

planski i integrirano primjenjivati sredstva protiv grinje. Dobra praksa je i pravilna primjena raznih apitehničkih mjera tijekom cijele kalendarske godine. Prije slanja u laboratorije, potrebno je pravilno uzorkovati, te je nužno pratiti pravila uzorkovanja. Može se slati uzorak živih odraslih pčela; 250 - 300 pčela, u plastičnoj vrećici ili posudi od 120 ml sa pripadajućim oznakama košnice. Šalje se i uzorak poklopljenog legla veličine 10 x 10 cm, u zrako propusnoj ambalaži, također sa oznakama košnice. Treći način prikupljanja uzorka je sa podnice (mrve grinje), u zrako propusnoj ambalaži, sa oznakama košnice (Tlak Gajger, 2017.).

2.4. Veliki voskov moljac, *Galleria mellonella* Linnaeus, 1758.

Sistematika velikog voskovog moljca

Carstvo: Animalia

Koljeno: Arthropoda

Potkoljeno: Hexapoda

Razred: Insecta

Red: Lepidoptera

Natporodica: Pyraloidea

Porodica: Pyralidae

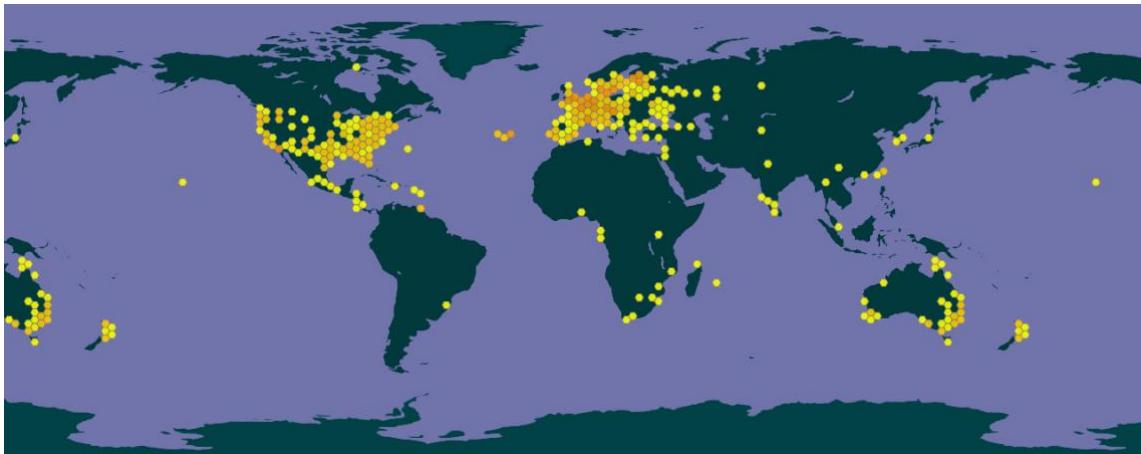
Potporedica: Galleriinae

Rod: *Galleria*

Vrsta: *Galleria mellonella*

2.4.1. Rasprostranjenost velikog voskovog moljca

Populacije velikog voskovog moljca rasprostranjene su diljem svijeta (slika 2.4.1.). Zabilježen je u više od 100 zemalja (CABI, 2022.). Vrlo uspješno se razvija u tropskoj i suptropskoj klimi. Ne može preživjeti dulja hladna razdoblja (Williams, 1997.).



Slika 2.4.1. Rasprostranjenost velikog voskovog moljca

Izvor: <https://www.gbif.org/species/1876542>

Usprkos svim štetama koje čine u pčelarstvu diljem svijeta, više se koriste kao model istraživanja fiziologije i morfologije kukaca. Gusjenice se hrane voskom, a napadaju oslabjele zajednice. Čine velike štete u košnicama i na okvirima između sezona, kada se košnice ne koriste (Ellis, Graham i Mortensen, 2013.). Često se istovremeno javlja sa malim voskovim moljcem (*Achroia grisella* Fabricius, 1794.) pri čemu je osnovna razlikovna karakteristika odraslih jedinki ovih vrsta je veličina leptira (Ellis i sur., 2013.). Teško je razlikovati jaja i gusjenice ovih vrsta no pomoću specifičnih karakteristika poput retikulacije jaja, morfologije glave, prisutnosti dušnika, moguće je izvršiti pravilnu identifikaciju (Prđun i Virić Gašparić, 2023.).

2.4.2. Morfološke karakteristike velikog voskovog moljca

Odrasli variraju u veličini od 15 – 35 mm. Debelog tijela, crvenkasto smeđe boje. Krila su sive boje, a na vršnoj trećini krila brončane boje, na donjim krilima vidljive su blage rese (Ferguson, 1987.). Raspon krila doseže 31 mm (Williams, 1997.). Mužjaci su obično manji od ženki, svijetlijе boje. Ženke imaju i duža ticala za 10 – 20 % (Paddock, 1918.).



Slika 2.4.2. Odrasli voskovi moljci; A-mužjak, B-ženka

Izvor: https://www.researchgate.net/figure/Galleria-mellonella-male-A-and-female-B_fig4_321045674

Jaja velikog voskovog moljca su srebrno ružičasta, te izgledaju blago naborano zbog dijagonalno tekućih linija po površini. Kako razvoj odmiče, boja jaja se mijenja iz srebrno ružičaste do blago žućkaste. Ličinka postaje vidljiva u jajetu otprilike četiri dana prije izlijeganja u vidu tamnoga smotuljka ili prstena (Ellis, Graham i Mortensen, 2013.). Jaja velikog voskovog moljca u kasnijim stadijima razvoja prikazana su na slici 2.3.3.



Slika 2.4.3. Jaja *Galleria mellonella*

Izvor: <https://beeaware.org.au/archive-pest/wax-moth-18/#ad-image-0>

Tek izlegle gusjenice voskovog moljca su bijele boje, 1 – 3 mm dužine. Glava je žućkaste boje i jasno se može razlikovati od ostatka bijelog tijela. Po obliku i boji glave, te stigmama po tijelu također se mogu razlikovati od malih voskovi moljaca. Prsne noge su nakon izlaska dobro razvijene i vidljive, ali abdominalne noge gusjenica se pojavljuju tek nakon trećeg dana po izlasku iz jaja. Gusjenice se presvlače do sedam puta tijekom razvoja. Najveći porast zabilježen je u periodu zadnja dva presvlačenja prije kukuljenja. Gusjenica zadnjeg stadija duga je oko 20 mm, sive boje tijela, sa vidljivom smeđom smjeđom linijom duž tijela (Paddock, 1918.).



Slika 2.4.4. Gusjenice *Galleria mellonella*

Izvor: <https://pestcontrolsydney.com.au/wax-moth-larvae/>

Nakon otprilike 24 sata nakon kukuljenja boja kukuljice prelazi iz bijele u svjetlo žutu. Nakon četiri dana boja prelazi u svjetlo smeđu, pa tamno smeđu, da bi na kraju postala tamno smeđa. Kukuljice variraju veličinom između 5 - 20 mm. Ima vidljive karakteristične bodlje od stražnjeg dijela glave do petog trbušnog segmenta (Paddock, 1918.; Williams, 1997.).



Slika 2.4.5. Kukuljica *Galleria mellonella*

Izvor: <https://insecta.pro/images/1024/70398.jpg>

2.4.3. Biologija velikog voskovog moljca

Aktivnost velikog voskova moljca počinje tijekom ožujka s dolaskom prvih toplijih dana, dosežući svoj vrhunac u kolovozu, nakon čega se postupno smanjuje kako temperature padaju. Potpuno prestaje kad temperatura padne ispod 10°C . Razvojni ciklus traje od četiri tjedna do šest mjeseci, direktno oviseći o temperaturi zraka. Idealni uvjeti za njegovo razmnožavanje obuhvaćaju temperaturu zraka od 30°C i relativnu vlažnost zraka od oko 40 % (Khan i Shah, 2019.). Životni ciklus (slika 2.4.3.) odvija se u pet faza koje uključuju jaje, gusjenicu koja se presvlači između sedam i devet puta, ovisno o temperaturi, predkukuljicu i kukuljicu te stadij odrasla leptira.



Slika 2.4.3. Razvojni stadiji *G. mellonella*: jaja (1), gusjenica stara približno 10 dana (2), gusjenica stara približno 20 dana (3), gusjenica stara 25 - 35 dana (4 i 5), posljednji stadij gusjenice stare približno 40 dana (6), predkukuljica i kukuljice (7 i 8), odrasli moljac (9) (Prema Jorjão i sur., 2018.).

Odrasli obično izlaze iz kokona predvečer, te nalaze skrovito mjesto gdje im se suše i razvijaju krila. Najveća aktivnost se bilježi između 18 sati i ponoći (Paddock, 1918.; Chase, 1921.; Charriere i Imdorf, 1999.; Jorjão i sur., 2018.). Odrasli se ne hrane, već samo kopuliraju (Paddock, 1918.). Odrasle ženke žive oko 12 dana, dok mužjaci žive do oko 21 dan (Paddock, 1918.). Jaja se najbrže razvijaju pri temperaturama od 29°C do 35°C . Najniža letalna temperatura je 0°C pri izloženosti od 4,5 sati, a najviša letalna temperatura je iznad 46°C pri izloženosti 70 minuta (Ellis, Graham i Mortensen, 2013.). Razvoj gusjenice razvoj traje šest do sedam tjedana, a najbrži je pri temperaturama između 29°C i 32°C i pri visokoj vlažnosti zraka. Odmah nakon izlijeganja gusjenice započinju ishranom voskom te stvaranjem pređe koja je jasno vidljiva na saću. Zadnji razvojni stadiji gusjenica imaju toliko jake čeljusti da mogu gristi drvo, pa tako dubu rupe u drvenim stijenkama košnica kako bi pripremile mjesto za kukuljicu. Nakon što napravi ili nađe dobro mjesto za kukuljenje, gusjenica se tamo smješta i počinje presti svilene niti tvoreći kokon koji pričvrsti za izdubljene drvene dijelove. Za potpuno opredanje kukuljice potrebno je oko 2,25 dana (Paddock 1918.). Nakon što je kokon potpuno gotov, gusjenica postaje manje aktivna, osim što zareže vrh kokona čeljustima kako bi na kraju stadija kukuljice lakše izašla. Nakupine kokona uz rub okvira karakteristika su prisutnosti velikog voskova moljca (Paddock, 1918.). Razvoj od gusjenice do kukuljice u kokonu traje između 3, 5 i 6.5 dana, ovisno o temperaturi i relativnoj vlažnosti zraka. Razvoj u kukuljici ovisi o temperaturi, te može potrajati između 6 pa sve do 55 dana (Paddock, 1918.; Williams, 1997.).

2.4.4. Štetnost

G. mellonella nanosi značajne ekonomski štete u pčelarstvu, posebno na uskladištenim izgrađenim saćima izvan aktivne pčelarske sezone. Direktno ishranom oštećuju izgrađeno saće, a donekle i neizgrađenu satnu osnovu, uništavajući pčelinji kruh (pelud) koji je pohranjen, kao i drvene dijelove košnice poput unutrašnjih stijenki nastavaka, podnica ili okvira. Gusjenice voskova moljaca češće napadaju slabije pčelinje zajednice, kao i prazne i napuštene košnice (Nielsen i Brister, 1977.). Najveće štete zabilježene su na uskladištenoj pčelarskoj opremi, između sezona kada se ne koristi (Ellis i sur., 2013.). Osim toga, prenose par različitih patogena pčelinjih zajednica, poput bakterije *Paenibacillus larvae* White, 1906., virusa crnih matičnjaka i izraelskog virusa akutne paralize (Govan i sur., 1999.). Kritično razdoblje napada voskova moljaca je rana jesen i kasno proljeće (Shimanuki, 1980.; Türker i sur., 1997.; Kwadha i sur., 2017.). Procjena ekonomskog utjecaja voskova moljaca na globalnoj razini još uvijek nedostaje. Istraživanja sugeriraju da prosječni gubitak u dobiti iznosi 3,9 do 5,1 %, prema studiji Hooda i suradnika iz 2003. U Iranu su zabilježeni još veći gubici, s procijenjenim ekonomskim gubitkom od 38 % uzrokovanih napadom velikog moljca (Jafari i sur., 2010.). Na jugu Sjedinjenih Američkih Država gubici su procijenjeni na oko 3 i 4 milijuna dolara 1973. i 1976. godine, što iznosi otprilike 3,9 % i 5,1 % ukupne dobiti u tim godinama. U saveznim državama Floridi i Teksasu, s tropskim klimatskim uvjetima, zabilježeni su gubici do oko 5 dolara po košnici (Hood i sur., 2003). Ekonomski važnost ovih štetnika rezultirala je nizom istraživanja koja su se bavila njihovim životnim ciklusom, biologijom, ekologijom, molekularnom biologijom, fiziologijom i suzbijanjem. Velika štetnost voskovog moljca pripisuje se visokom reproduktivnom potencijalu i brzom razvoju (Shimanuki, 1980., Türker i sur., 1993., Kwadha i Fombong, 2017.). S obzirom na dinamičnu prirodu čimbenika koji utječu na rast i razvoj zabilježenim monetarnim gubicima (Paddock, 1918., Williams, 1997.) potrebna je procjena ekonomskih gubitaka kako na regionalnoj tako i na globalnoj razini (Kwadha i sur., 2017.).

2.4.5. Kontrola i suzbijanje

Sprječavanje napada na uskladištenom materijalu osigurava se brzim pretapanjem starog voska, redovitim mijenjanjem saća i satnih osnova, brtljenjem pukotina, potpunim čišćenjem saća od ostataka meda i peluda prije skladištenja te uništavanjem napadnutog saća koje pokazuje znakove galerijaze (Charriere i Imdorf, 1999., Ritter, 2006., Gulati i Kaushik, 2004.). Prđun (2020.) preporuča slaganje okvira na „kant”, odnosno postavljanje okvira jedan na drugi, na užu stranicu, kako bi donja strana bila okrenuta prema van i tako bila više osvjetljena. Konstrukcija treba biti odmaknuta od zida barem 10 - 15 cm, zaštićena od oborina, a dobro je i postaviti mamce za glodavce. Obzirom da voskovi moljci ne podnose propuh ili jako osvijetljene pa ovakvim skladištenjem osiguravamo manju pojавu moljaca. Navedene mjere funkcioniraju samo u slučaju malih pčelinjaka (Kwadha i sur., 2017.). Od kemijskih

sredstava koriste se fumiganti. Prema Charriere i Imdorf, 1999.; Gulati i Kaushik, 2004., Ritter i Akratanakul, 2006., u svijetu se još uvijek koriste kalcijev cijanid, etilen bromid, metil bromid, fosfin i dr., dok je u Hrvatskoj najčešći izbor octena i mravlja kiselina, te sumpor (Kezić i sur., 2014.).

2.5. Geometrijska morfometrija u istraživanju velikog voskovog moljca

Prema Adams i sur. (2004.) geometrijska morfometrija na nov način istražuje matematički oblik morfoloških cjelina preko njihove geometrije. Geometrijska morfometrija (multivarijatna) označava spoj kvantitativnih morfoloških mjerena i multivarijatnih statističkih metoda kojima se obrađuju podaci o obliku i veličini, odnosno formi istraživanog organizma (Oxnard, 1978.). Oblik se definira kao geometrijska informacija kada se makne utjecaj veličine, položaja i orientacije objekta (Kandell, 1977.), a veličina se preračunava u veličinu centroida koja predstavlja geometrijsku mjeru veličine nekog objekta opisanog konfiguracijom specifičnih točaka/markera (Ivanović i Kalezović, 2009.). Do podataka se dolazi mjerenjem dužinskih karakteristika (morfometrijskih varijabli) ili mjerenjem udaljenosti između jasno definiranih specifičnih točaka (markera) neke morfološke cjeline (Oxnard, 1978.). Prema Bookstein (1991.) definirana su tri osnovna specifična tipa točaka: (I) specifične točke koje se nalaze na mjestima spajanja različitih dijelova morfoloških cjelina (npr. mjesto spajanja dva ili više skeletnih elemenata u glavnom skeletu, ili mjesto spajanja dvije ili više žila u okviru nervature krila kukaca); (II) specifične točke koje predstavljaju mjesta najvećeg zakriviljena (udubljenja, ispupčenja) određene anatomske strukture (npr. vrh zuba ili nastavka nekog skeletnog elementa); (III) specifične točke koje također određuju ekstremne točke, ali se mogu odrediti samo u odnosu na čitavu strukturu, odnosno objekt koji se analizira. Princip metode bazira se na označavaju unaprijed određenih točaka markerima, koje se na svakoj pojedinoj analiziranoj jedinki nalaze na istim mjestima. Uz dovoljno velik uzorak uočavaju fenotipske promjene u populaciji ili razlike između dvije ili više populacija iste vrste (intraspecijska varijabilnost). Kako bi lakše vizualizirali rezultate, točke se smješaju u 2D ili 3D koordinatne sustave. U geometrijskoj morfometriji postoje metodološki i konceptualno različiti pristupi analizama, a najčešći je već spomenuta analiza točaka u 2D koordinatnom sustavu (Adams i sur. 2004.).

Ova metoda nema ograničenja koja se odnose na pravce varijacija i na lokalizaciju promjene oblika, samim tim je veoma učinkovita za prikupljanje informacija koje se odnose na oblik morfološke cjeline (Clabaut i sur., 2006). Vrlo je „osjetljiva“ metoda te se njenom primjenom mogu otkriti posve male promjene u obliku morfoloških cjelina (Klingenberg, 1996.; Klingenberg i sur., 2001.).

Geometrijska morfometrija vrlo je učinkovita u istraživanjima fenotipske varijabilnosti koja je uvjetovana biotskim i abiotiskim čimbenicima. Uzrok fenotipske varijabilnosti širokog je spektra, može biti uvjetovan promjenom ekoloških faktora (klima, tlo), promjenom biljke domaćina, primjenom različitih mjera zaštite ili promjenom uzgojnog oblika biljnih kultura.

Osim toga fenotipska istraživanja ovoga tipa mogu pomoći u stvaranju određenih filogenetskih i evolucijskih zaključaka te objašnjavanja nekih taksonomskeh nejasnoća u mnogobrojnom razredu kukaca (Meulemeester i sur., 2012.).

Najčešće korištene strukture u morfometrijskim istraživanjima kod kukaca su opnensata krila zbog svoje stabilnosti, dvodimenzionalne strukture, postojanja homogenih točaka te zbog svoje transparentnosti. Osim krila u morfometrijskim istraživanjima mogu se proučavati različiti razvojni stadiji kukaca; kukuljice ili ličinke (Klingenberg i Zaklan, 2000; Jean–Pierre, 2008.). Oblik i veličina krila kukaca prvi pokazatelji fiziološko fenotipskih promjena kada na organizam utječu okolišni čimbenici što ih čini prikladnim uzorkom za morfometrijske analize. Ti okolišni čimbenici induciraju genotipske promjene koje se prvo uočavaju na strukturama poput krila (Pajač Živković i sur., 2018.).

U Hrvatskoj su već provedene razne analize i istraživanja na krilima kukaca sa različitim ciljevima primjene ove metode, primjerice istraživanja varijabilnosti populacija, prilagodbe na agroekološke uvjete ili rezistentnosti populacija i razumijevanja promjena u populacijama štetnika povezanih s raznim načinima uzgoja poljoprivrednih kultura (Pajač Živković, 2018.). Tehnika geometrijske morfometrije primijenjena je za istraživanje fenotipske varijabilnosti vrsta *Agriotes ustulatus* Schaller, 1783. i *Bothynoderes punctiventris* Germar, 1824. temeljem uzoraka glave, krila ili cijelog tijela u različitim agroekološkim uvjetima (Lemić i sur., 2014., 2016.). Isto je učinjeno i za vrstu *Cydia pomonella* Linnaeus, 1758. s obzirom na lokaciju i tehniku uzgoja (Pajač Živković i sur., 2018.). Istraživana je i fenotipska plastičnost mediteranske voćne muhe (*Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824.) kao preduvjet za invazivnosti i prilagodbe različitim agroekološkim uvjetima (Lemić i sur., 2021.) te fenotipska varijabilnost različitih populacija krumpirove zlatice (*Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824.) u odnosu na različite okolišne uvjete (Kadoić Balaško i sur., 2022.).

Iako su voskovi moljci važni za pčelarsku industriju, oni se sve više istražuju kao modelni organizmi u proučavanju fiziologije, genomike, proteomike i drugih disciplina. Postoji velik broj istraživačkih tehnika povezanih s proučavanjem voskova moljaca, ali iz pčelarske perspektive obično se koristi samo nekoliko dostupnih istraživačkih metoda (Ellis i sur., 2013.). Pregledom literature nisu pronađeni podaci o primjeni tehnike geometrijske morfometrije u istraživanju voskova moljaca. Budući da postoje razlike između ekološkog i konvencionalnog načina pčelarenja, tehnika geometrijske morfometrije može se uspješno primijeniti u pčelarstvu kako bi se utvrdile razlike unutar populacija voskova moljaca (Prđun i Virić Gašparić, 2023.).

3. Materijali i metode rada

3.1. Lokaliteti istraživanja

Veliki voskovi moljci analizirani u ovome radu skupljeni su na dva različita lokaliteta; okolica Popovače (45.56999037241667, 16.64616076116936) i okolica Zadra (44.036959, 15.605638). Moljci s područja Zadra prikupljeni su s uskladištenih okvira iz ekološke proizvodnje, a moljci iz Popovače sa uskladištenih okvira iz konvencionalne proizvodnje.



Slika 3.1.1. Prikaz lokacija sakupljanja uzoraka

Izvor: <https://www.vecteezy.com/png/12031259-3d-map-illustration-of-croatia>

3.2. Prikupljanje uzorka i način rada

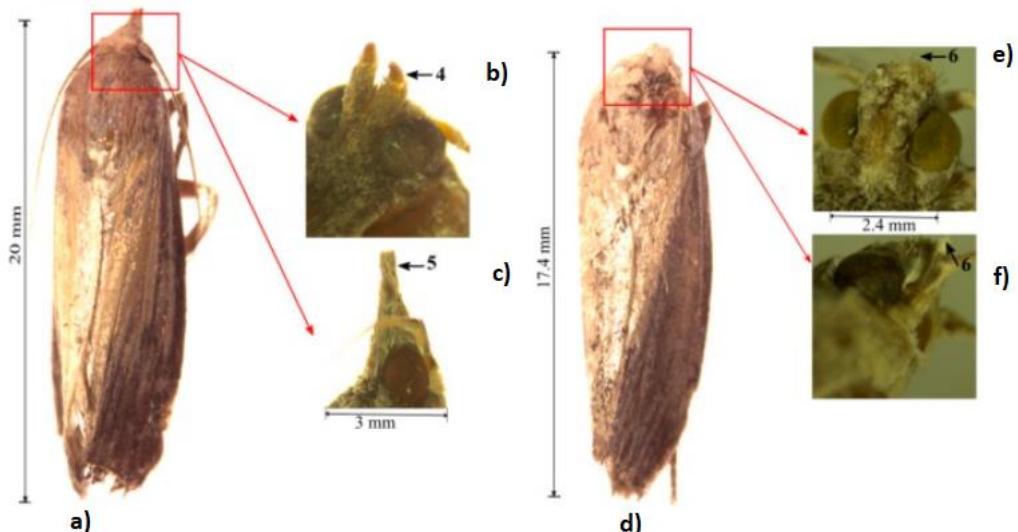
Uzroci okvira s vidljivim kokonima i zapredcima voskovog moljca prikupljeni su od pčelara tijekom proljeća 2023. godine. Okviri su položeni u entomološke kaveze (BugDorm-4M3074 insect rearing cage) dimenzija širina 32,5 x dužina 32,5 x visina 77,0 cm. Kako bi se osigurala bolja ventilacija, kavezi su izrađeni od najlonske mreže na svim stranama, bez upotrebe plastičnih folija u bilo kojem od panela osim na podnici. Kavezi s okvirima su stavljeni na uzgoj u klima – komore u laboratoriju Zavoda za poljoprivrednu zoologiju. Uvjeti u komorama su odgovarali vanjskim uvjetima, odnosno sobna temperatura i srednja relativna vlažnost zraka od 60 %. Nije korišteno osvjetljenje već su okviri bili u mraku, što odgovara uvjetima povoljnim za razvoj moljaca.

Odrasli moljci s oba lokaliteta razvili su se za +/- deset dana nakon smještanja u klima-komoru. Uzorak okvira, kao i kavez za razvoj prikazani su na slici 3.2.1.



Slika 3.2.1. Kavezi za razvoj u klima komorama
(Foto: Radan)

Uzorci odraslih moljaca sa svake lokacije izdvojeni su u posebne posudice te su usmrćeni pomoću etera nanesenog na komadić tkanine. Odrasli moljci sa pojedine lokacije razdvojeni su prema spolu. Ženka voskovog moljca u prosjeku ima dužinu tijela od 15-20 mm, raspon krila od 31 mm te je naočigled veća od mužjaka (2.4.2.) koji je manji i svjetlijie je boje (Ellis i sur., 2013.). Osim navedenog, korištene su i ključne dijagnostičke karakteristike odraslih oblika velikog voskovog moljca prema Ellis i sur. (2013.) prikazane su slikom 3.2.2., prema Cameron i Ellis (2021) slikom 3.2.3. i prema Smith (1965.) slikom 3.2.4. Još jedan način raspoznavanja je prisutnost leglice kod ženki (Kwadha i sur., 2017.), no nisu sve ženke imale vidljivu leglicu.

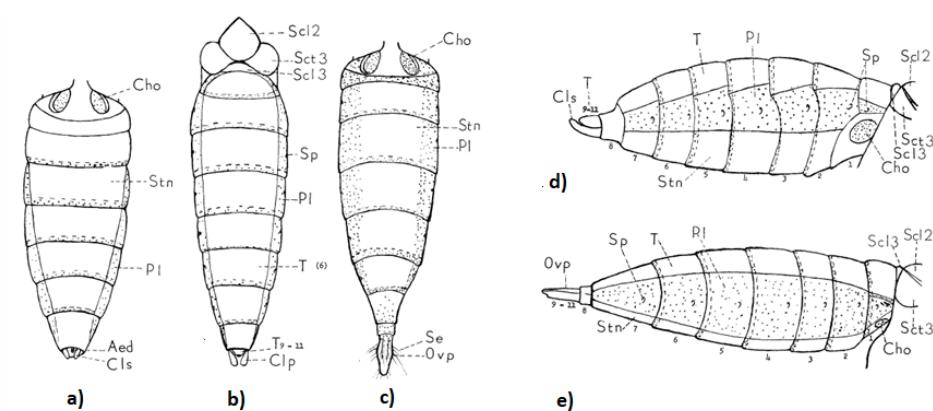


Slika 3.2.2. Odrasla ženka voskovog moljca (a), razdvojeno rilo (b), labijalne palpe koje se pružaju prema naprijed (izgled kljuna) (c), odrasli mužjak voskovog moljca (d), zakriviljene labijalne palpe koje se savijaju prema unutra (izgled skraćenog nosa) (e i f) (Prema Ellis i sur., 2013.).



Sika 3.2.2. Prikaz zatka; ženka (L), mužjak (D) (prema Cameron i Ellis, 2021.)

Izvor: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/AA141>



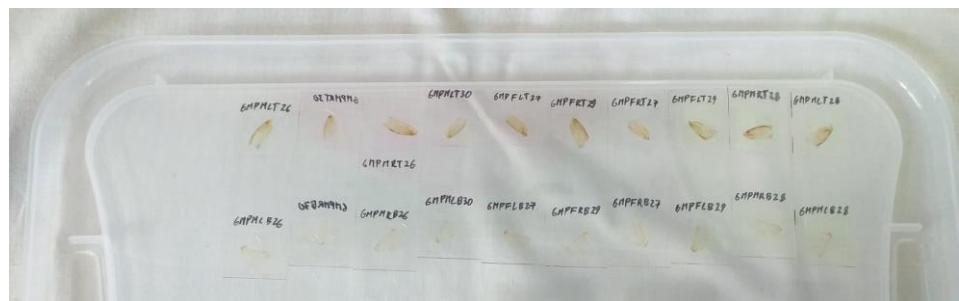
Sika 3.2.4. Prikaz abdomena: abdomen mužjaka - ventralna strana (a), abdomen mužjaka - dorzalna strana (b), abdomen ženke - ventralna strana (c), abdomen mužjaka – bočni pogled (d), abdomen ženke – bočni pogled (e) (Prema Smith, 1965.).

Nakon razdvajanja prema spolu, uklonjena su im krila. Sa krila su uklonjene ljušćice pomoću mekanog kista u otopini 3 %-tnog natrijeva hipoklorita (slika 3.2.5.). Krila su držana u hipokloritu do 60 sekundi. Isprana su alkoholom te vodom. Na svako predmetno stakalce je postavljeno gornje i donje krilo određene strane leptirova tijela, označeno kodom. Na primjeru koda GMZDFLT01 - 'GM' predstavlja vrstu (*Galleria mellonella*), 'ZD' označava lokalitet (Zadar), 'F' označuje spol (female), 'L' stranu tijela (left), 'T' ukazuje na gornje krilo (top), dok je '01' brojčana oznaka uzorka. Na svako krilo je dodana kap Euparal ljepila za miskroskopiranje na bazi eukaliptusa te pokrovno stakalce. Tako pripremljeni trajni preparat stavljen je na sušenje na razdoblje od dva tjedna kako bi se izradio trajni preparat (slika 3.2.6.).

Preparati su nakon sušenja fotografirani profesionalnim fotoaparatom (svako krilo posebno) i spremljeni u JPEG formatu. Slikani uzorci spremljeni su i razvrstani po lokaciji, spolu, strani tijela i jedinstvenoj šifri svakog uzorka.



Slika 3.2.5. Postupak skidanja ljuščica sa krila
(Foto: Radan)



Slika 3.2.6. Označeni trajni preparati uzoraka *Galleria mellonella*
(Foto: Radan)

3.3. Geometrijsko morfometrijska analiza veličine i oblika krila

Krila voskovi moljaca analizirana su metodama geometrijske morfometrije. Standardne analize multivariatne statistike korištene u ovakvim tipovima istraživanja provedena su u programskom paketu MorfoJ v1.05d (Klingenberg, 2011.). Provedene analize su PCA (analiza glavnih komponenti) i CVA (kanonijska diskriminalna analiza). Na svako gornje krilo postavljeno je 11 markera na uvijek istim, specifičnim lokacijama, dok je svako donje bilo obilježeno sa 12 specifičnih markera. Programske pakete korišteni za postavljanje markera su tpsDig V2.10. Uzorak raspoređen specifičnih markera postavljenih na gornja krila prikazan je na slici 4.2.1.



Slika 4.2.1. Raspored postavki specifičnih markera na gornje krilo
(Foto: Radan)

Ukupno je analizirano 135 uzoraka krila kako je prikazano Tablicom 4.2.1.

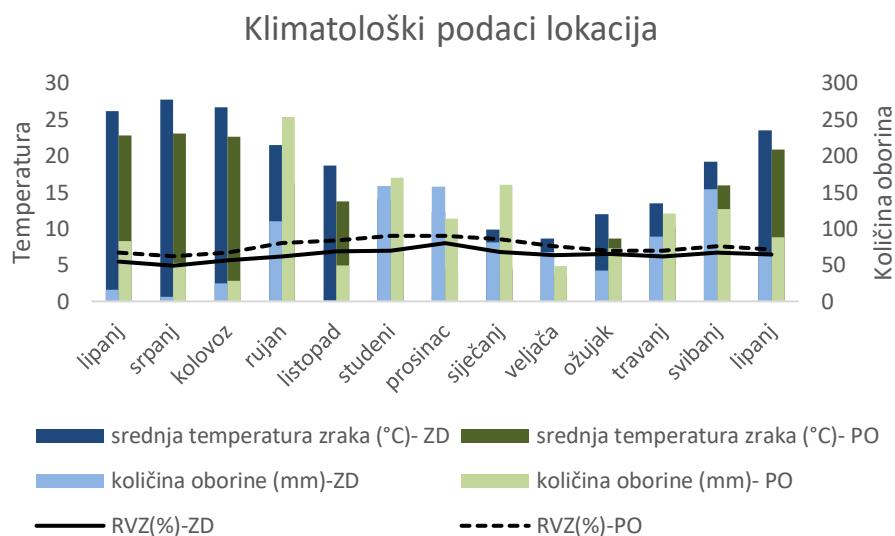
Tablica 4.2.1. Uzorci korišteni u istraživanju; L-ljevo, D-desno

Opis	Zadar	Popovača
MUŽJACI - GORNJA	9L + 7D	7L + 8D
MUŽJACI - DONJA	8L + 10D	8L + 9D
ŽENKE - GORNJA	7L + 9D	7L + 9D
ŽENKE - DONJA	11L + 10D	8L + 8D
Σ	35L + 36D	30L + 34D

4. Rezultati

4.1. Agrometeorološki čimbenici

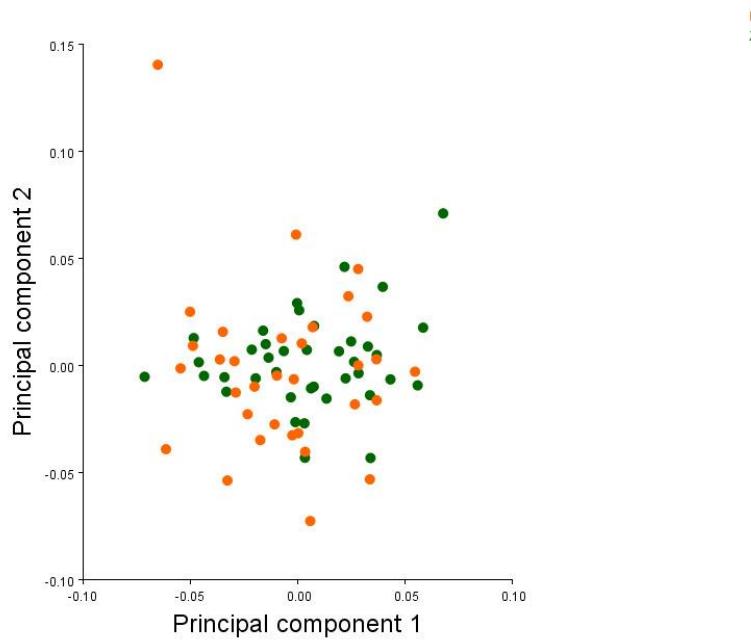
Podaci o klimi (srednja relativna vlažnost zraka, srednja mjesečna temperatura zraka i ukupna mjesečna količina oborina) korišteni u ovom radu preuzeti su od Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ) za razdoblje od godine dana od početka sakupljanja uzorka. Navedeni klimatološki podaci opisuju godišnji hod klime za lokacije sa kojih su uzorci moljaca sakupljeni. Oni su objedinjeni i prikazani slikom 4.1.1.



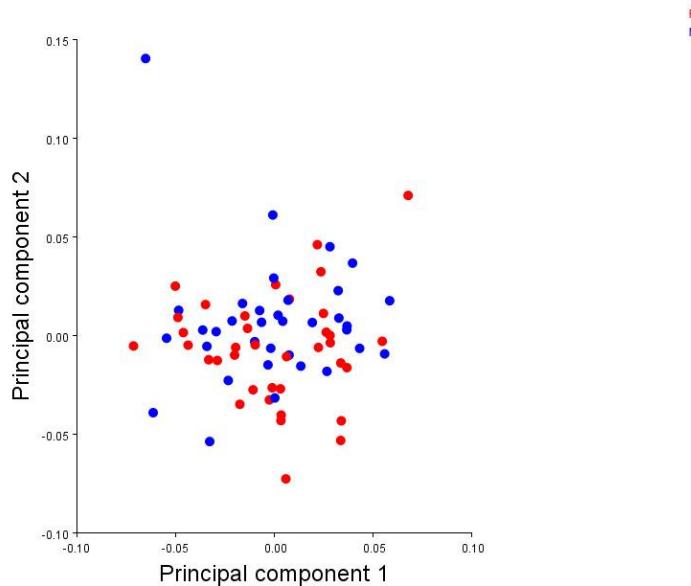
Slika 4.1.1. Klimatski podaci za lokacije: Zadar i Popovača

4.2. Rezultati provedenih analiza

Nakon provedbe analize glavnih komponenti (PCA) utvrđeno je da nema značajne razlike između populacija voskovih moljaca prikupljenih s konvencionalnog uzgoja u Popovači i voskovih moljaca prikupljenih s ekološkog uzgoja u Zadru (Slika 4.2.1). Istom analizom nisu utvrđene razlike između mužjaka i ženki analiziranih voskovih moljaca (Slika 4.2.2).

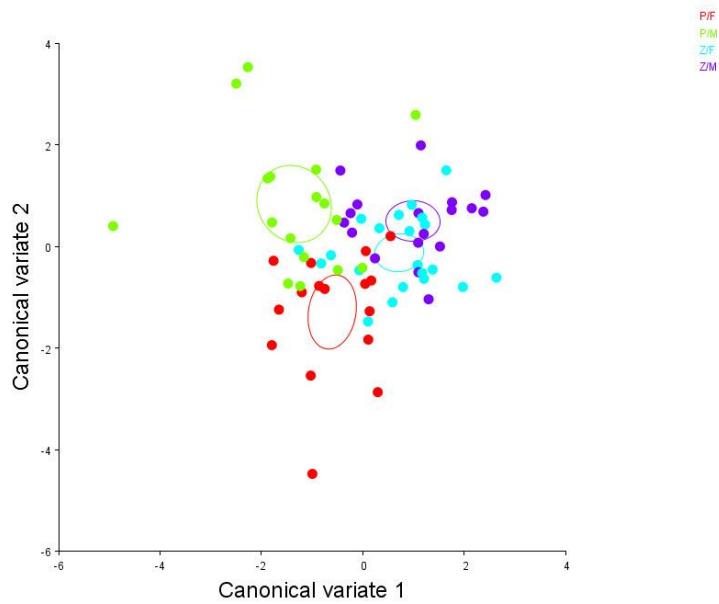


Slika 4.2.1. Analiza glavnih komponenti (PCA) populacija velikog voskovog moljca obzirom na različite lokacije
(Popovača – narančasto, Zadar – zeleno obojane populacije)

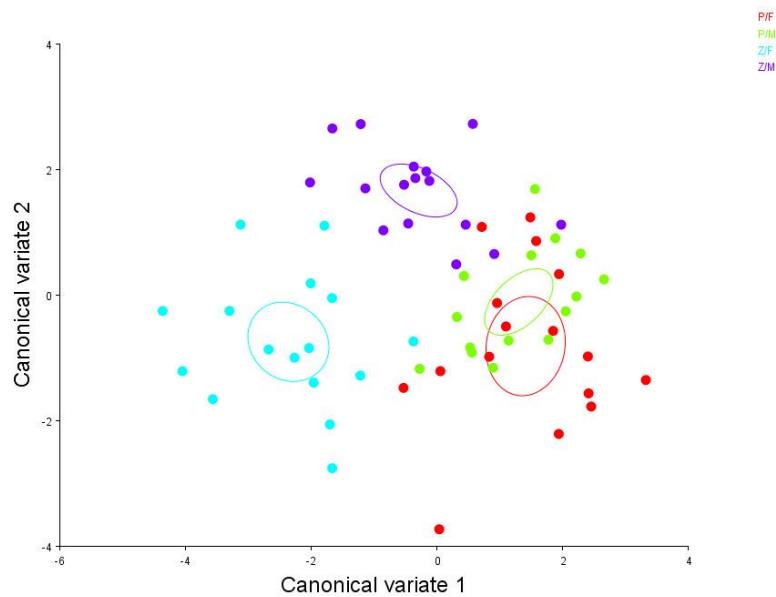


Slika 4.2.2. Analiza glavnih komponenti (PCA) spolova velikog voskovog moljca (ženke – crveno, mužjaci – plavo
obojene populacije)

Nakon kanonijske diskriminantne analize (CVA) dokazana je varijabilnost između donjih i gornjih krila unutar populacija voskovih moljaca. Donja krila (slika 4.2.3) pokazuju manju fenotipsku varijabilnost obzirom da donja krila uglavnom služe za aerodinamički let. Nisu utvrđene razlike između lokaliteta niti spolova. U odnosu na donja, kod gornjih krila (Slika 4.2.4) utvrđena je varijabilnost u veličini krila. Gornja krila uglavnom služe za let i migraciju na nova područja. Uzorci ženki prikupljenih na lokalitetu Zadar razlikuju se u odnosu na druge uzorke.



Slika 4.2.3. Varijabilnost donjih krila između lokacija i spola (Popovača ženke – crveno; Popovača mužjaci – zeleno; Zadar ženke – plavo; Zadar mužjaci – ljubičasto)



Slika 4.2.4. Varijabilnost gornjih krila između lokacija i spola (Popovača ženke – crveno; Popovača mužjaci – zeleno; Zadar ženke – plavo; Zadar mužjaci – ljubičasto)

5. Rasprava

Ovaj rad prvo je istraživanje populacija voskovih moljaca metodama geometrijske morfometrije. Kao takvo donosi novo mjerilo analize istraživanja ove vrste u odnosu na njenu štetnost. Cilj istraživanja bio je analizom oblika krila utvrditi razlike između populacija voskovih moljaca prikupljenih iz konvencionalne i ekološke proizvodnje na području Hrvatske te procijeniti učinkovitost geometrijsko-morfoloških metoda usporedbom rezultata s prethodnim istraživanjima koja su uključivala slične tehnike primijenjene na drugim vrstama (Hernández i sur., 2010; Benítez i sur., 2014.; Mikac i sur, 2016.; Mikac i sur, 2019.; Lemic i sur, 2020.).

Analizom glavnih komponenti (PCA) nije utvrđena fenotipska varijabilnost između populacija voskovih moljaca (Slika 4.2.2.) prikupljenih iz ekološke (Zadar) i konvencionalne proizvodnje (Popovača) što znači da je veliki voskov moljac već dobro prilagođen staništu u kojem živi. Navedeno dovodi do zaključka da razlike u agroekološkim uvjetima lokacija kao i načinu proizvodnje (ekološko ili konvencionalno pčelarstvo) nisu dovoljno izražene da bi utjecale na varijabilnost populacija. Opća karakteristika koju dijele već udomaćene vrste je fenotipska plastičnost, odnosno niska varijabilnost populacija u kojoj se očituje njihova mogućnost brze prilagodbe na novo stanište i stabilnost genotipa (Murren i sur., 2005.).

Istraživane populacije predstavljene su s ukupno 135 uzoraka, pri čemu je odnos mužjaka i ženki 48 : 52 %. Ovaj odnos mužjaka i ženki u populacijama znači da su spolovi jednakom zastupljeni, a populacije stabilne. Dimorfizam je općenito pojava da se u životinjskoj ili biljnoj vrsti nalaze jedinke u dva različita oblika, što se očituje kao razlika u veličini, boji i u specijalnim strukturama (npr. razvijene spolne žlijezde kod trutova pčela, dok su kod radilica zakržljale) (Hrvatska enciklopedija, 2021.). Iako analizom nisu utvrđene značajne razlike unutar istih populacija s obzirom na spol, u slučaju *G. mellonella* mužjaci su manji od ženki te su svijetlijе boje, a ženke imaju i duža ticala za 10 – 20 % (Paddock, 1918.). Nekoliko istraživanja je pokazalo da spolni dimorfizam u životnim karakteristikama kukaca, kao što su veličina i oblik, može biti varijabilan (Nylin i Gotthard, 1998.). Veća veličina ženki pogodnija je zbog prirodnog odabira za veću plodnost (Gilchrist, 1990.; Calvo i Molina, 2005.) i sugerira veći značaj veličinskih prednosti za ženku u smislu plodnosti u usporedbi s onima koje se pružaju mužjacima (Nylin i Gotthard, 1998.). Mali mužjaci mogu biti rezultat seksualnog odabira za brz razvoj koji dovodi do ranog izlaska iz kukuljice (Gilchrist, 1990.), a u slučaju preklapanja generacija (kao što je slučaj kod voskovog moljca) i mogućnost pojave protandrije (Singer, 1982.; Nylin i sur., 1993.).

Nakon provedene kanonijske diskriminantne analize nije utvrđena značajna fenotipska varijabilnost donjih krila unutar populacija *G. mellonella* (slika 4.2.4). Donja krila uglavnom služe za aerodinamički let, odnosno manje se aktivno koriste pa su i manje podložna promjenama uvjetovanim raznim okolišnim čimbenicima (Frazier 2008.). S druge strane, utvrđeno je da su gornja krila varijabilna s obzirom na veličinu, odnosno da pokazuju veću plastičnost u donosu na donja krila između kopnenih i obalnih populacija pri čemu se uzorci

ženki prikupljenih na lokalitetu Zadar razlikuju se u odnosu na druge uzorke (slika 4.2.5.). Fenotipska plastičnost definirana je kao stabilnost u fenološkim karakteristikama što je posljedica utjecaja ekoloških čimbenika na genotip (Sclichting, 2004.). Opažene razlike u obliku krila između kopnenih i obalnih populacija potencijalno bi mogle ukazivati na konkurentske prednosti ove vrste u širenju na nova područja. Varijabilnost krila ženki prikupljenih na lokalitetu Zadar mogla bi sugerirati određenu strategiju pri prijelazu većih udaljenosti tijekom širenja na nova područja s ciljem brze kolonizacije. Ovakva reakcija vrste *G. mellonela* bi mogla ukazivati na koncept fenotipske plastičnosti u kojoj vrsta reagira na promjene u okolišu (Clarke, 1998). Varijabilnost krila ženki s lokacije Zadar može biti uzrokovana klimatološkim uvjetima pojedine lokacije obzirom da je uloga aeroklimatoloških uvjeta ključ prilagodbe i opstanka vrste na određenom životnom području (Fierst, 2011.). Također, još jedan od mogućih uvjeta koji su utjecali na varijabilnost krila ženki je nadmorska visina istraživanih lokaliteta. Kopnena populacija (Popovača) prikupljena je pri zabilježenoj nadmorskoj visini (n.m.v.) od najviše 130 m, dok n.m.v. prikupljene obalne populacija (Zadar) doseže maksimalnih 184 m. Prema istraživanju Hernández i sur. (2010.) populacije s većih nadmorskih visina obično imaju uža krila. Uska krila mogu kompenzirati okolišna ograničenja letenja na većim nadmorskim visinama, budući da mogu pomoći u smanjenju energetskih zahtjeva za letenje (Wootton, 1992.; Berwaerts i sur., 2002.; Frazier i sur., 2008.).

U Hrvatskoj je tehnikom geometrijske morfometrije, na uzorcima glave, krila ili cijelog tijela, uspješno istraživana fenotipska varijabilnost *Agriotes ustulatus* Schall. i *Bothynoderes punctiventris* Germar u različitim agroekološkim uvjetima (Lemić i sur., 2014., 2016.) te fenotipska varijabilnost s obzirom na lokaciju i tehniku uzgoja vrste *Cydia pomonella* L. (Pajač Živković i sur., 2018.). Prđun i Virić Gašparić (2023.) navode mogućnost uspješnog korištenja tehnika geometrijske morfometrije za utvrđivanje razlika unutar populacija voskovih moljaca, značajnih štetnika u pčelarstvu. Koncept fenotipske plastičnosti, pri čemu vrsta odgovara određenim promjenama na okolišne čimbenike (Clarke, 1998.), potvrđen je našim istraživanjem kojim je utvrđena varijabilnost u veličini gornjih krila, posebice na uzorcima ženki prikupljenih s konvencionalnog tipa pčelarske proizvodnje u Zadru. Unatoč važnosti voskovih moljaca za pčelarsku industriju vrlo je ograničen broj dostupnih istraživačkih metoda ove vrste s pčelarskog gledišta (Ellis i sur., 2013.). Stoga ovo istraživanje predstavlja prvi i vrlo značajan doprinos u razumijevanju ove vrste pomoću tehnike geometrijske morfometrije. Istraživanja je potrebno proširiti kako bi se bolje proučila veza između morfologije krila i prilagodljivosti *G. mellonela* s ciljem oblikovanja učinkovitih strategija suzbijanja i sprječavanja širenja u nova okruženja.

6. Zaključci

1. Ovaj rad je prvo istraživanje populacija voskovih moljaca geometrijskom morfometrijom te pruža prvi i važan doprinos razumijevanju vrste *G. mellonella*.
2. Istraživane populacije s ukupno 135 uzoraka imaju podjednak broj mužjaka i ženki što ukazuje na stabilne populacije pri čemu analizom nije utvrđen spolni dimorfizam.
3. Razlike u agroekološkim uvjetima i tipu proizvodnje ne utječu dovoljno na varijabilnost populacija što je indikacija fenotipske plastičnosti, odnosno udomaćenja vrste čija je karakteristika brza prilagodbe na novo stanište i stabilnost genotipa.
4. Varijabilnost u veličini gornjih krila, posebice ženki s lokacije Zadar, ukazuje na potencijalne razlike između kopnenih i obalnih populacija i konkurentske prednosti ove vrste u širenju na nova područja.
5. Dalnjim istraživanjima vrste *G. mellonella* geometrijskom morfometrijom omogućilo bi se bolje razumijevanje veza između morfologije krila i prilagodljivosti ove vrste te oblikovanje strategija suzbijanja i sprečavanja širenja u nova okruženja.

7. Literatura

1. Adams D.C., Rohlf F.J., Slice D.E. (2004). Geometric Morphometrics: Ten Years of Progress Following the „Revolution“. *Italian journal of zoology* 71: 5-16.
2. Benítez H.A., Püschel T., Lemić D., Čaćija M., Kozina A., Bažok R. (2014). Ecomorphological Variation of the Wireworm Cephalic Capsule: Studying the Interaction of the Environment and Geometric Shape 9.
3. Berwaerts K., Van Dyck H., Aerts P. (2002). Does Flight Morphology Relate to Flight Performance? An Experimental Test With the Butterfly *Parapge aegeria*. *Functional Ecology* 16: 484-491.
4. Bookstein F.L. (1991). Morphometric Tools for Landmark Data. Geometry and Biology. Cambridge University Press, Cambridge.
5. Buketa M. (2012). Morfometrijske razlike u građi krila u populacijama kukuruzne zlatice *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte u Hrvatskoj. Diplomski rad. Agronomski fakultet, Zagreb 17-35.
6. Calvo D., Molina J. (2005). Fecundity-Body Size Relationship and Other Reproductive Aspects of *Streblote panda* (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Annals of Entomological Society of America* 98: 191-196.
7. Camara M., Caro-Rian H., Ravel S., Dujardin J.P., Hervouet J.P., De Meeus T., Kagbadouno M.S., Bouyer J., Solano P. (2006). Genetic and Morphometric Evidence for Population Isolation of *Glossina palpalis gambiensis* (Diptera: Glossinidae) on the Loos Islands, Guinea. *Journal of Medical Entomology* 43: 853-860.
8. Cameron J., Ellis, J.D. (2021). Wax Moth Control. ENY121, Entomology and Nematology Department, UF/IFAS Extension, <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/AA141>. Pristupljeno 25. kolovoza 2023.
9. Charriere J.D., Imdorf A. (1999). Protection of Honey Combs From Wax Moth Damage. *American Bee Journal* 139: 627-630.
10. Chase R.W. (1921). The Length of the Life of the Larva of the Wax Moth, *Galleria mellonella* L. in its Different Stadia. *Transactions of the Wisconsin Academy of Sciences, Arts and Letters* 20: 263-267.
11. Clarke G.J. (1998). Developmental Stability and Fitness: The Evidence is Not Quite so Clear 152: 762-766.
12. Demian J.A. (1806). Darstellung der Oesterreichischen Monarchie. Statiszische Beschreibung der Militär-Graenze. Erster Band: Die Militärgrenze in Kroatien, Wien.
13. Dražić M., Bubalo D., Kezić N. (2000). Types of Beehives in the Republic of Croatia. 36. Znanstveni Skup Hrvatskih Agronomova s Međunarodnim Sudjelovanjem. Zbornik Sažetaka. Opatija, Hrvatska.
14. Ellis J.D., Hraham J.R., Mortensen A. (2013). Standard Methods for Wax Moth Research. *Journal of Apicultural Research* 52: 1-17.

15. Ferguson D.C. (1987). Lepidoptera: insect nad Mite Pest sin Food: an Illustrated Key. USDA Agriculture Handbook 655: 231-244.
16. Fierst J.L. (2011). A History of Phenotypic Plasticity Accelerates Adaptation to a New Environment. *Journal of Evolutionary Biology* 24: 1992-2001.
17. Franić Z., Bučar M., Franić S. (2020). Prilozi Istraživanju Povijesti Pčelarstva na Području Petrinje i Banovine. Hrvatska.
18. Frazier M.R., Harrison J.F. Kirkton S.D., Roberts S.P. (2008). Cold Rearing Improves Cold-Flight Performance in *Drosophila* via Changes in Wing Morphology. *Journal of Experimental Biology* 221: 2116-2122.
19. Gleichrist G.W. (1990). The Consequences of Sexual Dimorphism in Body Size for Butterfly Flight and Thermoregulation. *Functional Ecology* 4: 475-487.
20. Govan V.A., Allsopp M.H., Davison S. (1999). A PCR Detection Method for Rapid Identification of *Paenibacillus larvae*. *Applied and Environmental Microbiology* 65.
21. Grahovac P. (2005). Ekonomika poljoprivrede. Golden Marketing, Tehnička Knjiga, Zagreb 199p.
22. Gulati R., Kaushik H. (2004). Enemies of Honeybees and Their Management – A Review. *Agricultural Reviews* 25: 189-200.
23. Hernández L.N., Barragán A., Dupas S., Silvain J.F. (2010). Wing Shape Variations in an Invasive Moth are Related to Sexual Dimorphism and Altitude 100: 529-541.
24. Hood W.M., Horton P.M., McCreadie J.W. (2003). Field Evaluation of the Imported Fire Ant (Hymenoptera: Formicidae) for the Control of Wax Moths (Lepidoptera: Pyralidae) in Stored Honey Bee Comb. *Urban Entomology* 20: 93-103.
25. Ivanović A., Kalezić M., Cena M. (2009). Evolucijska Morfologija – Teorijske Postavke i Geometrijska Morfometrija 7-107. Biološki fakultet Beograd.
26. Jorjão L.A., Oliveira D.L., Scorzoni L., Figueiredo-Godoi L.M.A., Prata M.C.A., Jorge A.O.C., Junqueira J.C. (2018). From Moths to Caterpillars: Ideal Conditions for *Galleria mellonella* Rearing for in Vivo Microbiological Studies, *Virulence* 9: 383-389.
27. Karlović (2013). Najčešće i Najopasnije Bolesti Pčela. Pčelarstvo, <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=47213>. Pridstupljeno: 22. kolovoza 2023.
28. Klingenberg C.P. (2011). MorphoJ: An Integrated Software Package for Geometric Morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353-37.
29. Klingenberg C.P., Marcus M., Corti A., Loy G.J.P., Naylor D.E. (1996). Multivariate Allometry: Advances in Morphometrics. Plenum press, New York.
30. Klingenberg C.P., Zaklan S.D. (2000). Morphological Integration Between Developmental Compartments in *Drosophila suzukii* Wing Evolution 54: 1273-1285.
31. Kodić Balaško M., Bažok R., Mikac K.M., Benitez H.A., Correa M., Lemić D. (2020). Assessing the Population Structure of Colorado Potato Beetle Populations in Croatia Using Genetic and Geometric Morphometric Tools. *Agronomy* 12.

32. Koning R.E. (1994). Honeybee Biology. Plant Physiology Webiste <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=47213> Pristupljeno: 30. lipnja 2023.
33. Kritsky G. (2015). The Tears of Ra: Beekeeping in Ancient Egypt. Oxford University Press, New York, str. 160.
34. Kwadha C.A., Fombong A.T. (2017). Identification of Larval Aggregation Pheromone Components in the Grater Wax Moth, *Galleria mellonella*.
35. Kwadha C.A., Ong'amo G.O., Ndegwa P.N., Raina S.K., Fombong A.T. (2017). The Biology and Control of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*. Insects 8.
36. Lemić D., Benítez H.A., Bjeliš M., Ordenes-Claveria R., Ninčević P., Mikac K.M., Živković I.P. (2020). Agroecological Effect and Sexual Shape Dimorphism in Medfly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) and Example in Croatian Populations 288: 118-124.
37. Lemić D., Bjeliš M., Ninčević P., Pajač Živković I., Popović L., Vurić Gašparić H., Benitez H.A. (2021). Medfly Phenotypic Plasticity as a Prerequisite for Invasiveness and Adaptation. Sustainability 13.
38. Medved I. (2022). Povijest pčelarstva u Hrvatskoj. <<https://www.agroportal.hr/zanimljivosti/30417>> Pristupljeno: 22. kolovoza 2023.
39. Mikac K.M., Lemić D., Bažok R., Benítez H.A. (2016). Wing Shape Changes: A Morphological View of the *Diabrotica virgifera virgifera* European Invasion 18: 3401-3407.
40. Mikac K.M., Lemić D., Benítez H.A., Bažok R. (2019). Changes in Corn Rootworm Wing Morphology are Related to Resistance Development 92: 443-451.
41. MP (2023). Pčelarstvo, <https://poljoprivreda.gov.hr/pcelarstvo/201> Pristupljeno: 30. lipnja 2023.
42. Murren C.J. Denning W., Pigliucci M. (2005). Relationships Between Vegetative and Life History Traits and Fitness in a Novel Field Environment: Impacts of Herbivores. Evolutionary Ecology 19: 58.
43. Nielsen R.A., Brister D. (1977). The Greater Wax Moth: Adult Behaviour. Annals of the Entomological Society of America 70: 101-103.
44. Nylin S., Gotthard K. (1998). Plasticity in Life History Traits. Annual Review of Entomology 43: 63-83.
45. Nylin S., Wiklund C., Wickman P.O., Garcia-Barros E. (1993). Absence of Tradeoffs Between Sexual Size Dimorphism and Early Male Emergence in a Butterfly. Ecology 74: 1414-1427.
46. Oxnard C.E. (1978). On Biologist's View of Morphometrics. Annual Review of Ecology and Systematics 9: 219-241.
47. Paddock F.B. (1918). The Beemoth or Waxworm. Texas Agricultural Experiment Station, USA, str 44.

48. Pajač Živković I., Benitez H.A., Barić B., Bažok R., Drmić Z., Mrganić M., Lemić D. (2018). Analysis of Croatian *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) Population Variability by Using Geometric Morphometrics. Book of Abstracts ECE 2018, Napulj, Italija.
49. Pajač Živković I., Lemić D., Mešić A., Barić B., Ordenes R., Benítez A.H: (2018). Effect of Friut Host on Wing Morphology in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): A First View Using Geometric Morphometrics. Entomological Research 4: 262-268.
50. Prđun S. (2020). Pčelarski radovi u rujnu. Hrvatska pčela 139 (9): 256-257.
51. Prđun S., Vircić Gašparić H. (2023). Veliki (*Galleria mellonella* L.) i Mali (*Achroia grisella* Fabricius) Voskov Moljac – Štetnici u Pčelarstvu i Metode Suzbijanja. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za Ribarstvo, Pčelarstvo, Lovstvo i Specijalnu Zoologiju, Zavod za Poljoprivrednu Zoologiju, Zagreb.
52. Rohlf F.J. (1990). Morphometrics. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, NY 1: 1794-5245.
53. Schlichting C.D., DeWitt T.J., Scheiner S.M. (2004). The Role of Phenotypic Plasticity in Diversification. *Phenotypic Plasticity: Functional and Conceptual Approaches*. Oxford University Press: Oxford, str. 191-200.
54. Shimanuki H. (1980). Diseases and Pests of Honey Bees. In Bee Kepping in the United States: Science and Education Administration, United States Department of Agriculture, Washington DC, USA 335: 118-128.
55. Singer M.C. (1982). Sexual Selection for Small Size in Male Butterflies. American Naturalist 119: 440-443.
56. Smith, T. L. (1965). External Morphology of the Larva, Pupa, and Adult of the Wax Moth, *Galleria Mellonella* L. Journal of the Kansas Entomological Society 38 (3): 287–310.
57. Svečnjak L. Hegić G., Kezić J., Turšić M., Dražić M., Bubalo D., Kezić N. (2008). Stanje Pčelarstva u Republici Hrvatskoj. Journal of Central European Agriculture 9: 475-476.
58. Tlak Gajer I. (2017). Prepoznavanje Bolesti Medonosne Pčele. Hrvatski Pčelarski Savez, Zagreb
59. Türker L., Togan I., Ergezen S., Özer M. (1993). Novel Attractants of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). Apidologie 24: 425-430.
60. Williams J.L., Morse R., Flottum K. (1997). Insects: Lepidoptera (Moths). Honey Bee Pests, Predators and Diseases. The Al Root Company, Ohie, USA, str. 121-141.
61. Wooton R.J. (1992). Functional Morphology of Insect Wings. Annual Review of Entomology 37: 113-140.

Životopis

Vinko Radan rođen je 30. ožujka 1999. u Zagrebu gdje 2014. godine upisuje Prirodoslovnu školu Vladimira Preloga, gimnazijski smjer. Tijekom obrazovanja razvija interes za kemiju i biologiju te 2018. upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije. Nakon dvije godine mijenja fakultet te upisuje preddiplomski studij Fitomedicina na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Uključuje se u izvannastavne aktivnosti fakulteta: Agrokemijsku grupu (2022.); Grupu za agronomске podatke (2023.) s kojom u sklopu tima AgroStream osvaja prvu nagradu na datathonu usmjerenom (ponovnom) korištenju otvorenih podataka iz javnog sektora za rješavanje postojećih problema organiziranom od strane Središnjeg ureda za razvoj digitalnog društva u okviru DORS/CLUC – Dani otvorenih računarskih sustava / Croatian Linux Users' Conference. Obiteljski se bavi uzgojem pčela i proizvodnjom meda pri čemu razvija ljubav prema pčelarstvu i entomologiji što je bio razlog odabira teme završnog rada. Aktivno se služi engleskim jezikom. U slobodno vrijeme se bavi planinarenjem.