

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

Datum: 29. 8. 2008.

Agencija RS za kmetijske trge in razvoj podeželja,
Dunajska 160,
p.p. 189,
1001 Ljubljana

Končno poročilo izvajanja naloge:

**PROGRAM SPREMLJANJA KAKOVOSTI VZREJENIH MATIC KRANJSKE
ČEBELE ZA LETO 2008**

V letu 2008 smo v okviru naloge "Spremljanja kakovosti vzrejenih čebeljih matic kranjske čebele" izvedli naslednja opravila:

1. priprava programa;
2. zbiranje in nakup, tehtanje matic, tehtanje ovarijev; priprava materiala;
3. shranitev kril in glav matic za nadaljnje meritve;
4. sekcija: izločitev ovarijev, spermateke, prebavil;
5. fiksacija in zalitje ovarijev v parafinu, ki so na ta način pripravljene za nadaljnje preiskave;
6. priprava spermatek za štetje spermijev;
7. priprava končnega poročila za naloge izvedene v okviru uredbe 2008.

Ad.1. Program predvidenih nalog pri proučevanju morfoloških in drugih lastnosti matic vzrejenih v vzrejališčih v letu 2008 smo pripravili in ga predložili v potrditev ministrstvu. Le to ga je potrdilo z Odločbo št. 33003-12/2007/15 dne 21. 1. 2008. V nadaljevanju smo izvedli naloge po programu.

Ad.2. nakup in zbiranje matic, tehtanje matic, tehtanje ovarijev; priprava materiala

V letu 2008 smo iz 24 vzrejališč v Sloveniji pridobili po 12 matic od vsakega vzrejevalca, kar skupaj zneso 288 čebeljih matic (Tabela 1). Vzorci matic so bili zbrani v vseh geografskih območjih Slovenije, od večine priznanih vzrejališč. Matice iz posameznega vzrejališča izvirajo od istega matičarja in so oprrašene istočasno na istem plemenišču. Zbrane vzorce matic smo v laboratoriju pripravili za nadaljnje raziskave. Od vsakega vzrejevalca smo po devet matic najprej stehali, nato pa s

pomočjo stereomikroskopa posecirali. Maticam smo odvzeli posamezne organske sisteme za nadaljnje raziskave. Izolirali in tehtali smo ovarije, ter shranili spermateko in prebavila. Skupno smo posecirali 216 matic. Krila, glavo in prebavila hranimo na -20°C , ovarije pa smo fiksirali in zalili v parafin. Preostale tri matice iz vsakega vzrejališča smo shranili za virološke preiskave, skupaj 72 matic.

Na krilih in glavah bomo opravili morfološke meritve. Srednje črevo hranimo na -20°C , v Hyesovi raztopini (insect ringer) in ga bom o v nadaljevanju pregledali na prisotnost spor *Nosema*.

Čebele delavke, spremljevalke matic v transportnih matičnicah, smo prav tako shranili na -20°C in jih bomo preiskali na prisotnost spor *Nosema*.

V okviru programa naloge je bila predvidena tudi nabava opreme za izvedbo posameznih nalog. Za te naloge smo nabavili laboratorijsko opremo:

- centrifuga za centrifugiranje vzorcev v mikroepruvetah,
- vortex za stresanje materiala v epruvetah,
- grelna plošča za sušenje tkivnih rezin (ovarijev) na predmetnicah,
- termoblok za vzdrževanje vzorcev na konstantni temperaturi,
- programska oprema za mikroskopiranje in analize vzorcev,
- mikropipete za izvajanje analiz.

Oprema je bila uporabljena za izvedbo naloge in bo služila nadaljevanju izvajanja programa čebelarstva.



Slika 1. Delo je potekalo v laboratoriju KIS, kjer je na razpolago stereomikroskop in mikroskop z opremo.

Tabela 1. Pregled vzrejevalcev matic, ki so oddali matice v testiranje.

Ime	Priimek	Naslov	Pošta	Št. matic
Jože	Andrejč	Murski Petrovci 1a	9251 Tišina	12
Avgust	Bučar	Bratov Učakar 100	1000 Ljubljana	12
Janko	Bukovšek	Golo Brdo 19	1215 Medvode	12
Bojan	Donko	Dolga vas, Glavna ulica 94	9220 Lendava	12
Ivan	Dremelj	Dragovšek 13	1275 Šmartno pri Litiji	12
Janez	Dremelj	Dragovšek 13	1275 Šmartno pri Litiji	12

Ime	Priimek	Naslov	Pošta	Št. matic
Viktor	Gaber	Novačanova 3	3202 Ljubečna	12
Darko	Grm	Hude Ravne 1	1273 Dole pri Litiji	12
Jože	Herbaj	Nedeljica 29	9224 Turnišče	12
Jože	Jakšič	Kapca, Glavna ulica 21	9220 Lendava	12
Mirko	Jurinec	Ključarevci 74	9242 Križevci	12
Milena	Kavaš	Ribiška 8	9233 Odranci	12
Čebelarstvo Lucka		Sužid 41	5222 Kobarid	12
Janez	Luznar	Begunje na Gorenjskem 170	4275 Begunje na Gorenjskem	12
Darko	Magdič (Završnica)	Rožna dolina 40	4248 Lesce	12
Franc	Movern	Praprot 11	8333 Semič	12
Janez	Movern	Pri pošti 9	8333 Semič	12
Janko	Pislak	Apače 303	2325 Kidričevo	12
Julij	Pokorni	Gačnik 3	2211 Pesnica	12
Silvo	Plut		8333 Semič	12
Jože	Sever	Stara cesta 12	8333 Semič	12
Franc	Šolar	Podnart 12	4244 Podnart	12
Jožef in Jožica	Tratnjek	Žižki 93	9232 Črenšovci	12
Ladislav	Vozelj	Dragovšek 18	1275 Šmartno pri Litiji	12
SKUPAJ				288

Tabela 2: Čebelarstva ki so bila v letu 2008 odobrena in se niso vključila v ocenjevanje matic

Ime	Priimek	Naslov	Pošta
Vasja	Jug	Grant 1e	5242 Grahovo ob Bači
Danilo	Bedek	Moščanci 21	9202 Mačkovci
Stanislav	Čiček	Ivanci 39	9222 Bogojna
Ervin	Ficko	Mlajtinci 37 a	9226 Moravske toplice
Marko	Debevec	Čuža 7	1360 Vrhnika
Bojan	Pavlin	Sela 3 a	8333 Semič
Henrik	Zaletelj	Fužina 59	1303 Zagradec
Čebelarstvo Kapun		Mirna 14	9000 Murska Sobota

Mase matic in ovarijev

Pridobljene matice so izvirale iz vzrejališč rodovniških matic in vzrejališč gospodarskih matic. Telesne mase matic so prikazane v tabeli 3. Matice so v povprečju tehtale 209,5 mg. Najtežje matice (Dremelj Ivan) so tehtale 238,64 mg ($\pm 14,55$), najlažje pa (Jurinec) 188,04 mg ($\pm 15,98$). Povprečna masa ovarijev je bila 74,21 mg, kar je predstavljalo v povprečju 35,42 % telesne teže matic. Največji delež v teži matic so obsegali ovariji matic vzrejenih v vzrejališču Bučar 44,42 %, najnižji delež pa pri maticah vzrejenih v vzrejališču Tratnjek 26,63 % (tabela 4).

Tabela 3. Preglednica sodelujočih vzrejališč z osnovnimi karakteristikami matic; teža matice in teža ovarijev. Razvrstitev po teži matic.

Vzrejališče	Povp. teža matice (mg)	Povp. teža ovarijev (mg)
Dremelj Ivan	238,64	91,93
Dremelj Janez	233,70	93,78
Vozelj	225,08	94,57
Pokorni	223,99	93,33
Bučar	220,60	98,00
Gaber	218,76	89,39
Donko	215,89	92,64
Grm	214,94	76,03
Šolar	212,84	66,87
Herbaj	212,40	81,23
Lucka	211,19	72,48
Kavaš	209,80	58,11
Pislak	208,21	77,50
Plut	207,72	65,49
Luznar	206,40	75,88
Bukovšek	206,22	67,03
Jakšič	206,16	69,81
Magdič	202,60	63,78
Movern Janez	196,56	57,68
Movern Franc	193,69	57,97
Andrejč	193,31	55,06
Tratnjek	190,83	50,82
Sever	190,36	64,42
Jurinec	188,04	67,32

Tabela 4: Razvrstitev vzrejališč glede na delež teže ovarijev v teži matic v vzorcu matic vzrejenih v letu 2008.

a) Rodovniške matice

Vzrejališče	Delež teže ovarijev od teže matic (%)
Sever	33,84
Movern Franc	29,93
Movern Janez	29,34

b) Gospodarske matice:

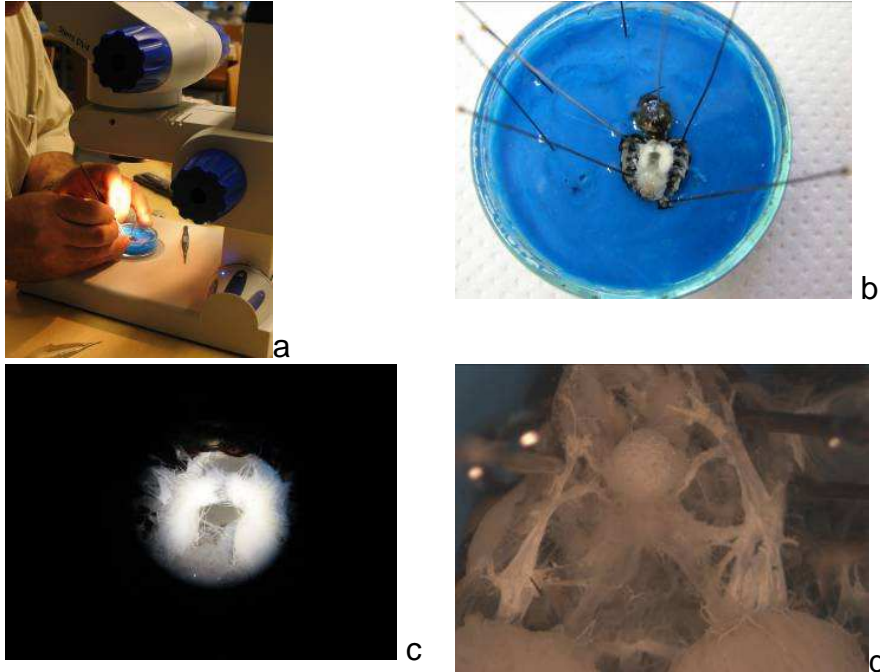
Vzrejališče	Delež teže ovarijev od teže matic (%)
Bučar	44,42
Donko	42,91
Vozelj	42,02
Pokorni	41,67
Gaber	40,86
Dremelj Janez	40,13
Dremelj Ivan	38,52
Herbaj	38,25
Pislak	37,22
Luznar	36,76
Jurinec	35,80
Grm	35,37
Lucka	34,32
Jakšič	33,86
Bukovšek	32,51
Plut	31,53
Magdič	31,48
Šolar	31,42
Andrejč	28,48
Kavaš	27,70
Tratnjek	26,63

Ad 3. Shranitev kril in glav matic za nadaljnje meritve

Po tehtanju matic in pred sekcijo smo odstranili po eno krilo in glavo matice. Oba telesna dela smo shranili na -20°C , in sta tako pripravljena za nadaljnje meritve in obdelavo podatkov. V celoti imamo za nadaljnje meritve shranjene glave in krila 216 matic, ki jih bomo izvedli v nadaljevanju izvajanja raziskovalnega dela in spremljanja kakovosti matic.

Ad 4. sekcija: izločitev ovarijev, spermateke, prebavil

Vsako od 216 matic smo pred sekcijo uspavali v CO₂ ter jo fiksirali na podlago za seciranje. Pri sekciji smo odstranili ovarije, jih stehali, nato odstranili prebavila in spermateko;



Slika 2: **a)** sekcija s pomočjo stereomikroskopa, **b)** matica v posodi za seciranje, **c)** ovarija v zadku matice, **d)** spermateka v zadku matice

Ad 5. fiksacija in zalitje ovarijev v parafinu, ki bodo pripravljene za nadaljnje preiskave

Ovarije smo po izločitvi iz zadka matice fiksirali v 10 % formalinu, dehidrirali v seriji alkoholov ter jih zalili v parafinu. Parafinski bloki z zalitimi ovariji so shranjeni na sobni temperaturi. V nadaljevanju bomo pripravili histološke rezine debeline 5 µm, jih obarvali s HE (Hematoxylin Eosine) in nato s pomočjo stereomikroskopa in programa AxioVision prešteli ovarialne cevke.

Ad 6. priprava spermatek za štetje spermijev

Ko smo iz matice izrezali spermateko, smo ji najprej pod stereomikroskopom, pod 30x povečavo, odstranili ovojnico iz trahej in ji izmerili premer na 4 mestih. Izmerjene premere spermatek bomo kasneje uporabili pri izračunu volumna spermateke. Nato smo steno spermateke predrli in dodali 50 µl Hyesove raztopine, da so se semenčice razpršile. Po 4 minutah smo dodali 950 µl destilirane vode in po 9 minutah so bili spermiji zviti. Za konzerviranje vzorca za kasnejše štetje smo dodali še 4 ml fiksirnega sredstva (Formaldehyde fixative).

Kapljico suspenzije bomo v nadaljevanju dela nanесли na hemocitometer in prešteli spermije na 80 poljih za vsak vzorec.

Ad 7. priprava končnega poročila za naloge izvedene v okviru uredbe 2008.

Seznam sodelavcev v projektu

1. Prof. dr. Aleš Gregorc, vodja projekta
2. Mag. Veronika Kmecl, vodja laboratorija – analitik
3. Maja Smodiš-Škerl, dr. vet. med., sodelavka
4. Vesna Lokar, dipl. ing. agr., sodelavka
5. Lucija Poljanšek, dr. vet. med., sodelavka
6. Dr. Drago Babnik, sodelavec
7. Mag. Blaž Šegula, sodelavec
8. Marinka Kregar, univ. dipl. ing. kmet., sodelavka
9. Mag. Romana Rutar, sodelavka

Poročilo pripravil
Dr. Aleš Gregorc

Kmetijski inštitut Slovenije
dr. Andrej Simončič
direktor