



**Kmetijski inštitut Slovenije**  
**Agricultural Institute of Slovenia**  
1001 Ljubljana, Hacquetova 17, SLOVENIJA  
Tel. +386 1 / 28 05 262, p.p. 2553  
Telefax +386 1 / 28 05 255

## **POROČILO O IZVEDENEM UKREPU**

**Sklop 2:**  
**Spremljanje vpliva tehnoloških ukrepov, okoljskih vplivov in naravne odpornosti čebel**  
**na razvoj in zatiranje varoj**

**20. avgust 2013**

Na podlagi Pogodbe št. 3-5/2013 in Izvajanja ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2011–2013 (Uradni list RS, št. 4/11 in 40/11 in 7/13), je Kmetijski inštitut Slovenije pripravil in izvedel študijo v okviru Operativnega programa zatiranja varoze za leto 2013, sklop 2: »**Spremljanje vpliva tehnoloških ukrepov, okoljskih vplivov in naravne odpornosti čebel na razvoj in zatiranje varoj, v okviru 5. točke Operativnega programa zatiranja varoze za leto 2013.**

## **Uvod**

Varoza je gospodarsko zelo pomembna parazitarna bolezen čebel, ki jo povzroča pršica *Varroa destructor*. Napadene so vse čebelje družine v Sloveniji. Posledica napadenosti so šibkejše čebelje družine, manjši donos medu od pričakovanega, propadi čebeljih družin, slabša kvaliteta vzrejenega genetskega materiala avtohtone čebele, *Apis mellifera carnica*. Uspešnost čebelarjenja je odvisna od poznavanja in izvajanja različnih diagnostičnih metod in izbire ustrezne metode zatiranja parazita. Varoza je tudi eden od glavnih vzrokov odmiranja čebeljih družin tako v Sloveniji, kot tudi v drugih čebelarstvo razvitih deželah. V posameznih letih odmre tudi do 90% čebeljih družin.

Posledica nekontrolirane in neracionalne uporabe akaricidov za zatiranje varoj je možen pojav različnih zaostankov v čebeljih pridelkih.

Za ugotavljanje stopnje napadenosti čebelje družine s parazitom uporabljamo več diagnostičnih metod. Te se med seboj razlikujejo glede interpretacije ugotovitev in uporabnosti v praktičnih okoliščinah. Najpomembnejše so pregled pokrite zalege ali čebel delavk, pregled naravnega odmiranja varoj (Liebig, 1996) in medikamentozno ugotavljanje odpadanja varoj (Koeniger in Fucks, 1988, Beetsma *et al.*, 1989). Pri oceni napadenosti družin je potreben pregled zadostnega števila družin na istem stojišču (Fevrer - Ddufol, 1994). Ocena vrednotenja podatkov ugotovljene stopnje napadenosti čebeljih družin ni enotna in je pogojena s številom čebeljih družin na stojišču, klimatskimi, pašnimi in drugimi pogoji. Ne nazadnje moramo upoštevati tudi posebnost čebelarjenja v AŽ panjih, ki v svetu niso običajni.

V okviru naloge je predvideno proučiti prisotnost naravne odpornosti čebeljih družin v različnih geografskih območjih v Sloveniji in s tem prispevati k razvoju varoj, ki ne bo povzročal gospodarske škode, ter bo prispeval k obvladovanju razvoja varoj v čebeljih družinah.

## **Izvedene dejavnosti**

V okviru naloge smo na 8 različnih lokacijah čebelnjakov z 10 gospodarskimi čebeljimi družinami v AŽ panjih na različnih geografskih in klimatskih območjih v Sloveniji spremljali in ugotavljali pokazatelje napadenosti čebeljih družin z varojami. V različnih geografskih legah čebelnjakov smo pričakovali različno razpoložljivost pašnih virov, različno gostoto

naseljenosti s čebelami. Ugotavljali smo razvoj varoj in ocenili njihov vpliv na razvoj družin in sposobnost preživetja družin.

Podrobneje smo spremljali naslednje karakteristike razvoja in stanja čebeljih družin:

1. Ocenili smo tehnološke in okoljske dejavnike, ki imajo potencialni vpliv na naravno odpornost čebel, na razvoj varoj in imajo vpliv na zatiranje varoj. Spremljali smo nekatere dejavnike, ki vplivajo na obvladovanje razvoja varoj v družinah, pri čemer smo uporabili metode, čas in način izvajanja le-teh v času intenzivnega čebelarjenja.
2. V čebelarstvih, v katerih smo obravnavali čebelje družine, so izvajali ekološke in konvencionalne pristope pri zatiranju varoj, obravnavali smo utečeno čebelarsko prakso v posameznem čebelarstvu, zabeležili prevladujoče kmetijske pridelave v okolici.
3. S spremljanjem prisotnosti pesticidov v vzorcih cvetnega prahu, ki so bili zbrani na lokacijah čebelnjakov, smo ocenili onesnaženost okolja s fitofarmaceutskimi sredstvi. V zbranem cvetnem prahu smo določili tudi sestavo in zastopanost posameznih rastlinskih vrst, ki so jih obiskovale čebele. Spremljali smo tudi gibanje temperature in vlage v panjih in v okolici.
4. V testnih čebeljih družinah pa smo spremljali napadenost čebeljih družin z varojami, jakost čebelje družine, ter končno podali oceno o možnostih za izvajanje selekcije čebel. Za zatiranje varoj v spremljanih družinah se uporabljajo izključno zdravila, ki jih predpiše lečeči veterinar VF NVI. Pri vseh čebeljih družinah na stojišču so se zdravila uporabila na strokovno pravilen način.
5. V testiranih čebeljih družinah smo spremljali zdravstveno stanje in ob upoštevanju veljavne zakonodaje na področju zdravstvenega varstva čebel izvedli opravila za zaščito zdravja čebel.
6. Na osnovi izvedenih testiranj bo mogoče določiti standarde za oceno napadenosti družin z varojami in metode in standarde za selekcijo na večjo odpornost čebeljih družin za obvladovanje varoze.

## **Rezultati in ugotovitve**

### **Ad1.**

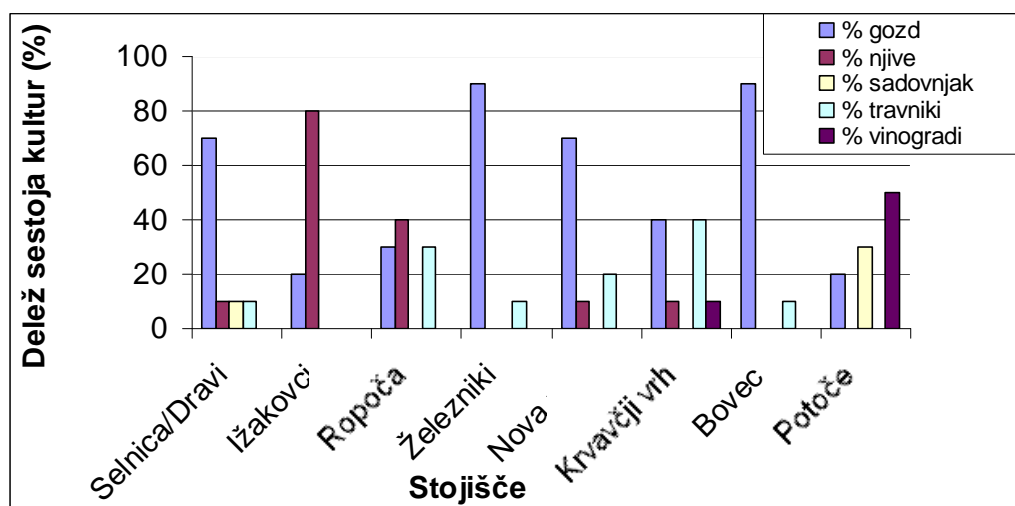
Čebelje družine smo ocenjevali v čebelnjakih na osmih različnih lokacijah:

Selnica ob Dravi: SI 286224; Ižakovci: SI149927; Ropoča: SI101204; Železniki: SI133128; Nova vas (Besnica pri Kranju): SI116512; Krvavčji vrh – Bela krajina: SI169888; Bovec: SI203928; Potoče (Sežana): SI 108933.

Čebelarstva so locirana v različnih geografskih in klimatskih območjih. V območjih je različna gostota čebelnjakov s čebeljimi družinami, v okolici pa so različne rastlinske in kmetijske kulture. Za opis kmetijske dejavnosti v okolici vseh lokacij smo uporabili podatke, dobljene neposredno na terenu. Določili smo deleže kmetijske rabe (gozd, njive, sadovnjaki,...) okrog vsake lokacije v oddaljenosti do 1 km.

Pri pregledu okolice čebelnjakov v premeru okrog 2 km smo ugotovili, da prevladuje gozd. V posameznih območjih, kjer so prisotni vinogradi, sadovnjaki ali njive smo ustrezno vrednotili obseg površine v relativnih deležih, ki so prikazani v grafu 1. Na njihovih površinah so bile predvsem zasejane kmetijske kulture kot so koruza, ječmen, pšenica.

Graf 1. Struktura obdelave površin v območju okrog 1 km v okolici čebelnjakov.



Gostota čebelnjakov v okolici stojišč, ki smo jih spremljali, se med seboj precej razlikuje. V premeru 2 km smo ugotovili od 1 do 6 čebelnjakov. Gostota naseljenosti čebeljih družin je za razvoj kužnih bolezni, za širjenje in reinvazijo parazitov v čebelje družine velikega pomena. Prav zaradi gosto naseljenih območij s čebeljimi družinami je potrebna posebna skrb pri spremljanju razvoja populacij varoj v družinah kot tudi pri samem zatiranju in ugotavljanju uspešnosti zatiranja. V tabeli 2 prikazujemo število čebelnjakov v razdalji do 1 km od čebelnjakov, ki smo jih obravnavali v naši raziskavi.

Tabela 2. Lokacije čebelnjakov, ki so bili vključeni v našo raziskavo in so bili obdani s prikazanim številom sosednjih čebelnjakov v premeru 1 km.

		Št. čebelnjakov v okolici (r=1km)
Selnica ob Dravi	SI 286224	5
Ižakovci	SI149927	6

<b>Ropoča</b>	SI101204	1
<b>Železniki</b>	SI133128	1
<b>Nova vas</b>	SI116512	3
<b>Krvavčji vrh</b>	SI169888	3
<b>Bovec</b>	SI203928	5
<b>Potoče</b>	SI 108933	9

## Ad2.

Ocenjevali smo stanje čebeljih družin: jakost, obseg zalege, napadenosti z varojo, pregled zalege na napadenost z varojami. Vsako čebeljo družino smo pregledali v dveh časovnih obdobjih. Takrat smo tudi vzorčili cvetni prah za kemijsko in pelodno analizo, ter čebele delavke za pregled na prisotnost spor *Nosema* spp. in viruse (ABPV, SBV, DWV, BQCV).

Čebelje družine so bile v spomladanskem obdobju oskrbovane na različne načine. Čebelarji so dodajali medeno satje iz skladišča, izdelovali sladkorne pogače, pokladali nabavljene pogače ali pa so družine razvijali na zimskih zalogah hrane. Vsi čebelarji imajo stalno stojišče, le posamezni čebelarji v nekaterih letih oz. obdobjih, ko je pomanjkanje nektarja ali v sušnem obdobju, družine prepeljejo na drugo lokacijo. Vsi čebelarji tudi zatirajo varoje z uporabo sonaravnih metod. V posameznih primerih, predvsem kadar se varoje namnožijo prekomerno, posežejo po registriranih kemičnih zdravilih. Čebelarji praviloma skrbijo za zamenjavo satja, saj zamenjajo najmanj 1/5 in do 1/2 satja letno. Obnova satja je s stališča vzdrževanja higienskega stanja v družinah in preprečevanja pojavljanja nekaterih bolezni ključnega pomena. Podrobnejši prikaz izvedenih apitehničnih ukrepov v čebelarstvih je prikazan v tabeli 3.

Tabela 3: Prikazane so značilnosti čebelarških ukrepov v čebelarstvih. Ukrepi predstavljajo skrb za družine v spomladanskem obdobju, stalnost lokacije čebeljih družin, pristop k zatiranju varoj, in obseg menjave satja.

	<b>oskrba družin - spomladanska</b>	<b>lokacija čebelarjenja</b>	<b>zatiranje varoj</b>	<b>zamenjava satja</b>
<b>Selnica/Dravi</b>	pogače spomladi, sladkorna razt.	stalna lokacija	sonaravno in konvencionalno	do 1/3 letno
<b>Ižakovci</b>	med v satju	stalna lokacija	sonaravno in konvencionalno	do 1/3 letno
<b>Ropoča</b>	pogače, Apifonda	stalna lokacija	sonaravno in konvencionalno	do 1/2 letno
<b>Železniki</b>	zimski zaloga; brez dodajanja hrane	stalna lokacija	sonaravno in konvencionalno	do 1/5 letno
<b>Nova vas</b>	pogače spomladi (narejenci)	stalna lokacija, občasni prevoz na Jelovico	sonaravno in konvencionalno	do 1/3 letno

<b>Krvavčji vrh</b>	pogče (1 kg)	stalna lokacija	sonaravno in konvencionalno	do 1/4 letno
<b>Bovec</b>	zimski zaloga; brez dodajanja hrane	stalna lokacija	sonaravno	do 1/2 letno
<b>Potoče</b>	pogače	stalna lokacija, občasni prevoz	sonaravno	do 1/3 letno

### Ad3.

#### Analize cvetnega prahu na ostanke FFS in na botanično sestavo

V okviru poskusa je bilo zbranih in analiziranih 16 vzorcev cvetnega prahu. Na vsaki lokaciji smo odvzeli po dva vzorca, prvega v začetku poskusa in drugega ob koncu poskusa. Dvoje vzorcev na vsaki lokaciji nam omogoča ugotoviti prisotnost potencialnih onesnaževalcev in morebitne spremembe v koncentracijah kemičnih substanc v zbranih vzorcih cvetnega prahu.

#### Ostanki FFS

Namen in cilj je s poskusi v naravnem okolju preveriti koncentracije aktivnih snovi do okrog 190 FFS v območjih, kjer smo imeli posamezne čebeljnake.

Potek laboratorijske analize: vzorcu cvetnega prahu, zbranega z osmukalnikom, dodamo mešanico topil v razmerju aceton:petroleter:diklorometan = 1:2:2. Mešanico mikamo 4 minute z mikserjem in jo nato centrifugiramo. Topilo odparimo na rotavaporju in ga nato do suhega preprihemo z dušikom. Suhi preostanek raztopimo v mešanici cikloheksan:etilacetat = 1:1 in ga čistimo z gelsko permeacijsko kromatografijo. Topilo odparimo na rotavaporju in ga nato do suhega preprihemo z dušikom. Suhi preostanek raztopimo v mešanici etilacetat:cikloheksan za določevanje s plinskim kromatografom, sklopljenim z masnim spektrometrom (GC/MS), oziroma z metanolom za določevanje s tekočinskim kromatografom, sklopljenim s tandemskim masnim spektrometrom (LC/MS/MS).

Analize so bile izvedene v okviru dveh modulov: MULTI 1 in MULTI 2. Skupaj vključujejo okrog 190 substanc, ki se potencialno nahajajo v kmetijskem okolju. V tabeli 4 so prikazane vse substance na katere smo preiskali vzorce cvetnega prahu. V tabeli 5 pa so prikazani rezultati analiz vzorcev ki so bili pozitivni na folpet.

Tabela 4. Seznam analiziranih aktivnih snovi – 1. del

acefat	fenamidon
acetamiprid	fenarimol
akrinatrin	fenazakvin
aldikarb	fenbukonazol
aldikarb sulfoksid	fenheksamid
aldikarb sulfon	fenitrotion
aldrin	fenmedifam
azinfos-etil	fenoksaprop-P-etil
azinfos-metil	fenoksikarb

azoksistrobin	fenpiroksimat
beflubutamid	fenpropidin
benalaksil	fenpropimorf
benalaksil-M	fention
bifentrin	fention sulfoksid
bitertanol	fention sulfon
boskalid	fenvalerat
bromopropilat	flonikamid
bupirimat	florasulam
buprofezin	fluazifop-P-butil
cihalotrin-lambda	fludioksonil
cikloksidim	flufenacet
cimoksanil	flukvinkonazol
cipermetrin (vsota izomerov)	fluorokloridon
ciprodinil	fluokspir
ciprokonazol	flusilazol
ciromazin	flutriafol
DDT (vsota o,p-DDT, p,p-DDD, o,p-DDD, p,p-DDE, p,p-DDT)	foksim
deltametrin (cis-deltametrin)	folpet
demeton-S-metil-sulfon	foramsulfuron
desmedifam	forat
desmetilpirimikarb	forat sulfoksid
diazinon	forat sulfon
difenilamin	fosalon
difenokonazol	HCH-alfa
diflufenikan	HCH-beta
diklofluamid	HCH-delta
diklorvos	heksaklorobenzen
dimetaklor	heksakonazol
dimetenamid-p	heksitiazoks
dimetoat	heptaklor
dimetomorf	heptenofos
dinikonazol	imazalil
endosulfan (vsota alfa- in beta-izomerov in endosulfan-sulfata, izražena kot endosulfan)	imidaklopid
endrin	indoksakarb (vsota indoksakarba in njegovega R-enantiomera)
epoksikonazol	iprodition
esfenvalerat	iprovalikarb
etofumesat	izoksaflutol
famoksadon	izoproturon

#### Seznam analiziranih aktivnih snovi – 2. del

jodosulfuron-metil-natrij	paraokson metil
kaptan	paration
karbaril	paration-metil
karbendazim	pendimetalin

karbofuran	penkonazol
karbaksin	permetrin (vsota izomerov)
klofentezin	pimetrozin
klomazon	piraklostrobin
klopiralid	pirazofos
klorotalonil	piridafention
klorpirifos	pirimetanil
klorpirifos-metil	pirimifos-metil
klorprofam	pirimikarb
klortoluron	profenofos
klotianidin	prokloraz
krezoksim-metil	propakvizafop
kvinalfos	propamokarb
kvinoklamin	propargit
lindan (HCH-gama)	propikonazol
linuron	propizamid
lufenuron	prosimidon
malaokson	prosulfokarb
malation	spinosad (vsota spinosina A in spinosina D izražena kot spinosad)
mandipropamid	spirodiklofen
mekarbam	spiroksamin
metakrifos	tebufenozid
metalaksil	tebukonazol
metalaksil-M	terbutilazin
metamidofos	tetradifon
metamitron	tetrakonazol
metazaklor	tiabendazol
metidation	tiaklopid
metiokarb	tiametoksam
metiokarb sulfoksid	tifensulfuron-metil
metiokarb sulfon	tiodikarb
metoksifenozid	tiofanat-metil
metomil	tolilfluamid
metosulam	tolklofos-metil
metrafenon	triadimefon
metribuzin	triadimenol
miklobutanil	triasulfuron
monokrotofos	triazofos
napropamid	trifloksistrobin
oksadiksil	triklorfon
oksamil	trineksapak-etil
oksidemeton-metil	vinklozolin
ometoat	zoksamid



Tabela 5. Rezultati pozitivnih analiz na folpet

opis vzorca	analitska številka	folpet (mg/kg)
		LOQ= 0,01 meja kvantitativne določitve metode (limit of quantification).
<b>Potoče</b> (3.7.2013)	13-2352	<b>0,09</b>
2	13-2353	-
3	13-2354	-
4	13-2355	-
<b>Krvavčji vrh</b> (2.8.2013)	13-2356	<b>0,01</b>
6	13-2357	-
7	13-2358	-
8	13-2359	-
<b>Potoče</b> (23.7.2013)	13-2360	<b>0,16</b>
10	13-2361	-
11	13-2362	-
12	13-2363	-
13	13-2364	-
14	13-2365	-
15	13-2366	-
16	13-2367	-

Legenda: - ; pod mejo kvantitativne določitve metode (< LOQ) .

V analiziranih vzorcih je bil od vseh testiranih FFS ugotovljen le folpet. Folpet se uporablja v kmetijstvu kot fungicid. V tabeli 6 zato podajamo preglednico možne rabe le te aktivne substance.

Tabela 6. Raba fitofarmaceutskih sredstev z aktivno snovjo folpet, katere prisotnost je bila ugotovljena v vzorcih cvetnega prahu

aktivna snov	pripravek	tip	uporaba na	uporaba proti
folpet valifenalat	EMENDO F	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	peronospora vinske trte
folpet benalaksil-M	FANTIC F WG	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	peronospora vinske trte
folpet	FOLPAN 50 SC	Fungicid	čebula, oljka, paradižnik, vinska trta za	čebulna plesen, črna listna pegavost

			pridelavo vinskega grozdja	paradižnika, črna pegavost vinske trte, oljkova kozavost, peronospora vinske trte
folpet	FOLPAN 80 WDG	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	črna pegavost vinske trte, peronospora vinske trte
folpet dimetomorf	FORUM STAR	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	peronospora vinske trte
folpet iprovalikarb	MELODY COMBI WG 65,3	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	peronospora vinske trte
folpet fosetil-Al	MIKAL FLASH	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	črna pegavost vinske trte, peronospora vinske trte
folpet fosetil-Al iprovalikarb	MIKAL PREMIUM F	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	peronospora vinske trte
folpet fosetil-Al	MOMENTUM F	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	črna pegavost vinske trte, peronospora vinske trte
folpet mandipropamid	PERGADO F	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	peronospora vinske trte
folpet metalaksil-M	RIDOMIL GOLD COMBI PEPITE	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	peronospora vinske trte
folpet azoksistrobin	UNIVERSALIS	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	črna pegavost vinske trte, peronospora vinske trte, oidij, rdeči listni ožig vinske trte
folpet valifenalat	VALIS F	fungicid	vinska trta za pridelavo vinskega grozdja	peronospora vinske trte

## Botanična sestava cvetnega prahu

Za ugotovitev botanične sestave cvetnega prahu v zbranih vzorcih smo uporabili mikroskopsko preiskavo. Pelodna analiza je bila opravljena na 16 vzorcih cvetnega prahu iz osmih lokacij. Vzorci so bili nabrani s pomočjo osmukalnikov na bradi panja. Postopek določanja potekal tako, da smo zbrani vzorc razdelili na več podvzorcev s četrтинjenjem (z ravnilom). Posamičen podvzorec je tako tehtal 2 – 3g. Nato smo posamezne podvzorce prelili s destilirano vodo in pustili da se je cvetni prah homogeniziral. Nato smo raztopino ob mešanju prenesli na objektno steklo in prešteli pelodna zrna in izračunali deleže cvetnega prahu za posamezne vrste rastlin, pri rastlinskih vrstah, ki pa jih s pelodno analizo težko določiti pa smo podali delež družine ali poddružine rastlin.

Na posameznih lokacijah čebelnjakov je bila v tabeli 7 prikazana botanična sestava s čebelami zbranih vzorcev cvetnega prahu.

Tabela 7. Delež pelodnih zrn posamezne rastlinske vrste, ki smo jih preiskali na osmih lokacijah.

### Selnica ob Dravi (Štajerska)

	<i>Acer</i>	<i>Apiaceae</i>	<i>Asteraceae-f-A</i>	<i>Asteraceae-f-H</i>	<i>Asteraceae-f-J</i>	<i>Asteraceae-f-T</i>
	javor	kobulnice	nebinovke	nebinovke	nebinovke	nebinovke
21.6.2013	<1	<1		<1	34,5	1,6
26.7.2013	<1	2,9	1,2	<1	49,9	1

	<i>Castanea</i>	<i>Centaurea cyanus</i>	<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Plantago</i>	<i>Poaceae</i>
	pravi kostanj	modri glavinec	metlikovke	ustnatice	trpotec	trave
21.6.2013	23,4		<1	<1	20,4	<1
26.7.2013	<1	1,2		<1	11,5	<1

	<i>Trifolium pratense</i>	<i>Trifolium repens-tip</i>	<i>Zea</i>
	črna detelja	tip bele detelje	koruza
21.6.2013	<1	1,6	15,6
26.7.2013		5,3	23,9

## Ižakovci (Pomurje)

	<i>Asteraceae-f-H</i>	<i>Asteraceae-f-S</i>	<i>Castanea</i>	<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Convolvulus</i>	<i>Cucurbit</i>
	nebinovke	nebinovke	pravi kostanj	metlikovke	slak	buča
24.6.2013	<1	<1		1,8	<1	<1
25.7.2013			80,6			

	<i>Filipendula</i>	<i>Ligustrum</i>	<i>Malus/Prunus</i>	<i>Plantago</i>	<i>Rubus</i>	<i>Tilia</i>
	oslad	kalina	jablana/tip slive	trpotec	robida	lipa
24.6.2013		1	<1	24,7	2,5	
25.7.2013	4,2		1,9		1	3,5

	<i>Viola</i>	<i>Zea</i>
	vijolica	koruza
24.6.2013	<1	5,7
25.7.2013		

## Ropoča (Pomurje)

	<i>Acer</i>	<i>Aesculus</i>	<i>Apiaceae</i>	<i>Asteraceae-f-H</i>	<i>Asteraceae-f-J</i>	<i>Asteraceae-f-S</i>
	javor	divji kostanj	kobulnice	nebinovke	nebinovke	nebinovke
24.6.2013	1,3		1,8	<1		<1
25.7.2013		<1			<1	

	<i>Brassicaceae</i>	<i>Calystegia</i>	<i>Castanea</i>	<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Convolvulus</i>	<i>Fagopyrum</i>
	križnice	plotni slak	pravi kostanj	metlikovke	slak	ajda
24.6.2013		<1		<1	<1	6,6
25.7.2013	<1		77,5			3,2

	<i>Geranium</i>	<i>Gleditsia</i>	<i>Hypericum</i>	<i>Ligustrum</i>	<i>Malus/Prunus</i>	<i>Plantago</i>
	krvomočnica	gledičevka	krčnica	kalina	jablana/tip slive	trpotec
24.6.2013	<1	4,3		<1		27
25.7.2013			<1		<1	1

	<i>Rubus</i>	<i>Tilia</i>	<i>Trifolium repens-tip</i>	<i>Zea</i>
	robida	lipa	tip detelje	koruza
24.6.2013			4	14,9
25.7.2013	<1	3,7	2	

## Železniki (Železniki)

	<i>Acer</i>	<i>Amorpha</i>	<i>Apiaceae</i>	<i>Asteraceae-f-A</i>	<i>Asteraceae-f-H</i>	<i>Asteraceae-f-J</i>
	javor	amorfa	kobulnice	nebinovke	nebinovke	nebinovke
28.6.2013			3,3	6,8	<1	<1
31.7.2013	3,4	<1	26,4	11,2	10,6	

	<i>Asteraceae-f-T</i>	<i>Castanea</i>	<i>Convolvulus</i>	<i>Cucurbita</i>	<i>Ericaceae</i>	<i>Geranium</i>
	nebinovke	pravi kostanj	slak	buča	vresovke	krvomočr
28.6.2013	1,1	64,2	<1			
31.7.2013			<1	1,8	<1	<1

	<i>Hypericum</i>	<i>Knautia</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Luzula</i>	<i>Malus/Prunus</i>	<i>Onagrac</i>
	krčnica	grabljišče	ustnatice	bekica	jablana/tip slive	svetlinov
28.6.2013	<1		<1			6,9
31.7.2013		3,2		<1	5,6	<1

	<i>Poaceae</i>	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Robinia</i>	<i>Rubus</i>	<i>Salix</i>	<i>Silene</i>
	trave	zlatičevke	robinija	robida	vrba	lepnica
28.6.2013	1,7			2,1		
31.7.2013	1	2,5	3,4	<1	<1	4,5

	<i>Trifolium repens-tip</i>	<i>Zea</i>
	tip bele detelje	koruza
28.6.2013	10,5	<1
31.7.2013	4,7	

## Nova vas (pri Kranju)

	<i>Acer</i>	<i>Amorpha</i>	<i>Apiaceae</i>	<i>Asteraceae-f-A</i>	<i>Asteraceae-f-H</i>	<i>Asteraceae-f-J</i>
	javor	amorfa	kobulnice	nebinovke	nebinovke	nebinovke
28.6.2013	5,5	1,6	56,7	<1		
31.7.2013			<1		<1	1,1

	<i>Brassicaceae</i>	<i>Castanea</i>	<i>Centaurea cyanus</i>	<i>Echium</i>	<i>Fagopyrum</i>	<i>Filipendula</i>
	križnice	pravi kostanj	modri glavinec	gadovec	ajda	osladič
28.6.2013				2,2		
31.7.2013	<1	77,2	<1		7,6	<1

	<i>Geranium</i>	<i>Helianthemum</i>	<i>Hypericum</i>	<i>Knautia</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Luzula</i>
	krvomočnica	popon	krčnica	grabljišče	ustnatice	bekica
28.6.2013	<1	3,1	1,4	<1	<1	<1
31.7.2013						

	<i>Papaver</i>	<i>Parthenocissus</i>	<i>Plantago</i>	<i>Poaceae</i>	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Robinia</i>
	mak	vinika	trpotec	trave	zlatičevke	robinija
28.6.2013	<1		<1	2	4,1	5
31.7.2013		9	<1	<1	<1	

	<i>Silene</i>	<i>Tilia</i>	<i>Trifolium pratense</i>	<i>Trifolium repens-tip</i>
	lepnica	lipa	črna detelja	tip bele detelje
28.6.2013	1,6		1,9	1,6
31.7.2013		1,2		1,1

### Krvavčji vrh (Bela krajina)

	<i>Apiaceae</i>	<i>Artemisia</i>	<i>Asteraceae-f-A</i>	<i>Asteraceae-f-H</i>	<i>Asteraceae-f-J</i>	<i>Asteraceae-f-S</i>
	kobulnice	pelin	nebinovke	nebinovke	nebinovke	nebinovke
1.7.2013				1,5	1,3	0,5
2.8.2013	2,4	<1	<1	1	13	

	<i>Brassicaceae</i>	<i>Calystegia</i>	<i>Castanea</i>	<i>Convolvulus</i>	<i>Fagopyrum</i>	<i>Fragaria</i>
	križnice	plotni slak	pravi kostanj	slak	ajda	jagodnjak
1.7.2013	<1		75,5	<1		<1
2.8.2013		<1		<1	3,6	

	<i>Ligustrum</i>	<i>Malus/Prunus</i>	<i>Plantago</i>	<i>Poaceae</i>	<i>Scabiosa</i>	<i>Tilia</i>
	kalina	jablana/tip slive	trpotec	trave	grintavec	lipa
1.7.2013	1,6	<1	4			7,5
2.8.2013			12,6	1	1,2	

	<i>Viburnum</i>	<i>Zea</i>
	brogovita	koruza
1.7.2013		
2.8.2013	<1	13

## Bovec

	<i>Amorpha</i>	<i>Apiaceae</i>	<i>Asteraceae-f-A</i>	<i>Asteraceae-f-H</i>	<i>Asteraceae-f-J</i>	<i>Asteraceae-f-S</i>
	amorfa	kobulnice	nebinovke	nebinovke	nebinovke	nebinovke
3.7.2013	<1			7		<1
23.7.2013		41,6	6	1	<1	3,1

	<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Ericaceae</i>	<i>Geranium</i>	<i>Helianthemum</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Ligustrum</i>
	metlikovke	vresovke	krvomočnica	popon	ustnatice	kalina
3.7.2013	5,9		<1	<1		4,2
23.7.2013		<1		7,2	6,6	<1

	<i>Liriodendron</i>	<i>Lonicera</i>	<i>Lotus</i>	<i>Pinaceae</i>	<i>Plantago</i>	<i>Prunus</i>
	tulipanovec	kosteničevje	nokota	borovke	trpotec	tip slive
3.7.2013	<1	<1			40	9,6
23.7.2013			5,1	<1	3,8	
	<i>Rubus</i>	<i>Silene</i>	<i>Tilia</i>	<i>Trifolium pratense</i>	<i>Trifolium repens-tip</i>	
	robida	lepnica	lipa	črna detelja	tip bele detelje	
3.7.2013	1		<1	<1	5,9	
23.7.2013		1,1		10	13,2	

## Potoče

	<i>Apiaceae</i>	<i>Asteraceae-f-A</i>	<i>Asteraceae-f-H</i>	<i>Asteraceae-f-J</i>	<i>Asteraceae-f-S</i>	<i>Asteraceae-f-T</i>
	kobulnice	nebinovke	nebinovke	nebinovke	nebinovke	nebinovke
3.7.2013			7,5	<1	<1	<1
23.7.2013	<1	1,3	12,8	4,3	<1	20,9

	<i>Castanea</i>	<i>Convolvulus</i>	<i>Gleditsia</i>	<i>Helianthemum</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Liliaceae</i>
	pravi kostanj	slak	gledičevka	popon	ustnatice	lilijevke
3.7.2013	43,7	<1		<1		
23.7.2013		2,3	1,8		<1	6,2

	<i>Malus/Prunus</i>	<i>Papaver</i>	<i>Parthenocissus</i>	<i>Pinaceae</i>	<i>Plantago</i>	<i>Ranunculus</i>
	jablana/tip slive	mak	vinika	borovke	trpotec	zlaticer
3.7.2013	<1	<1		<1	11,3	2
23.7.2013			12,5		4	24,8

	<i>Trifolium repens-tip</i>
	tip bele detelje
3.7.2013	9
23.7.2013	5,1

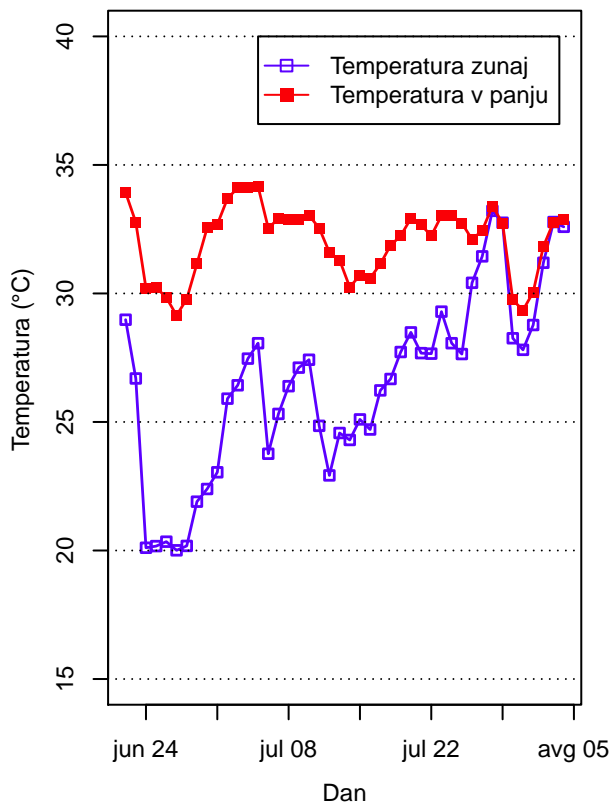
## Gibanje temperature in vlažnosti v panjih in v okolici

Na štirih lokacijah smo spremljali gibanje temperature in vlažnost v panjih in v okolici. Na posameznem stojišču smo temperaturo in vlago spremljali v petih panjih. V panje smo sonde za beleženje temperature in vlage vstavili ob gnezdo. Temperaturi smo v času izvajanja poskusa beležili v enournih presledkih. V končni obdelavi podatkov smo izračunali povprečne dnevne in nočne temperature in vlažnost za vse testirane panje na lokaciji, ki jih prikazujemo v grafih št. 2. V času izvedbe poskusov čebelarji niso izvajali tretiranja proti varojam, ker so spremljali naravni odpad, bile so tudi zelo visoke zunanje temperature in v nekaterih lokacijah tudi še medenje.

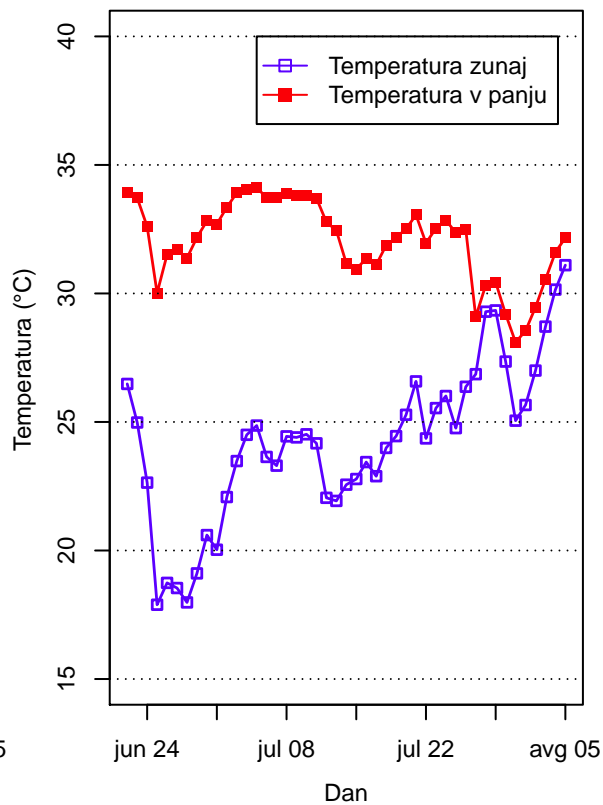
Graf 2. prikazane so povprečne temperature in vlage v vseh spremljanih panjih in v okolici, za dnevni čas od 7. do 22. ure in za nočni čas od 22. do 7. ure zjutraj.



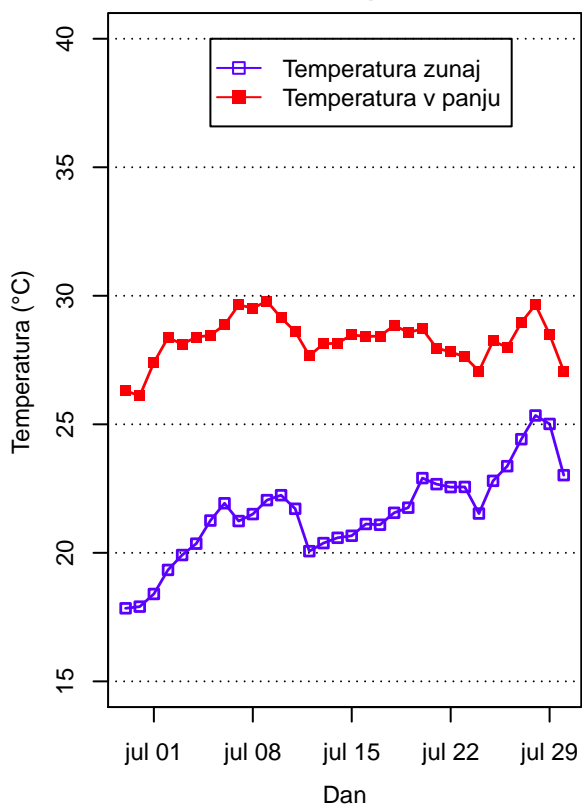
Selnica – podnevi



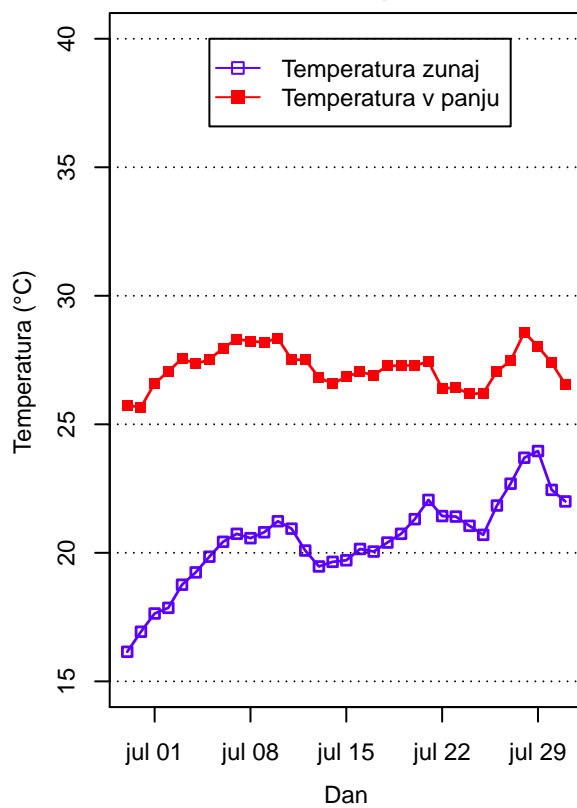
Selnica – pono i



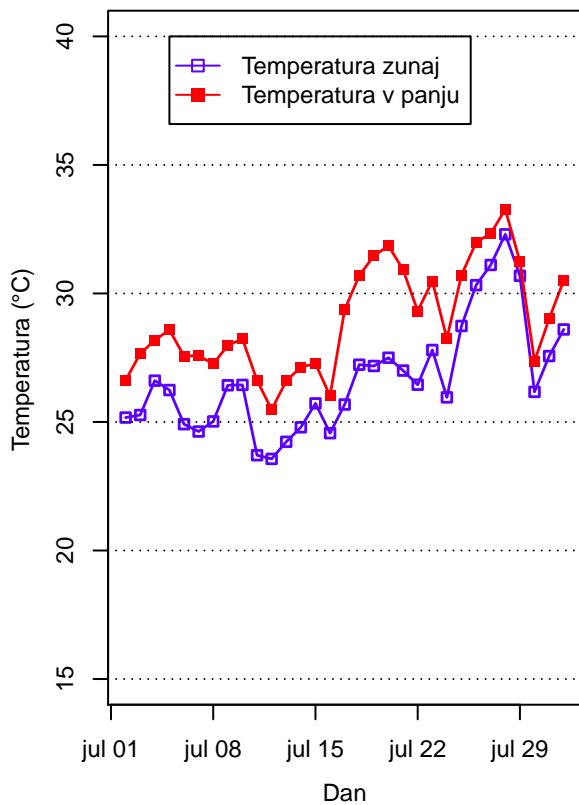
Železniki – podnevi



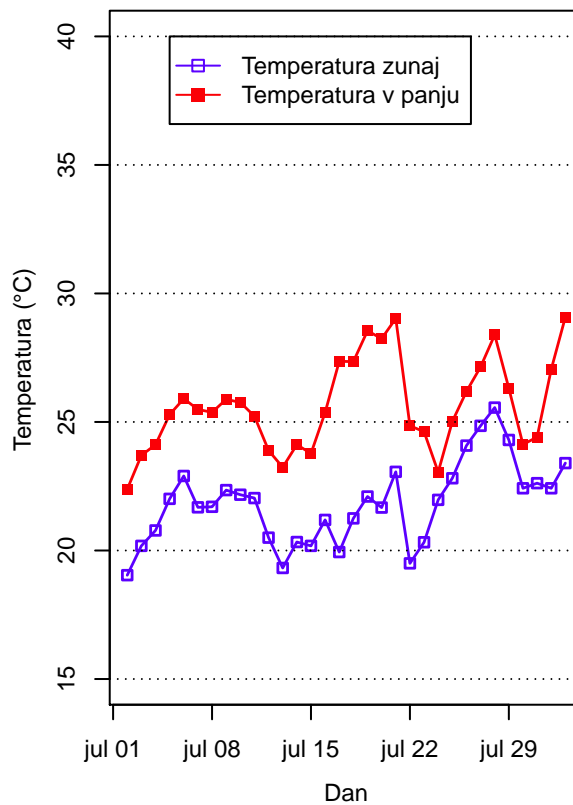
Železniki – pono i



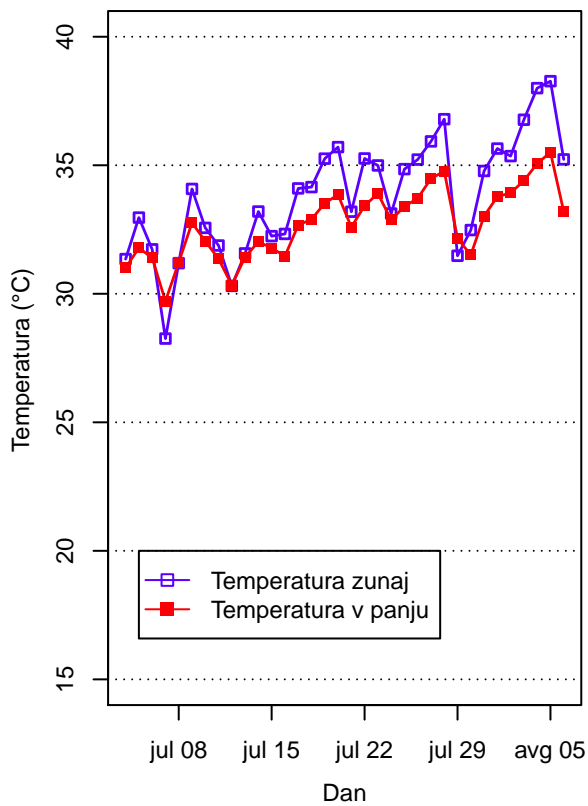
**Krvav ji vrh – podnevi**



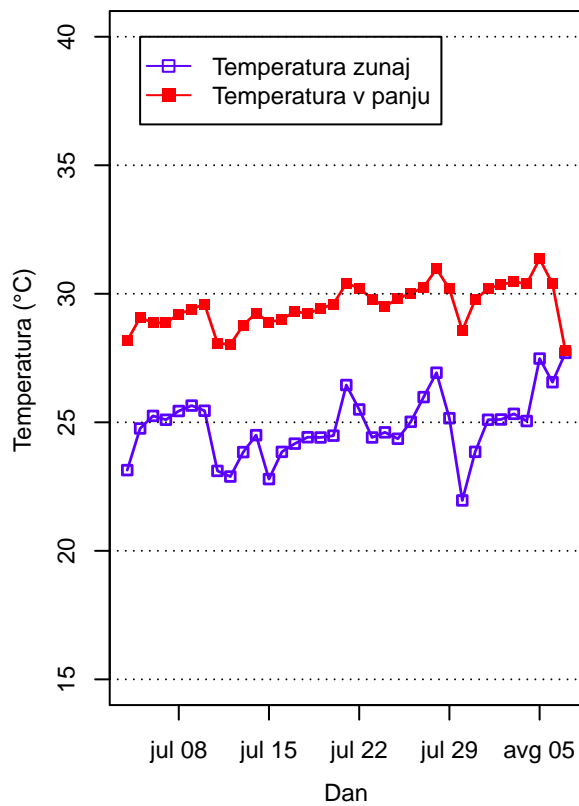
**Krvav ji vrh – pono i**



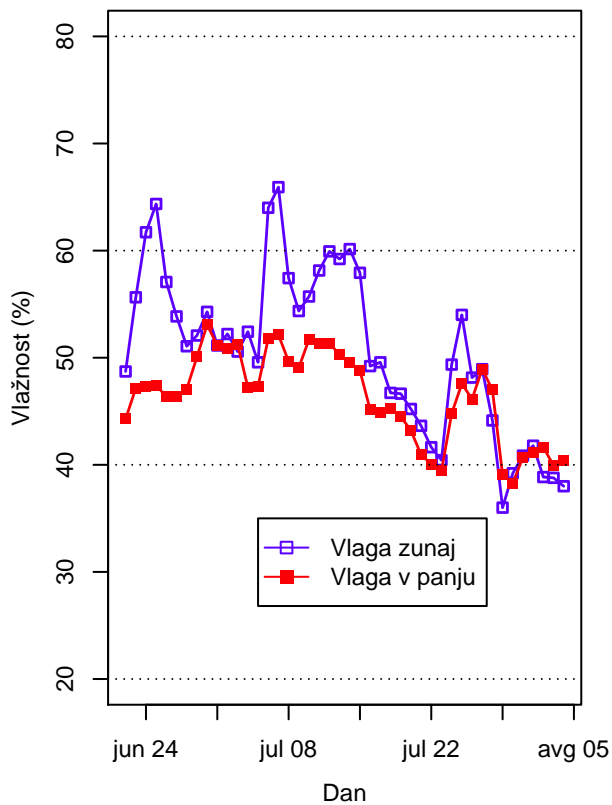
**Poto e – podnevi**



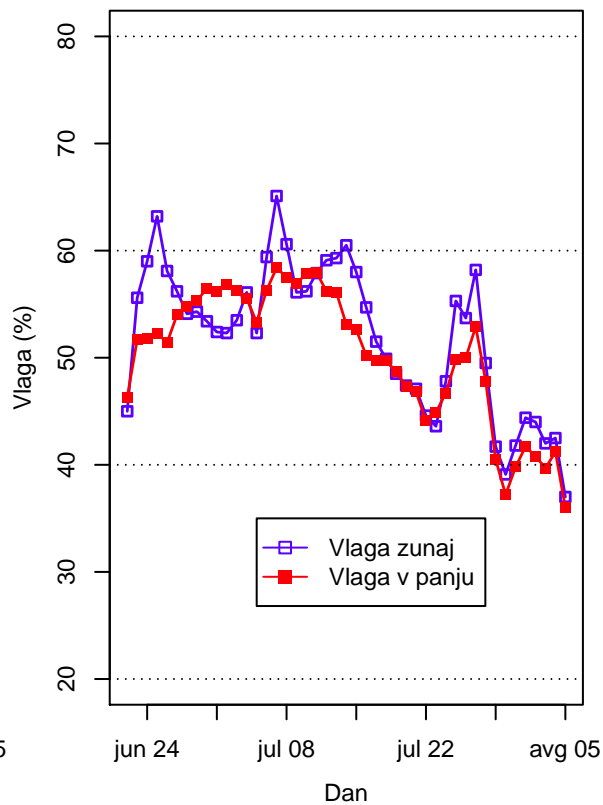
**Poto e – pono i**



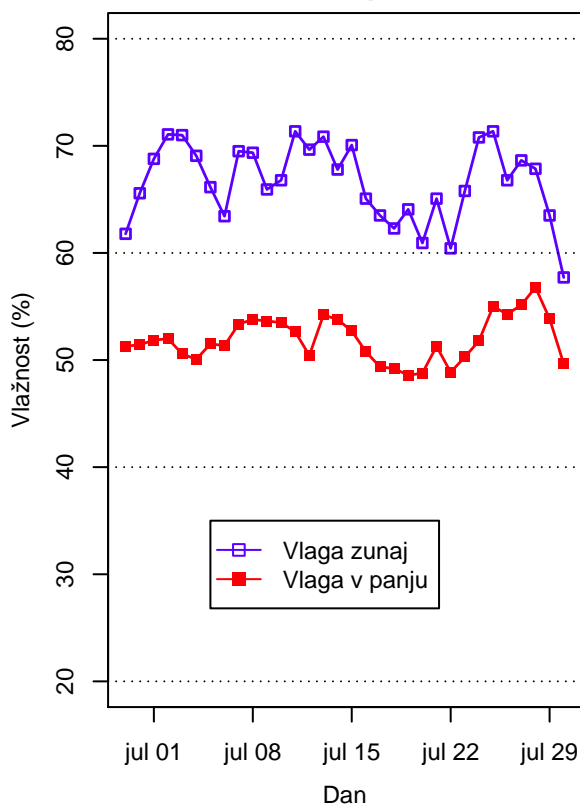
Selnica – podnevi



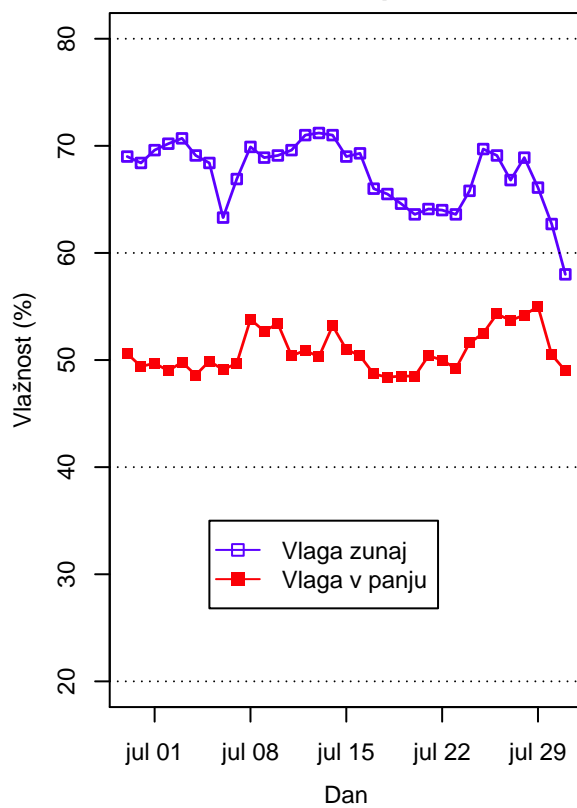
Selnica – ponoci



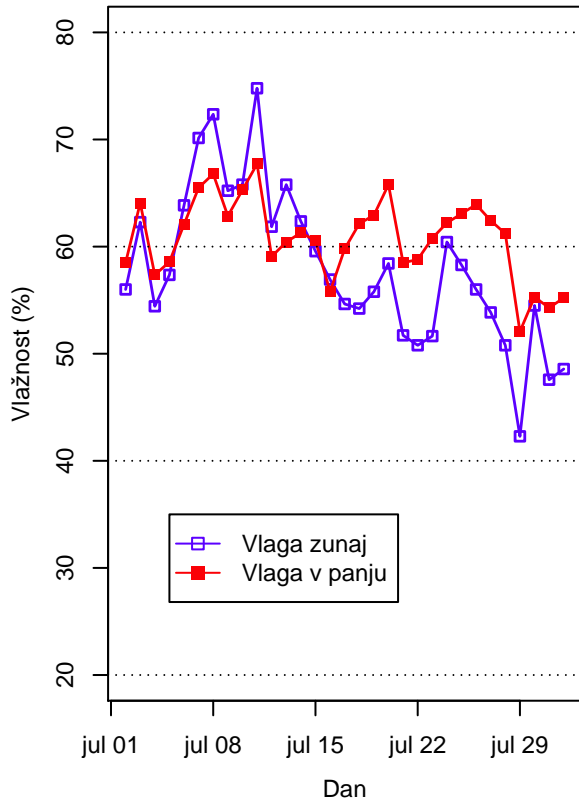
Železniki – podnevi



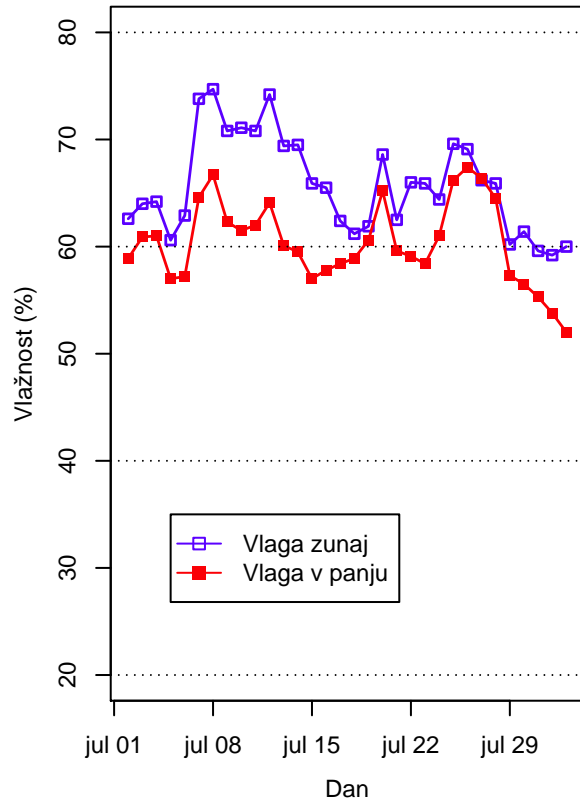
Železniki – pono i



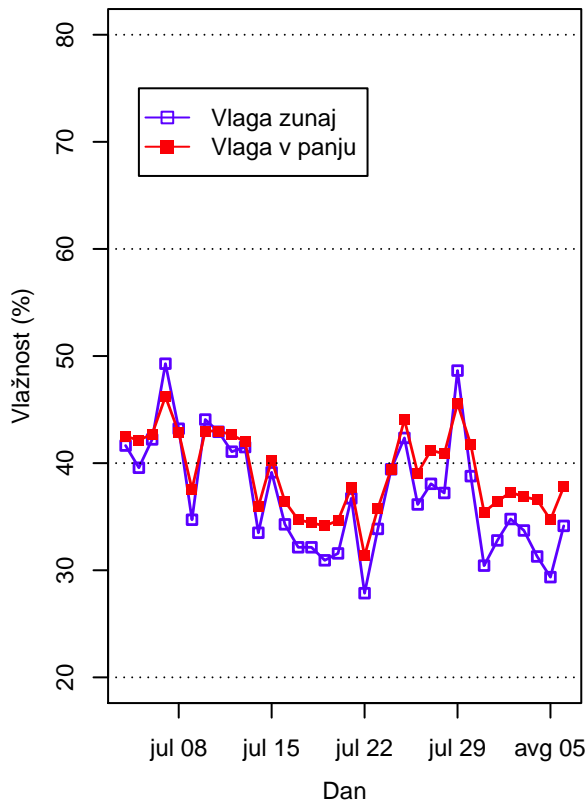
**Krvav ji vrh – podnevi**



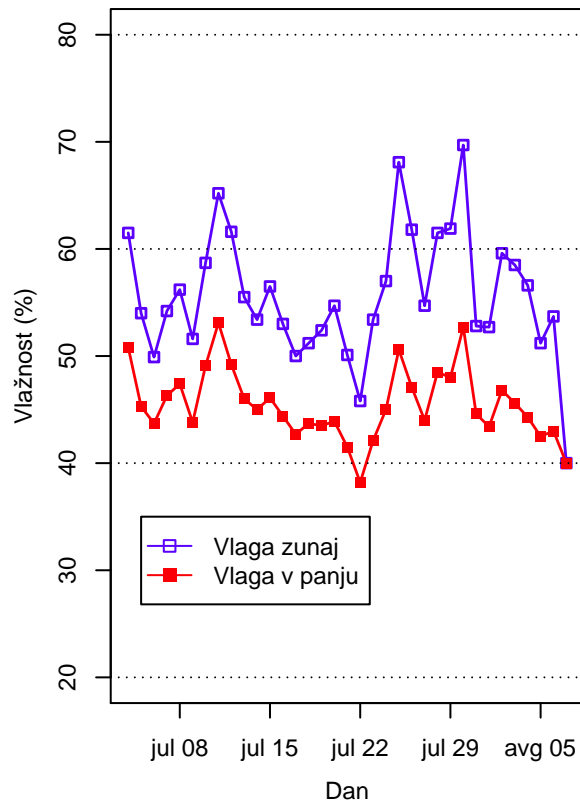
**Krvav ji vrh – pono i**



**Poto e – podnevi**

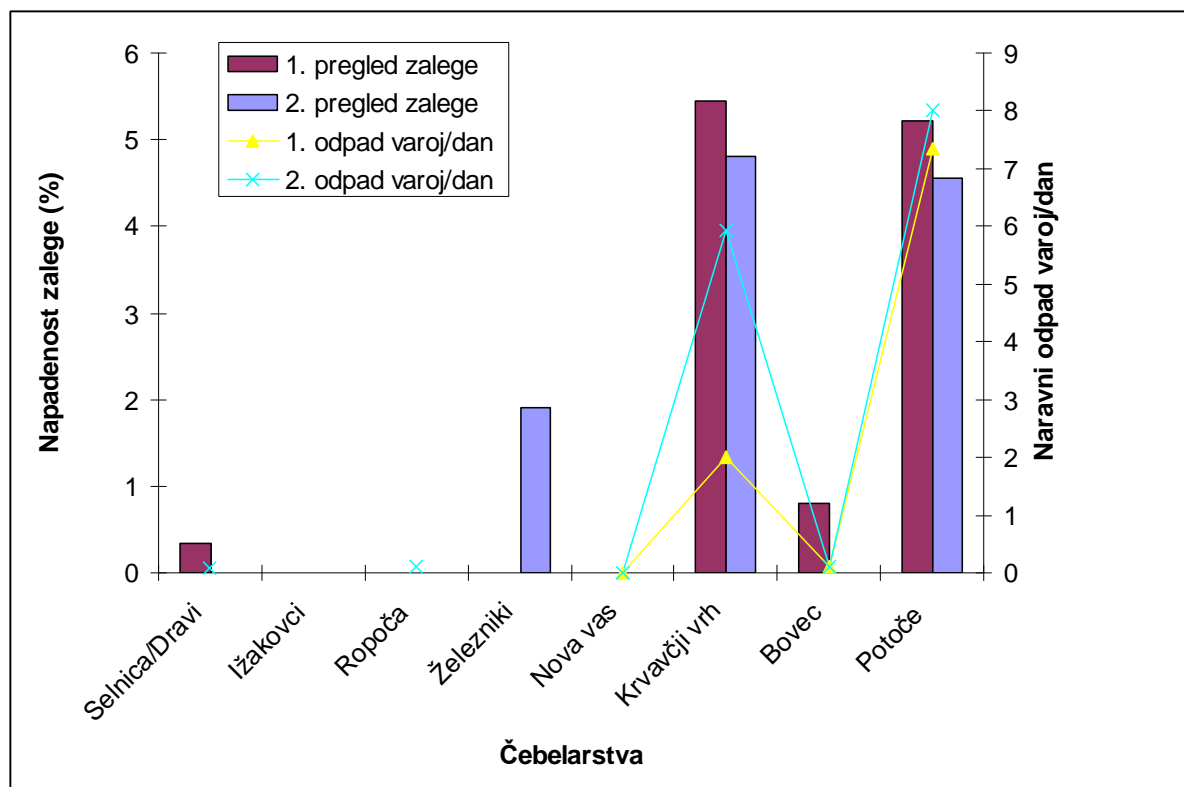


**Poto e – pono i**



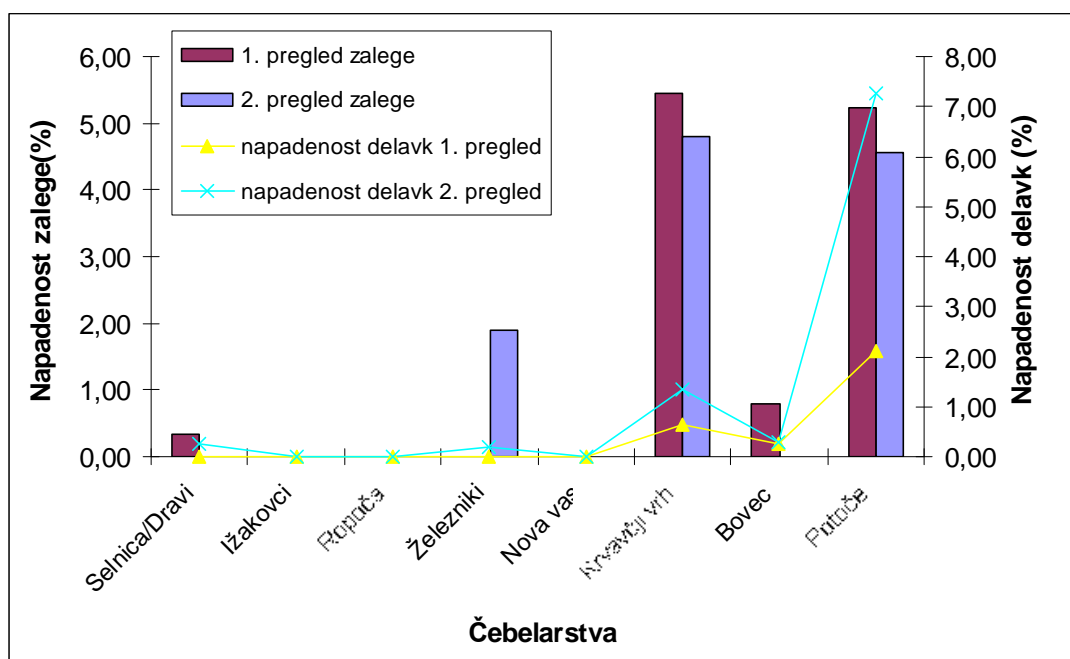


Graf 3. Prikaz napadenosti zalege (%) in naravni odpad varoj/dan v istih testnih družinah na vseh lokacijah. Pri visokem naravnem odpadu varoj na podnici panja smo ugotovili tudi znatno povečano napadenost zalege. Pri prvem pregledu nismo pridobili rezultata naravnega odpada za lokacije: Selnica ob Dravi, Ižakovci, Ropoča in železniki, ter pri drugem pregledu na lokacijah Ižakovci in Železniki. Na drugih lokacijah označenih z 0 naravnega odpada nismo zaznali.



Napadenost zalege in napadenost odraslih delavk sta uporabni diagnostični metodi. Napadenost delavk v času prvega pregleda je bila manjša kot v času drugega pregleda mesec dni kasneje. V istem obdobju pa so bile varoje v trotovini boljši pokazatelj napadenosti družin. Prav tako je naravni odpad varoj zanesljiv pokazatelj stopnje napadenosti družin, kar je predvsem razvidno v družinah, ki so z varojami bolj napadene, v Krvavčjem vrhu in v Potočah. V teh družinah so se ocenjevalne metode ugotavljanja napadenosti družin pokazale kot primerne v praktičnih čebelarških pogojih.

Graf 4. Prikaz napadenosti zalege (%) in napadenost delavk (%) v istih testnih družinah na vseh lokacijah. Pri visoki napadenosti zalege (trotovine) smo ugotovili tudi znatno povečano napadenost delavk, ki smo jih preiskali s posipanjem sladkorja v prahu. Na lokacijah, kjer niso vidni stolpci so bile ugotovljene vrednosti za napadenost zalege ali delavk enake nič.



### Pojavljanje rezistence zajedalca na nekatera do zdaj uporabljena zdravilna sredstva – akaricide

Za zatiranje varoj so v rabi številne kemične substance, biološke metode in kombinacija obeh. Najpomembnejše zdravilne substance so bile do nedavna kumafos, amitraz, fluvalinat, vse bolj pa se uveljavljajo sonaravne metode zatiranja, ki vključujejo biotehnološke ukrepe in sonaravna sredstva.

S stališča možnega razvoja odpornejših (bolj tolerantnih) čebeljih družin in tudi s stališča kvalitete čebeljih pridelkov mora biti uporabljeno sredstvo in način dajanja le-tega v čebeljo družino skrbno preizkušeno. Kontinuirano je potrebno preverjati učinkovitost akaricidov, ki so v Sloveniji v rabi za zatiranje varoj.

#### - sonaravno zatiranje varoj

Občasno se uporabljajo in preizkušajo različna akaricidna sredstva že vse od pojava parazita. V srednjeevropskem geografskem območju je potrebno 1-krat ali 2-krat letno izvesti zatiranje parazita. Uporaba sonaravnih sredstev za zatiranje varoj predstavlja možen način zatiranja varoj in predstavlja možnost zmanjševanja uporabe kemičnih akaricidov v čebelarstvu. Aktivne substance, ki jih uporabljamo pri sonaravnem zatiranju so organske

kislina (mravljinčna, mlečna, oksalna kislina), eterična olja (timol) in različni rastlinski ekstrakti. Te snovi so v naravi razširjene, nekatere od njih pa so tudi prisotne v medu. Skupaj z biotehnološkimi ukrepi želimo doseči zmanjšanje števila parazitov v čebelji družini. Pri načrtu rabi sonaravnih sredstev je tudi manjša možnost pojavljanja zaostankov teh snovi v čebeljih pridelkih.

V dosedanjem raziskovalnem delu smo ugotavljali učinkovitosti posameznih substanc na parazita. V Sloveniji imamo izdelanih nekaj optimalnih in preverjenih metod aplikacije zdravilnih sredstev, ki zagotavljajo učinkovito zatiranje varoj in hkrati zagotavljajo neoporečnost čebeljih pridelkov. Poleg tega pa tudi še nimamo podatkov o vplivu uporabe sonaravnih sredstev na čebeljo družino pri dolgotrajni, večletni uporabi. Prav dolgoročni vplivi preko zimskega obdobja in po večletni rabi teh sredstev so po predvidevanjih tudi klimatsko pogojeni. Seveda ima pri tem svojo vlogo tudi uveljavljena tehnologija čebelarjenja. Tehnološki ukrepi, kakor tudi aplikacija substanc, morajo biti prilagojene klimatskim razmeram v Sloveniji in tudi ustaljeni čebelarski praksi in tehnologiji. Sonaravno zatiranje varoj je prednostna usmeritev na področju čebelarstva v deželah EU.

**- ugotavljanje napadenosti družin in zatiranje varoj je bilo do sedaj ključnega pomena za ohranitev družin**

Za uvajanje sonaravnega zatiranja varoj je potrebno v čebelarsko prakso uvajati enostavne diagnostične metode in metode aplikacije akaricidnih sredstev in primerne tehnološke ukrepe. Metode morajo biti uporabne za manjša in večja čebelarstva. Pomemben element za zagotavljanje uspešnosti uporabe sonaravnih metod je vključevanje teh metod in sredstev v obstoječo prakso čebelarjenja. Zato je potrebno v prakso uvajati ustrezne tehnološke rešitve, ki bodo omogočale zanesljivo ugotavljanje stopnje napadenosti družin.

- **toleranca čebel na varoje** je pojem, ki obsega več dejavnikov: vedenjske, fiziološke in anatomske. Je tudi rezultat čistilnega vedenja čebel, atraktivnosti zalege, velikosti in specifičnosti čebelje zalege, sezonskega razmerja med trotovske in čebeljo zalego, lastnosti patološkega rojenja, reinvazije zajedalca, itd... Rezultat vseh navedenih dejavnikov in ukrepov čebelarja je v našem zmernem klimatskem območju sposobnost preživetja čebelje družine preko zime. Dosedanje izkušnje nam kažejo, da je bila selekcija na posameznih lastnosti neuspešna. Na osnovi te ugotovitve zaključujemo, da z uvajanjem upoštevanja stopnje napadenosti družin pospešimo selekcijo – to je razvoj večje tolerance čebel od dosedanje. Končni pričakovani rezultat je uspešnejše prezimovanje čebeljih družin in manjše izgube družin. Ugotavljanja napadenost družin z varojami je bila v letošnjem letu nizka. Ocenjujemo, da je bilo z zimskim zdravljenjem čebeljih družin, število varoj v panju močno zmanjšano.



Z izboljševanje tolerance čebeljih družin na napadenost z varojami je potrebno zasledovati naslednje cilje:

- ugotavljati in pospešiti razvoj čebel bolj tolerantnih na varozo
- zagotoviti pogoje za uspešno zatiranje varoj z uporabo organskih sredstev in razvojem tolerantnih linij čebeljih družin
- zagotoviti uspešno "čebelarjenje z varojami", ki vključuje zahteve sonaravnega čebelarjenja
- pridelava čebeljih pridelkov brez ostankov akaricidov
- ugotoviti vplive odbire bolj tolerantnih družin v večletnem časovnem obdobju
- čebelarjem zagotoviti ustrezni strokovno podporo na področju spremljanja razvoja varoj v družinah.

## Ad 5.

### Zdravstveno stanje čebeljih družin

Pri vsakem od dveh pregledov čebeljih družin smo ugotavljali tudi zdravstveno stanje. Na prisotnost spore *Nosema* spp. in viruse (ABPV, SBV, DWV, BQCV) smo pregledali po 10 čebeljih družin na vsaki od osmih lokacijah. Skupno smo preiskali 160 vzorcev delavk. Delavke smo vzorčili na mreži zadnjih, notranjih vrat v AŽ panjih, da smo zagotovili, da so bili vzorci enotni, delavke pa čim starejše. Rezultati so podani v tabeli 9.

Klinični pregled čebeljih družin.

Pri pregledu družin na stojišču smo pregledali vse satje z zalego in ocenili stanje zalege in morebitne spremembe na njej. Pri pregledu čebeljih družin smo ocenjevali prisotnost značilnih znakov za kužne bolezni (huda in pohlevna gniloba čebelje zalege) . Na nekaterih lokacijah smo ugotovili prisotnost poapnele zalege, ki se je pojavljala v vsem obdobju spremljanja družin.

### Metoda za dokazovanje virusnih infekcij

Med molekularnimi metodami za določanje nukleinskih kislin v vzorcu se je uveljavila metoda polimerazne verižne reakcije (angl. polymerase chain reaction - PCR).

Polimerazna verižna reakcija je relativno nova metoda za sintezo nukleinskih kislin *in vitro* s katero lahko v kratkem času pomnožimo specifično DNA v velikem številu kopij. Dokazovanje virusov z metodo PCR temelji na *in vitro* pomnoževanju specifičnega odseka dednega materiala določenega virusa. Glavni predpogoj za uspešno pomnoževanje je predhodno poznavanje nukleotidnega zaporedja vsaj enega dela virusnega genoma, kar nam omogoči pravilno izbiro dveh kratkih odsekov. t. i. začetnih oligonukleotidov, komplementarnih z mejnima deloma specifičnega odseka virusnega genoma, ki ga želimo pomnožiti. Začetna oligonukleotida se spajata z nasprotno ležečo vijačnico tarčnega odseka virusne DNA in sta usmerjena tako, da poteka sinteza nove DNA v prostoru med njima. PCR poteka v ciklikih in vsak cikel teoretično podvoji število tarčnih molekul DNA, ki pri tem eksponentno narašča. PCR s predhodno reverzno transkripcijo oziroma RT-PCR se lahko izvaja v enem koraku, kjer se uporablja encima za reverzno transkripcijo.

Rezultat produkta reakcije je pozitiven, ko pokažemo pomnoženi odsek virusne nukleinske kisline. Za dokazovanje produkta PCR uporabljamo metodo ločevanja DNA po velikosti z elektroforezo v agaroznem gelu. Fragmente DNA v gelu dokažemo z etidijevim bromidom, ki

se vgrajuje v dvojno vijačnico, tako da le-ta po osvetlitvi z UV svetlobo fluorescira. S to metodo določimo približno velikost produkta PCR tako, da primerjamo njegovo velikost z velikostjo standardnih delcev DNA (marker velikosti), ločenih z elektroforezo pod enakimi pogoji. Metoda je razmeroma zanesljiva in hitro izvedljiva.

Tabela 8: Zaporedje začetnih oligonukleotidov in njihovo mesto v genomu (Berényi in sod., 2006).

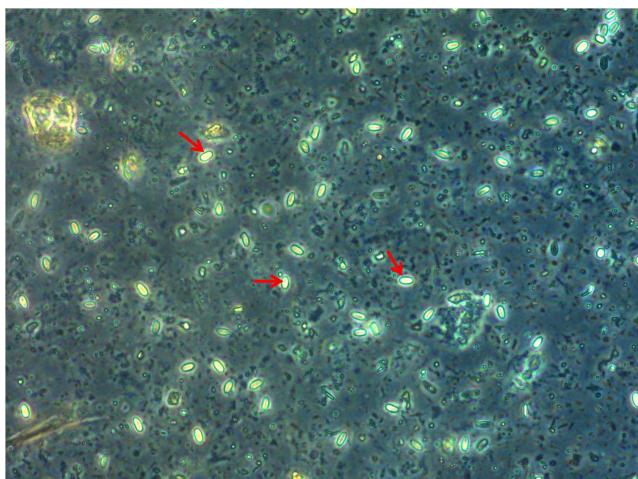
Virus	začetni oligonukleotidi	sekvenca (5'→3')	mesto v genomu	velikost produkta PCR (bp)
ABPV	ABPV 1f	CATATTGGCGAGCCACTATG	8107-8126	498
	ABPV 2r	CCACTTCCACACAACACTATCG	8585-8604	
BQCV	BQCV 3f	AGTAGTTGCGATCTACTTCC	2559-2578	472
	BQCV 4r	CTTAGTCTTACTCGCCACTT	3011-3030	
DWV	DWV 2345f	ATTGTGCCAGATTGGACTAC	2345-2364	435
	DWV 2779r	AGATGCAATGGAGGATACAG	2760-2779	
SBV	SBV 1f	ACCAACCGATTCTCAGTAG	221-240	469
	SBV 2r	CCTTGGAACTCTGCTGTGTA	670-689	

### Ugotavljanje nose mavosti

Spremembe na okuženih čebelah niso zaznavne vse do pozne oblike razvoja bolezni, ko posamezne čebele že odmirajo. Za postavitve diagnoze bolezni je poleg razpoznavnih značilnih bolezenskih znakov povzročitelja potrebno ugotoviti z mikroskopsko preiskavo. V naši raziskavi smo ugotavljali prisotnost spor *Nosema* spp. Za vzorec smo uporabili delavke nabrane ob obisku čebelarstev. Ugotovitev spor smo opravili z mikroskopsko preiskavo zadkov delavk. V vsakem vzorcu je bilo vsaj 20 delavk.

#### *Kvantitativno določanje spor Nosema sp.*

Spore smo šteli pri mikroskopskem pregledu skupnega vzorca. Pri dodatku 1 ml vode na vsako pregledovano čebelo je izračunano število spor enako številu spor v posamezni pregledani čebeli. Za pregled suspenzije smo uporabili hemocitometer.



Slika 2. Spore *Nosema* sp. (rdeča puščica), 400 x povečava (slika je simbolična, foto A. Gregorc)

Tabela 9 prikazuje vse čebelje družine na osmih stojščih, ki smo jih dvakrat pregledali in vzorčili delavke (1. in 2. pregled) za preiskave na spore *Nosema* spp. Št. spor navajamo kot povprečno št. spor *Nosema* spp. na čebelo v vzorcu.

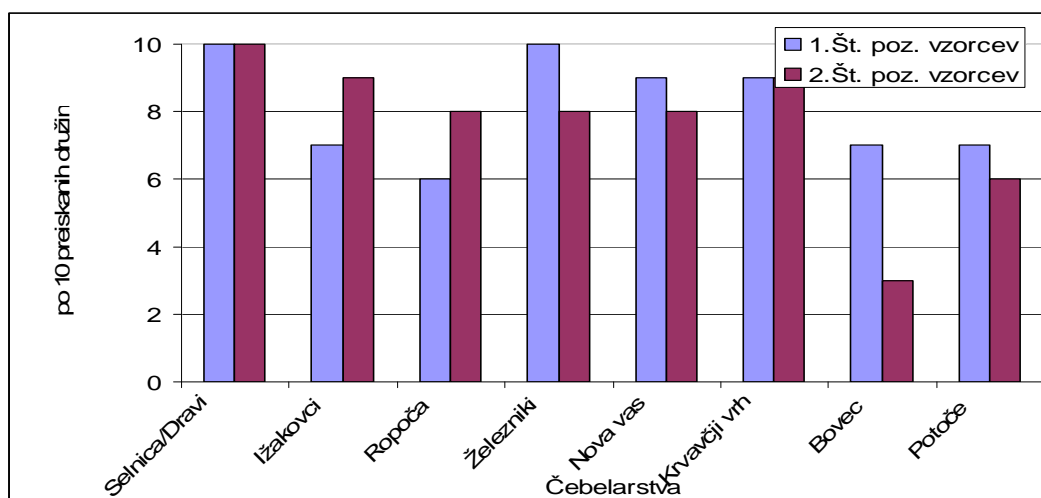
	Oznaka panja	Ugotovitve pregledu pri		Spore <i>Nosema</i> spp.	
		1. pregled	2. pregled	1. povp. št. spor x 10 <sup>6</sup>	2. povp. št. spor x 10 <sup>6</sup>
<b>Selnica Dravi</b>	1			3,25	4,3
	2			6,1	1,2
	3	poapnela	poapnela	0,05	0,6
	4			2,65	0,9
	5			4,55	0,45
	6			1,85	0,15
	7	poapnela		1,75	2,6
	8			3,4	0,2
	9			1,85	0,1
	10			3,75	0,7
<b>Ižakovci</b>	1			4,2	0,6
	2			0,15	4,75
	3			0,25	4,35
	4			0,05	0,4
	5			0	2,2
	6			0,7	5,5
	7			0	1,4
	8			0,8	2
	9			0	0

	10			0,05	1,55
<b>Ropoča</b>	1	poapnela		6,4	1,9
<b>SI101204</b>	2			11,4	6,9
	3			0	3,1
	4			0	1,7
	5			0	0,05
	6	poapnela		9,4	17,1
	7	poapnela	poapnela	2,3	0
	8			5,2	0,45
	9			0	0
	10			6,7	21
<b>Železniki</b>	1			0,75	3,9
<b>SI133128</b>	2		poapnela	17,4	0,7
	3			7,4	1
	4		poapnela	2,1	0
	5		poapnela	4	3,6
	6		poapnela	1,8	4,4
	7	poapnela		15,5	2,75
	8			1,05	0
	9			1	0,5
	10			0,2	0,8
<b>Nova vas</b>	1			3,25	3,15
<b>SI116512</b>	2		poapnela	2,8	0,2
	3			1,5	0,3
	4	poapnela		0,2	0
	5		poapnela	10,2	0,2
	6			0	2,1
	7	poapnela	poapnela	3,05	0,35
	8		poapnela	6,45	4,55
	9			3,75	0,2
	10			0,4	0
<b>Krvavčji vrh - Plut</b>	1			1,4	15,9
<b>SI169888</b>	2			0,5	0
	3			3,4	1,45
	4			1,35	3,5
	5			0	1,35
	6			0,5	0,4
	7			6,3	4,1
	8			2,8	2,3
	9			3,8	2,25
	10			0,9	4,1
<b>Bovec</b>	1		poapnela	0,15	2,65
<b>SI203928</b>	2			0,1	0

	3			0,05	0
	4			0,15	0
	5			0,1	0
	6			1,4	0
	7			0	0,05
	8		poapnela	1,6	0
	9			0	0
	10			0	2,5
Potoče	1			8	0,9
SI 108933	2			6,9	0
	3			4,35	1,65
	4			4,9	0,1
	5			0	0,95
	6			6,65	0
	7			0	0,05
	8			1,9	3,1
	9			4,6	0
	10			0	0

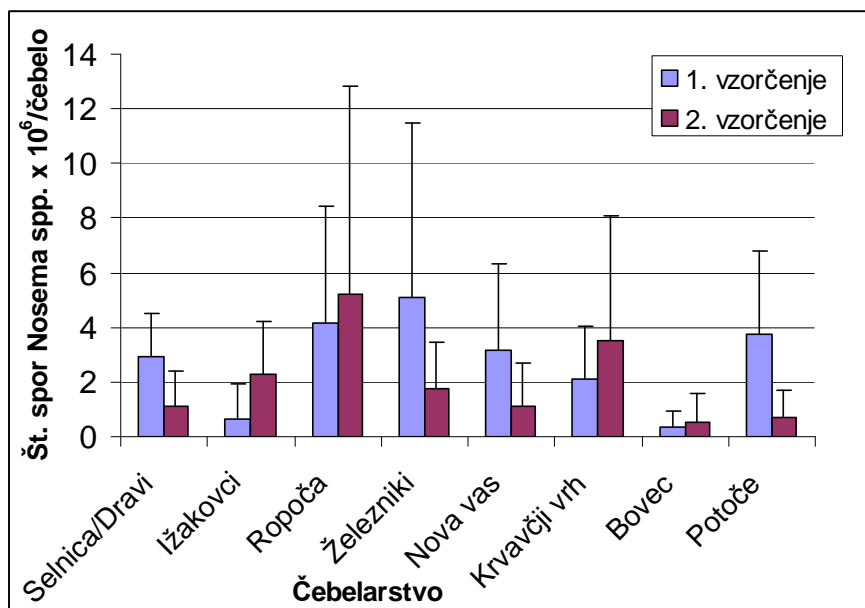
Pri večini družin na posameznih lokacijah smo z mikroskopskim pregledom ugotovili spore *Nosema* spp. V čebelnjaku v Selnici ob Dravi so bile nosezave vse družine v dveh vzorčenjih.

Graf 5. Prikazano je število družin, kjer so bile pri pregledu na nosezavost ugotovljene spore *Nosema* spp. V vsakem čebelnjaku je bilo preiskanih po 10 družin.



Število spor *Nosema* spp je bilo izrazito visoko v obeh pregledih v Ropoči, v Železnikih pa ob prvem pregledu. Povprečno št. spor v čebelah je za posamezne lokacije čebelnjakov prikazano v grafu 6.

Graf 6. Povprečno št. spor *Nosema* spp. na čebelo v vzorcih delavk zbranih na osmih lokacijah. Število je izraženo v milijonih na čebelo v vzorcu.



Spore noseme so se pojavljale v vseh geografskih območjih, v Pomurju, na Gorenjskem ali Primorskem (Potoče). Največ spor je bilo ugotovljenih v Pomurju in sicer pri drugem vzorčenju. Pojavljale so se v suhem in vročem obdobju. Poleg tega ugotavljamo, da se je večja stopnja okuženosti čebel pojavljala v čebelarstvih, ki so imela v okolici manj čebelnjakov, kot je primer v Železnikih in Ropoča, kjer je bilo v premeru 1 km le po en čebelnjak. V tabeli 10 so razvrščene lokacije čebelnjakov, glede na količino spor v vzorcih delavk.

Tabela 10. Razvrstitev lokacij čebelnjakov glede na količino spor *Nosema* spp. v vzorcih delavk.

	<b>1. vzorčenje</b>			<b>2. vzorčenje</b>
<b>Ižakovci</b>	5,12		<b>Ropoča</b>	5,22
<b>Ropoča</b>	4,14		<b>Krvavčji vrh</b>	3,535
<b>Železniki</b>	3,73		<b>Ižakovci</b>	2,275
<b>Nova vas</b>	3,16		<b>Železniki</b>	1,765
<b>Selnica/Dravi</b>	2,92		<b>Selnica/Dravi</b>	1,12
<b>Krvavčji vrh</b>	2,095		<b>Nova vas</b>	1,105
<b>Bovec</b>	0,62		<b>Potoče</b>	0,675
<b>Potoče</b>	0,355		<b>Bovec</b>	0,52

Po deset čebeljih družin smo na vsaki od osmih lokacij dvakrat preiskali na štiri čebelje viruse: virus deformiranih kril (WDV), virus akutne paralize (APV), virus črnih matičnikov (BQC) in virus mešičkaste zalege (SBV).

Za dokazovanje virusne RNA smo uporabili molekularno metodo za določanje nukleinskih kislin, polimerazna verižna reakcija (PCR). Polimerazna verižna reakcija je metoda za sintezo nukleinskih kislin *in vitro* s katero lahko v kratkem času pomnožimo specifično DNA v velikem številu kopij. Dokazovanje virusov z metodo PCR temelji na *in vitro* pomnoževanju specifičnega odseka dednega materiala določenega virusa. PCR s predhodno reverzno transkripcijo oziroma RT-PCR izvajamo v enem koraku, kjer se uporabita encima za reverzno transkripcijo in PCR v isti epruveti z eno puferško raztopino in neprekinjenimi temperaturnimi cikli (Mulder in sod., 1994).

Za dokazovanje produkta PCR smo uporabili metodo ločevanja DNA po velikosti z elektroforezo v agaroznem gelu. Fragmente DNA v gelu dokažemo z etidijevim bromidom, ki se vgrajuje v dvojno vijačnico, tako da le-ta po osvetlitvi z UV svetlobo fluorescira. S to metodo določimo velikost produkta PCR tako, da primerjamo njegovo velikost z velikostjo standardnih delcev DNA (marker velikosti).

Od skupno 80 preiskanih vzorcev delavk sta bila ob vsakem vzorčenju najpogosteje ugotovljena virus akutne paralize in virus deformiranih kril. Pri pregledu pojavljanja virusov ali spor *Nosema* spp. nismo ugotovili povezave med obema patogenoma.

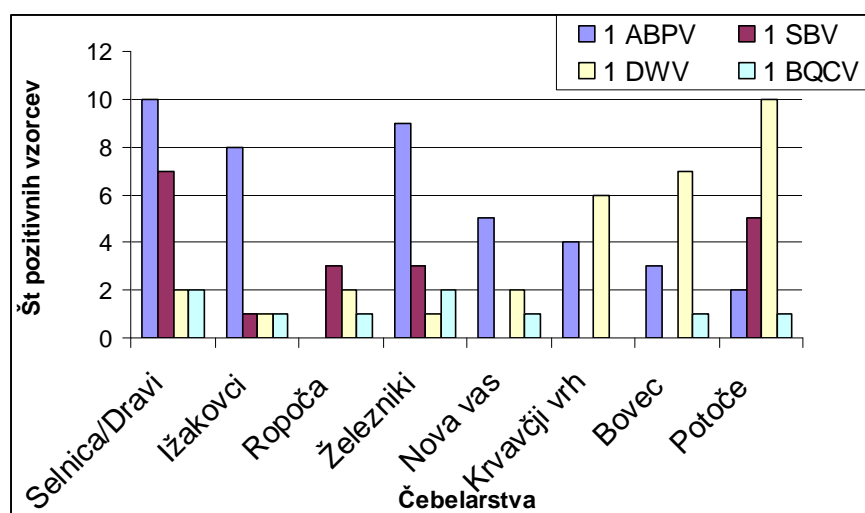
Tabela 11. Število in odstotek ugotovljenih pozitivnih vzorcev čebel. Ob vsakem vzorčenju smo preiskali po 10 družin na vsaki lokaciji, skupno pa po 80 vzorcev delavk na vseh osmih lokacijah.

	Prvo vzorčenje				Drugo vzorčenje			
Virusi:	ABPV	SBV	DWV	BQCV	ABPV	SBV	DWV	BQCV
Št. pozitivnih vzorcev	41	19	31	9	26	10	38	3
% pozitivnih vzorcev	51,25	23,75	38,75	11,25	32,5	12,5	47,5	3,75

Ugotovitev virusov v vzorcih zbranih ob prvem in ob drugem pregledu družin so prikazani v grafih 7A in 7B.

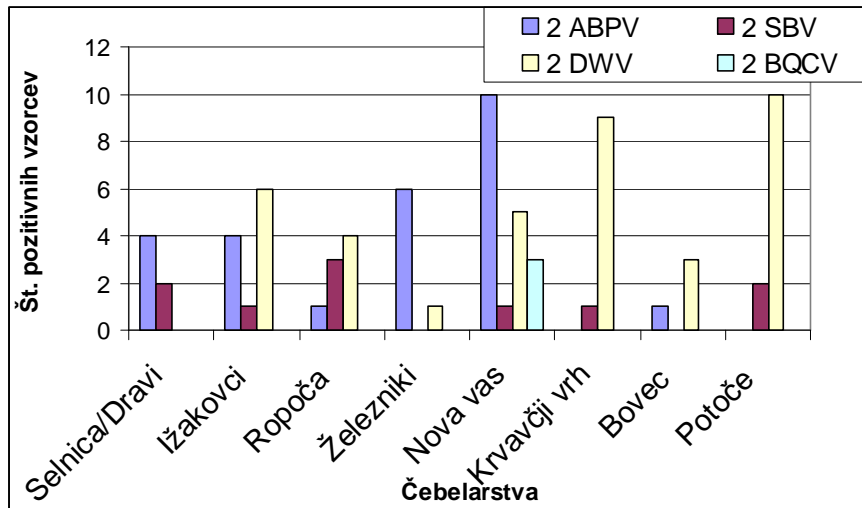
Graf 7. Pogostnost ugotovitve virusa deformiranih kril (WDV), virusa akutne paralize (APV), virusa črnih matičnikov (BQC) ali virusa mešičkaste zalege (SBV) v vzorcih zbranih ob prvem vzorčenju (A) in ob drugem vzorčenju (B). Kjer je bil rezultat na posamezne viruse negativen v grafu ni prikazan stolpec.

A





B



Najvišja napadenost zalege v družinah z varojami je bila ugotovljena v čebelnjaku na Krvavčjem vrhu in v Potočah, prav tako je bil v teh čebelarstvih ugotovljen največji odstotek pozitivnih družin na virus deformiranih kril. Močna napadenost družin z varojami je možen vzrok za pogostejšo ugotovitev WDV v obravnavanih družinah.

**Ad 6.**

**Podaja mnenja ali predloga:**

Na osnovi izvedenih testiranj je mogoče določiti nekatere standarde za oceno napadenosti družin z varojami, priporočila za izvajanje odbire na večjo odpornost čebeljih družin, ter posledično obvladovanje varoze.

**- vpliv proučevanih dejavnikov na razvoj varoj**

Poznavanje napadenosti čebeljih družin z varojami in jakosti čebelje družine je ključnega pomena za ustrezno odločitev o zatiranju varoj in za preživetje družin.

**Izvedena testiranja v čebeljih družinah je mogoče uporabiti za ugotavljanje prisotnosti naravne odpornosti čebeljih družin v čebelarstvu, kar predstavlja možnost nadaljnje delo na področju selekcije.**

Posebno je pomembna ugotovitev naravnega odpada v močnejše napadenih družinah, ki je zanesljiva diagnostična metoda. Ugotovitev nizkih koncentracij FFS v treh vzorcih cvetnega

prahu na dveh lokacijah, kaže na uporabo herbicidov v kmetijstvu, ki pa ne predstavljajo možnega vpliva na razvoj varoj ali drugih pomembnih dejavnikov na nivoju družine. Prav tako analize rastlinske zastopanosti v vzorcih cvetnega prahu predstavljajo stanje prehranskih vplivov na vse čebelje družine na posamezni lokaciji.

#### **- uporaba selekcije čebel za dolgoročno zmanjšanje uporabe akaricidov**

Cilj čebelarke prakse je zmanjševanje rabe akaricidov. Zaradi možnega razvoja odpornejših (bolj tolerantnih) čebeljih družin in tudi zaradi pridelave varnih čebeljih pridelkov mora biti uporabljeno sredstvo in način dajanja le-tega v čebeljo družino skrbno preizkušeno. V primerih, ko v družinah dosegamo nizko stopnjo napadenosti z varojami, je mogoče uspešneje uporabiti kemičnim sredstvom alternativne metode zatiranja.

Za uvajanje sonaravnega zatiranja varoj je potrebno v čebelarstvo prakso uvajati enostavne diagnostične metode in primerne tehnološke ukrepe. Metode morajo biti uporabne za manjša in večja čebelarstva. Priporočljivo je spremljanje naravnega odpada varoj v daljšem časovnem obdobju, vsaj 3 tedne in več.

Z uvajanjem ugotavljanja napadenosti družin je mogoče tudi pospešiti selekcijo družin na večjo odpornost, ter izboljšati in dopolniti strokovna priporočila za nadgradnjo obstoječega programa zatiranja varoze v vsakem čebelarstvu.

#### **- izboljšanje in dopolnitev strokovnih priporočil za nadgradnjo obstoječega programa zatiranja varoze**

Naravni odpad varoj, napadenost trotovine in odraslih delavk so med seboj povezani dejavniki, ki omogočajo ugotovitev stopnje napadenosti družin. Zato ocenjujemo, da je ugotovitev napadenosti zalege ali napadenosti odraslih delavk ali ugotovitev naravnega odpada varoj v daljšem časovnem obdobju pomembna diagnostična metoda, ki jo je mogoče uporabiti v vsakem čebelarstvu. Na osnovi teh ugotovitev je mogoče podati mnenje o nujnosti zatiranja varoj v družinah. Strokovna priporočila so za čebelarje praviloma enostavno izvedljiva opravila, ki pa vključujejo ustrezno pripravljena navodila za morebitno odbiro in vzrejo odpornejših linij čebel.

#### **- določitev standardov za indikatorje za oceno napadenosti družin z varojami**

Na osnovi izvedenih testiranj in na osnovi podobnih izkušenj v drugih raziskovalnih skupinah uporabljene diagnostične omogočajo ustrezno oceno stopnje napadenosti čebeljih družin z varojami. Ugotovitve kažejo na povezavo med napadenostjo trotovine, naravnim odpadom varoj in med napadenostjo odraslih čebel. Uporaba posameznega indikatorja na zadostnem številu čebeljih družin ali dveh indikatorjev na ustrezno manjšem številu družin zadošča za odločitev o potrebnem posegu z zatiranjem družin.

#### **- določitev standardov za selekcijo na večjo odpornost čebeljih družin na varoje**

V okviru izvedenih testiranj stopnje napadenosti družin in uporabe sonaravnih sredstev bo v čebelarstvo prakso potrebno uvajati razvoj na varoje tolerantnejših čebeljih družin. V ta sklop predlagamo vključevanje posameznih metod ugotavljanja napadenosti družin, odbiro družin za vzrejo in vzrejo matic za lastne potrebe. V vzrejnih čebelarstvih precejšen del dejavnosti, usmerjen v to problematiko, že poteka.

Uvajanje selekcije na področju razvoja bolj tolerantnih linij čebeljih družin zahteva uporabo enostavne diagnostične metode (npr. pregled napadenosti trotovine) in odbiro manj

napadenih družin, ki jih bomo v nadaljevanju uporabili za parjenje. Tak model bomo pripravili za obe starševski liniji. Družine ki so močno napadene pa po potrebi zdravimo ali pa jih zamenjamo z vzrejenimi bolj tolerantnimi čebeljimi družinami. V čebelarstvih pogojih se izvaja enosmerna odbira, kjer se dovzetne linije izločajo. Za potrebe razvoja pa je mogoče uporabiti dvosmerno selekcijo, kjer vzdržujemo tolerantno in dovzetno linijo

**V osnovi rezultatov izvedenih nalog v nadaljevanju razvoja in dejavnosti za čebelarje predlagamo zasledovanje naslednjih ciljev:**

- ugotavljati in pospešiti razvoj čebel, bolj tolerantnih na varozo
- zagotoviti pogoje za uspešno zatiranje varoj, ko se le-te namnožijo preko praga škodljivosti
- zagotoviti uspešno "čebelarjenje z varojami", ki vključuje zahteve sonaravnega čebelarjenja
- odbira in vzreja bolj tolerantnih družin v daljšem časovnem obdobju
- pridelava čebeljih pridelkov brez ostankov akaricidov
- čebelarjem zagotoviti ustrezno strokovno podporo na področju spremljanja razvoja varoj v družinah, odbire z varojami manj napadenih družin in vzreje novih družin

Vodja naloge:

Prof. dr. Aleš Gregorc



Sodelavci na nalogi:

- 1 Prof. dr. Aleš Gregorc, vodja naloge; priprava programa, protokolov, terensko delo, lab. analize, obdelava podatkov, izdelava poročila
- 2 Mag. Veronika Kmecl, vodja laboratorija – analitik
- 3 Mitja Nakrst, dipl. ing. kmet. sodelavec; terensko delo, lab. analize, obdelava podatkov, izdelava poročila
- 4 Marinka Kregar, univ. dipl. ing. kmet., sodelavka, palinološke analize
- 5 Mag. Romana Rutar, sodelavka; palinološke analize
- 6 Sanja Filipović-Čugura, sodelavka na terenu in v laboratoriju
- 7 David Kozamernik, sodelavec na terenu in v laboratoriju
- 8 Janez Jenko, analize rezultatov
- 9 Pri izvedbi naloge so sodelovali veterinarji za zdravstveno varstvo čebel Nacionalnega veterinarskega inštituta Veterinarske fakultete v Ljubljani

## Literatura

BERÉNYI, O., BAKONYI, T., DERAKHSHIFAR, I., KÖGLBERGER, H., NOWOTNY, N. (2006). Occurrence of Six Honeybee Viruses in Diseased Austrian Apiaries. *Appl environ microbiol* 4: 2414–2420.

CHEN Y.P., PETTIS J.S., FELDLAUFER M.F. (2005) Detection of multiple viruses in queens of the honey bee *Apis mellifera* L, *J. Invertebr. Pathol.* 90, 118–121.

FURGALA B. (1962) Effect of Intensity of nosema inoculum on queen supersedure in honey bee, *Apis mellifera* Linnaeus, *J. Insect Pathol.* 4, 429.

GREGORC A, BAKONY T. (2012). Viral infections in queen bees (*Apis mellifera carnica*) from rearing apiaries. *Acta vet. Brno*, 2012, vol. 81, str. 15-19.

GREGORC A, Smodiš Škerl M I, Nakrst M, Kokalj M, Lokar V. (2012). *Spremljanje kakovosti vzrejenih matic kranjske čebele (Apis mellifera carnica) : vzreja v letih 2006, 2008 in 2010*. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije, 2012.

GREGORC, Aleš, PLANINC, Ivo. Use of thymol formulations, amitraz, and oxalic acid for the control of the varroa mite in honey bee (*Apis mellifera carnica*) colonies. *J. Apic. Sci.*, 2012, vol. 56, no. 2, str. 61-69.

GREGORC, Aleš, EVANS, Jay D., SCHARF, Mike, ELLIS, James D. Gene expression in honey bee (*Apis mellifera*) larvae exposed to pesticides and Varroa mites (*Varroa destructor*). *J. insect physiol.* [Print ed.], 2012, vol. 58, str. 1042-1049.

SMODIŠ ŠKERL, Maja Ivana, NAKRST, Mitja, POLJANŠEK, Lucija, GREGORC, Aleš. The acaricidal effect of flumethrin, oxalic acid and amitraz against varroa destructor in honey bee (*Apis mellifera carnica*) colonies. *Acta vet. Brno*, 2011, vol. 80, str. 51-56.

SMODIŠ ŠKERL, Maja Ivana, KMECL, Veronika, GREGORC, Aleš. Exposure to pesticides at sublethal level and their distribution within a honey bee (*Apis mellifera*) colony. *Bull. environ. contam. toxicol.*, 2010, no. 2, str. 125-128.

GREGORC, Aleš, LOKAR, Vesna. Selection criteria in an apiary of carniolan honey bee (*Apis mellifera carnica*) colonies for queen rearing = Selekcijski kriteriji v čebelnjaku z družinami kranjske čebele (*Apis mellifera carnica*) za vzrejo matic. *Journal of central european agriculture*. [Online ed.], 2010, vol. 11, no. 4, str. 401-408.

SMODIŠ ŠKERL, Maja Ivana, VELIKONJA BOLTA, Špela, BAŠA ČESNIK, Helena, GREGORC, Aleš. Residues of pesticides in honeybee (*Apis mellifera carnica*) bee bread and in pollen loads from treated apple orchards. *Bull. environ. contam. toxicol.*, 2009, vol. 83, no. 3, str. 374-377.

GREGORC, Aleš, LOKAR, Vesna, SMODIŠ ŠKERL, Maja Ivana. Testing of the isolation of the Rog-Ponikve mating station for Carniolan (*Apis mellifera carnica*) honey bee queens. *J. Apic. Res.*, 2008, letn. 47, no. 2, str. 138-142.

GREGORC, Aleš, SMODIŠ ŠKERL, Maja Ivana. Combating Varroa destructor in honeybee colonies using flumethrin or fluvalinate. *Acta vet. Brno*, 2007, vol. 76, str. 309-314.

GREGORC, Aleš. Efficacy of Oxalic Acid and Apiguard Against [!] Varroa Mites in Honeybee (*Apis mellifera*) Colonies = Účinnost kyseliny šťavelové a Apigardu proti varoáze u včelstev včely medonosné (*Apis mellifera*). *Acta vet. Brno*, 2005, vol. 74, str. 441-447.

GREGORC, Aleš, PLANINC, Ivo. The control of Varroa destructor in honey bee colonies using the thymol-based acaricide - apiguard. *Am. bee j.*, avg. 2005, vol. 145, št. 8, str. 672-675, graf. prikazi.

GREGORC, Aleš, PLANINC, Ivo. Dynamics of falling varroa mites in honeybee (*Apis mellifera*) colonies following oxalic acid treatments = Dynamika spadu roztoču Varroa (*Jacobsoni*) ve včelstvech medonosné (*Apis mellifera*) po ošetření kyselinou šťavelovou. *Acta vet. Brno*, 2004, vol. 73, str. 385-391.

GREGORC, Aleš, PLANINC, Ivo. Using oxalic acid for varroa mite control in honeybee colonies during the beekeeping season = Uporaba oksalne kisline za zatiranje varoj v čebeljih družinah v čebelarški sezoni. *Slov. vet. res.* [English ed.], 2004, vol. 41, no. 1, str. 35-39.

GREGORC, Aleš, POKLUKAR, Janez. Rotenone and oxalic acid as alternative acaricidal treatments for Varroa destructor in honeybee colonies. *Vet. parasitol.* [Print ed.], 2003, vol. 111, str. 351-360.

PAPAEFTHIMIOU, Chrisovalantis, PAVLIDOU, Vasiliki, GREGORC, Aleš, THEOPHILIDIS, George. The action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the isolated heart of insect and amphibia. *Environ Toxicol Pharmacol.* [Print ed.], 2002, vol. 11, no. 2, str. 127-140.

GREGORC, Aleš, PLANINC, Ivo. The control of Varroa destructor using oxalic acid. *Vet. j.* (1997), 2002, vol. 163, str. 306-310.

GREGORC, Aleš, PLANINC, Ivo. Acaricidal effect of oxalic acid in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie*, 2001, vol. 32, str. 333-340.

GREGORC, Aleš, CURK, Aleš. Decision-tree analysis of Varroa jacobsoni control in honeybee colonies in Slovenia = Analiza odločitev zatiranja Varroae jacobsoni v čebeljih družinah v Sloveniji. *Slov. vet. res.* [English ed.], 2000, letn. 37, št. 3, str. 145-152.

GREGORC, Aleš, JELENC, Janez. Control of Varroa jacobsoni Oud. in honeybee colonies using Apilife-Var = Zatiranje varoje (*Varroa jacobsoni* Oud.) v družinah medonosne čebele z zdravilom Apilife-Var. *Zb. Vet. fak. - Univ. Ljubl.* [Slovenska izd.], 1996, let. 33, št. 2, str. 255-259.

HIGES M., MARTIN R., MEANA A. (2006) *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe, *J. Invertebr. Pathol.* 92, 93–95.

RUTTNER, F. (1983). Queen rearing, Apimondia Publishing House, Bucharest.