

Oddelek za živinorejo

Čebelarstvo

Hacquetova ulica 17

SI-1001 Ljubljana

Slovenija

T: 01 280 51 74

F: 01 280 52 55

RAZISKAVA SPREMLJANJA KAKOVOSTI MATIC KRANJSKE ČEBELE IN ODBIRA ČEBELJIH DRUŽIN, KI SO ODPORNE PROTI VAROJAM

Programsko obdobje 2017 – 2019

Poročilo o izvedenih nalogah v letih 2017 – 2019



31. julij 2019

Oddelek za živinorejo

Čebelarstvo

Hacquetova ulica 17

SI-1001 Ljubljana

Slovenija

T: 01 280 51 74

F: 01 280 52 55

**RAZISKAVA SPREMLJANJA KAKOVOSTI MATIC KRANJSKE ČEBELE IN
ODBIRA ČEBELJIH DRUŽIN, KI SO ODPORNE PROTI VAROJAM**

Programsko obdobje 2017 – 2019

Poročilo o izvedenih nalogah v letih 2017 – 2019

Vodja naloge:

dr. Maja Ivana Smodiš Škerl

Poročilo pripravili:

Jernej Bubnič

dr. Janez Prešern

dr. Danilo Bevk

Peter Podgoršek

Poročilo je v skladu z Uredbo o izvajanju Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2017–2019 (Uradni list RS, št 00715-32/2016) in je oblikovano na osnovi javnega naročila z oznako JN001492/2017-B01 z dne 28.02.2017, Odločitve o oddaji javnega naročila s številko 430-19/2017 z dne 26.4.2017 in tripartitne pogodbe med Ministrstvom za kmetijstvo in okolje, Agencijo za kmetijske trge in razvoj podeželja in Kmetijskim inštitutom Slovenije s številko 2330-17-000103. Na podlagi pogodbe je bil v ocenjevanje in odbiro čebeljih družin na terenu kot podizvajalec vključen Nacionalni inštitut za biologijo (NIB). Rezultati raziskave so nastali v okviru Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2017-2019, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije.



POVZETEK.....	5
1 KAKOVOST MATIC	6
1.1 UVOD	6
1.2 METODE DELA.....	6
1.2.1 Vzorčenje matic.....	6
1.2.2 Morfološke in fiziološke meritve matic	7
1.2.3 Metodologija določanja št. spor <i>Nosema</i> spp. in dokazovanje virusnih infekcij.....	8
1.2.4 Dolgotrajno shranjevanje genskega materiala in ocenjevanje kakovosti semena.....	9
1.2.5 Obdelava podatkov direktnega testa.....	9
1.3 REZULTATI.....	11
1.3.1 Spremljanje morfoloških in fizioloških parametrov.....	11
1.3.2 Prisotnost spor <i>Nosema</i> spp. in virusov v iztrebkih matic.....	14
1.3.3 Dolgotrajno shranjevanje genskega materiala in ocenjevanje kakovosti semena.....	15
1.3.4 Direktni test	16
1.4 INTERPRETACIJA IN SPLOŠNE UGOTOVITVE.....	19
2 ODBIRA ČEBELJIH DRUŽIN, KI SO ODPORNE PROTI VAROJAM	21
2.1 ZNAČILNOSTI ODBRANEGA PLEMENSKEGA MATERIALA	22
2.1.1 Metode odbire	22
2.1.2 Rezultati	23
2.2 IZBOLJŠANJE LASTNOSTI VZREJE IN INTENZIVIRANJE VZREJE.....	24
2.3 REPRODUKCIJA ODBRANEGA MATERIALA.....	25
2.4 INTERPRETACIJA REZULTATOV IN SPLOŠNE UGOTOVITVE	28
3 VIRI	29
PRILOGA 1. ČISTILNA SPOSOBNOST V OKOLICI ŽIROV.....	1

Tabela 1: Pregled vzrejevalcev v letih 2017 – 2019. Legenda: a – ni vzrejal v 2017; b – ni vzrejal v 2018; c – ni vzrejal v 2019.	7
Tabela 2: Začetni oligonukleotidi, uporabljeni pri pomnoževanju virusne RNA.....	8
Tabela 3. Pregled mase matic v sezonah 2017, 2018 in 2019. Zelena barva označuje najboljši rezultat v triletju, rdeča najslabšega.	11
Tabela 4. Število pregledanih matic in pozitivnih na prisotnost spor <i>Nosema</i> spp. v posameznih letih testiranja.....	14
Tabela 5. Prevalenca virusov v vzrejališčih po posameznih letih.	14
Tabela 6. Seznam družin, iz katerih je bil odvzet genski material v letu 2018. ČS - čistilna sposobnost. Barve: zelena - dobra ČS; rdeča - slaba ČS; siva - vmesna vrednost ČS.....	15
Tabela 7: Primerjava povprečnih vrednosti direktnega testa po letih. Pri lastnostih mirnost, rojivost, obarvanost in živalnost so možne ocene od 1(najslabše) do 4 (najboljše). Čistilna sposobnost se ocenjuje v odstotkih od 0 (najslabše) do 100 (najboljše).....	16
Tabela 8. Mirnost po letih	17
Tabela 9. Rodovnik odbranih matic: v letu 2017 smo na območju Žirov odbrali matere z najboljšo čistilno sposobnostjo (R526, R527 in R528). V letu 2017 smo vzredili ter testirali prvo generacijo njihovih potomk. Matice, označeni z rumeno smo uporabili v matičarjih za vzrejo matic za trg v letu 2019. * od odbranih matic imamo v postopku vzreje tudi matičnike ter matice v plemenišču; AI umetno osemenjene, številka v oklepaju je rodovniška številka matice v trotarju; ČS-čistilna sposobnost.....	27

Slika 1. Levo: določanje mase ovarijev. Odnos med maso matic in maso ovarijev je linearen. Rdeče točke (x) prikazujejo rezultate verifikacijskih disekcij. Vse verifikacijske meritve padejo znotraj 95% intervala zaupanja. Desno: določanje števila ovariol. Modra in oranžna prikazujeta kalibracijske vrednosti iz let 2006 in 2008. Modrozeleni, zeleni in vijolični prikazujejo določeno število ovariol za posamezna leta.	12
Slika 2. Razmerje med maso matic in površino pokrite zalege v septembru v letu poleganja (modro), ter v maju (oranžno) in avgustu (zeleno) naslednjega leta.	13
Slika 3: Mikrocentrifugirke s shranjenim genskim materialom.	15
Slika 4. Cenik Kmetijskega inštituta Slovenije	21
5: Izvedba pin-testa na 50 celicah. S pisalom za matice označimo vogale (levo zgoraj, desno spodaj). Prebodemo 50 celic, začeni pri prvi nepobarvani levo zgoraj. Preskočimo prazno celico, pobarvamo 51 celico. Levo: sat z označenim in izvedenim pin-testom. Desno: sat z očiščenimi in odprtimi celicami.	22
Slika 6: Sladkorni test. Levo: 300 čebel v tulcu, posutih s sladkornim prahom. Desno: odpadle varoje.	23
Slika 7: Cepljenje ličink (levo). Družina z dodatno naklado za iztrebljanje (sredina). Markiranje trotov (desno).	24
Slika 8: Vzreja.	26

POVZETEK

Preiskovali smo kakovost oprашenih matic, ki so bile vzrejene na posameznem vzrejališču in so izhajale iz selekcioniranih matičarjev. Skupaj smo vzorčili in analizirali 140 matic v letu 2017 iz 28 vzrejališč, 150 matic iz 30 vzrejališč v letu 2018 in 165 matic iz 29 vzrejališč v letu 2019. Izvedli smo morfološko analizo (masa telesa matic). Pri vseh maticah smo določali prisotnost spor *Nosema* spp. in jih preiskali na prisotnost treh virusov: virus akutne paralize čebel (ABPV), virus črnih matičnikov (BQCV) in virus meščkaste zalege (SBV), v letih 2017 ter 2019 pa še na prisotnost virusa deformiranih kril (DWV). Povprečna masa telesa matic je bila leta 2017 210,33 mg, 217,36 mg v letu 2018 in 218,19 mg v letu 2019. V letu 2017 smo spore *Noseme* spp. potrdili v 6,4% vzrejališč, 2018 le v enem od vzrejališč (0,7 %) in leta 2019 so bila vsa vzrejališča prosta spor. Viruse črnih matičnikov smo potrdili pri vseh vzrejališčih v vseh treh letih, prevalenca ostalih virusov pa je bila znatno nižja. Delež matic, ki ustrezajo standardom visoke kakovosti, je bil leta 2018 86,7 odstoten, leta 2019 pa 91 odstoten.

Odbira, vzreja in reprodukcija proti varojam bolj odpornih linij čebeljih družin je izredno pomembna na svetovnem nivoju. Pričeli smo s selekcijo čebeljih družin, ki kažejo višjo čistilno sposobnost in posledično višjo odpornost na varojo v naših čebelnjakih kakor tudi v izbranih čebelnjakih na terenu. Družine, ki so imele višjo čistilno sposobnost, smo uporabili kot vir genskega materiala (trotarji/matičarji). Vzpostavili smo sistem umetne osemenitve in nadaljnje shranjevanje genskega materiala v naslednje generacije. Vzrejni material smo v zadnjem letu programskega obdobja uporabili kot osnovo za vzrejo gospodarskih matic s povečano čistilno sposobnostjo, ki smo jih tudi ponudili na trg.

1 KAKOVOST MATIC

1.1 UVOD

Matica prenese na svoje potomce genetsko pogojene etološke, gospodarske in druge lastnosti. Osnovna funkcija matice je intenzivno zaleganje jajčec in izločanje feromonov, kar skupaj z delavkami omogoča optimalen razvoj čebelje družine.

Vzreja matic je v sodobnem čebelarstvu pomembna dejavnost. Uspešna vzreja mora temeljiti na upoštevanju naravnih zakonitosti, zato se pri vzreji poskuša ustvariti podobne razmere, kot so v naravni vzreji matic. Vzreja kvalitetnih, reproduktivnih ter gospodarsko zanimivih matic je cilj slehernega čebelarja vzrejevalca. V Sloveniji čebelarimo z avtohtono podvrsto čebel, kranjsko čebelo, katere lastnosti želimo ohraniti, zato je vzreja kakovostnih matic zelo pomembna. Na ta način tudi prispevamo k razvoju, ohranjanju zdravih čebeljih družin in pridelavi potrebnih količin varnih in kakovostnih pridelkov.

V tem programskem obdobju smo spremljali nekatere morfološke in fiziološke lastnosti ter zdravstveno stanje matic vzrejenih v odobrenih vzrejališčih. Zbirali smo trotovske seme in proučevali načine ocenjevanja viabilnosti semena.

1.2 METODE DELA

1.2.1 Vzorčenje matic

Matice so v obdobju 2017 – 2019 izvirale iz vzrejališč v 11 statističnih regijah v Sloveniji: gorenjske, goriške, JV Slovenije, obalno-kraške, osrednjeslovenske, podravske, pomurske, savinjske in zasavske regije (seznam v Tabela 1). Skupno smo v letu 2017 ocenili 140 matic iz 28 odobrenih vzrejališč, v letu 2018 150 matic iz 30 odobrenih vzrejališč in v letu 2019 165 matic iz 28 odobrenih vzrejališč. Vsako leto smo v juniju pregledali po 5 matic iz posameznega odobrenega vzrejališča. Vzorčene matice iz istega vzrejališča so izvirale iz istega matičarja. Po opravljenih meritvah smo matice poslali pogodbenim čebelarjem v testiranje. Vzorčene matice so se prosto prašile s troti na plemenišču posameznega vzrejališča. Iztrebke matic posameznega vzrejališča smo analizirali na prisotnost naslednjih čebeljih virusov: virus akutne paralize čebele (APBV), virus črnih matičnikov (BQCV) in virus

mešičkaste zalege (SBV) ter virus deformiranih kril (DWV) ter na prisotnost spor mikrosporidija *Nosema spp.*

Tabela 1: Pregled vzrejevalcev v letih 2017 – 2019. Legenda: a – ni vzrejal v 2017; b – ni vzrejal v 2018; c – ni vzrejal v 2019.

Zap. št.	Vzrejevalec	NASLOV	POŠTA
1	Andrejč Jožef	Murski Petrovci 1a	9251 Tišina
2	Bali Robert	Apače 303	2324 Lovrenc na Dravskem Polju
3	Bukovšek Janko	Ul. M. Korbarjeve 20a	4000 Kranj
4	Bukovšek Štefan	Golo Brdo 19	1215 Medvode
5	Debevec Marko ^{bc}	Čuža 7	1360 Vrhnika
6	Donko Bojan	Dolgovaške gorice 16	9220 Lendava
7	Dremelj Janez	Dragovšek 13	1275 Šmartno pri Litiji
8	Gaber Viktor	Novačanova ulica 3	3202 Ljubečna
9	Grm Darko	Hude Ravne 1	1273 Dole pri Litiji
10	Herbaj Jožef	Nedelica 29	9224 Turnišče
11	Jug Vasja	Grant 1e	5242 Grahovo ob Bači
12	Juvan Nejc ^a	Pod Gonjami 103	2391 Prevalje
13	Kapun Erik	Vaneča 70a	9201 Puconci
14	Kavaš Milena	Ribiška 8	9233 Odranci
15	Kolar Peter	Doklece 3	2323 Ptujška Gora
16	Koštomaj Matija	Paridol 15	3224 Dobje pri Planini
17	Kovačević Ivana	Paridol 15	3224 Dobje pri Planini
18	Lešek Venčeslav ^c	Olešče 28	3270 Laško
19	Luznar Janez	Begunje 170	4275 Begunje na Gorenjskem
20	Metelko Miha ^{ab}	Studenec 23a	8293 Studenec
21	Nakrst Mitja	Žeje 30	1233 Dob
22	Novak Miha	Zg. Slivnica 17	1293 Šmarje-Sap
23	Petelin Irma	Pliskovica 102	6221 Dutovlje
24	Pokorni Julij	Gačnik 3	2211 Pesnica
25	Poslek Boris ^{ab}	Mariborska 45	2314 Zg. Polskava
26	Potisek Jožef ^{ac}	Jelša 23	1275 Šmartno pri Litiji
27	Starovasnik Milan ^{ac}	Komendska Dobrava 9b	1218 Komenda
28	Tomažič Matevž ^c	Visole 19	2310 Slovenska Bistrica
29	Tratnjek Jožef	Žižki 93	9232 Črenšovci
30	Vidovič Jože	Apače 300	2324 Lovrenc na Dr. Polju
31	Vozelj Ladislav	Dragovšek 18	1275 Šmartno pri Litiji
32	Zaletelj Henrik	Fužina 59	1303 Zagradec
33	Zemljič Andrej	Boračeva 33	9252 Radenci

1.2.2 Morfološke in fiziološke meritve matic

Iz vsakega od odobrenih vzrejališč smo ocenili po pet matic. Zabeležili smo podatke na matičnicah (rodovniška številka, številka matice), vrsto matičnice in število čebel spremljevalk. Matico in spremljevalke smo uspavali z ogljikovim dioksidom, jo stehali z analitsko tehtnico (Mettler Toledo) ter predstavili v petrijevko in počakali da se je iztrebila.

Druge morfološko-fiziološke parametre smo določali neinvazivno. Na podlagi podatkov, zbranih z invazivnimi in destruktivnimi metodami v prejšnjih letih smo izpeljali odnos med maso matic in nekaterimi drugimi morfološkimi parametri ter ta odnos uporabili kot model za predikcijo le-teh *in silico* za vsako leto posebej. Podlaga je bilo znanstveno delo, recentno sprejeto v objavo (Prešern & Smodiš Škerl, 2019). Zaleganje matic smo spremljali preko matic, vključenih v testno čebelarstvo KIS. Te matice smo vstavili v narejence in spremljali površino pokrite zalege v mesecu septembru istega leta ter v mesecih maju in avgustu naslednjega leta.

1.2.3 Metodologija določanja št. spor *Nosema* spp. in dokazovanje virusnih infekcij

Število spor *Nosema* spp. smo določali z mikroskopsko preiskavo iztrebkov matic. Preparat za opazovanje smo pripravili v petrijevki z dodatkom 200 µL destilirane vode, nato smo suspenzijo pod svetlobnim mikroskopom pregledali s hemocitometrom. Pri pojavu spor v vzorcu smo upoštevali vse spore v 400 poljih. Prisotnost čebeljih virusov v vzorcih smo dokazovali s pomnoževanjem specifičnih fragmentov virusne RNA z verižno reakcijo s polimerazo (PCR). Za ekstrakcijo virusne RNA smo odpipetirali 140 µl raztopine iztrebkov ter z uporabo kompleta QIAamp viral RNA mini kit (Qiagen, Germany) izolirali virusno RNA po navodilih proizvajalca po protokolu za ekstrakcijo preko membrane s centrifugiranjem. Ekstrakte RNA smo shranili pri -20 °C. Za testiranje prisotnosti specifičnih fragmentov virusne RNA v vzorcu smo uporabili komplet One-Step RT-PCR kit (Qiagen, Germany) ter specifične začetne oligonukleotide (za ABPV, DWV, BQCV, SBV) po navodilih proizvajalca. Specifični začetni oligonukleotidi ter vir so navedeni v tabeli (Tabela 2: Začetni oligonukleotidi, uporabljeni pri pomnoževanju virusne RNA).

Tabela 2: Začetni oligonukleotidi, uporabljeni pri pomnoževanju virusne RNA

Virus Oznaka	Nukleotidno zaporedje (5' – 3')	Velikost produkta (bp)	Vir
ABPV ABPVT-F ABPVT-R	CATATTGGCGAGCCACTATG CCACTTCCACACAACATATCG	398	Toplak in sod., 2012
BQCV BQCVT-F BQCVT-R	TGGTCAGCTCCCACTACCTTAAAC GCAACAAGAAGAAACGTAAACCAC	700	Toplak in sod., 2012
DWV DWVS-F DWVS-R	TGGTCAATTACAAGCTACTTGG TAGTTGGACCAGTAGCACTCAT	269	Sguazza in sod., 2013
SBV SBVT-F SBVT-F	GCTGAGGTAGGATCTTTGCGT TCATCATCTTCACCATCCGA	824	Toplak in sod., 2012

Za negativno kontrolo smo uporabili reakcijsko mešanico brez RNA, za pozitivno kontrolo pa smo uporabili potrjeno pozitivne vzorce. Specifične fragmente smo pomnožili v cikličnem termostatu pri naslednjih pogojih:

• Reverzna transkripcija	30min	50°C
• Začetna denaturacija	15min	95°C
• 3-stopenjsko pomnoževanje fragmentov (40 ciklov):		
▪ Denaturacija	0.5-1 min	94°C
▪ Prileganje	0.5-1 min	50-68°C
▪ Podaljševanje	1min	72°C
• Zaključno podaljševanje	10 min	72°C

Prisotnost specifičnih pomnožkov virusne RNA smo dokazali z metodo ločevanja fragmentov DNA po velikosti z gelsko elektroforezo. Približno velikost pomnoženih fragmentov smo ocenili s pomočjo primerjave hitrosti potovanja fragmentov po gelu z hitrostjo potovanja standardnih delcev DNA znane dolžine (marker velikosti). Rezultat produkta reakcije je bil pozitiven, če smo identificirali pomnoženi odsek virusne nukleinske kisline na elektroforeznem gelu. Metoda je razmeroma zanesljiva in hitro izvedljiva.

1.2.4 Dolgotrajno shranjevanje genskega materiala in ocenjevanje kakovosti semena

Za zmrzovanje trotovskega semena smo uporabljali mikrocentrifugirke. Za »coating« smo uporabili mešanico PBS z antibiotikom, za stabilizacijo in prehrano semena pa je bila pripravljena mešanica, kot je je uporabil Wegener s sodelavci (2014). V sodelovanju s Kliniko za reprodukcijo in velike živali, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, smo z doc. dr. Primožem Klincem opravili nekaj raziskav trotovskega semena. Znana in uporabna je tudi metoda določanja števila živih spermijev pri kvantifikaciji spermijev v semenski mošnjici opršenih matic (Hatjina in sod., 2014; Gregorc in Smodiš Škerl, 2015), ki smo jo v preteklosti že izvajali s preverjanjem kakovosti oprašitve pri maticah.

1.2.5 Obdelava podatkov direktnega testa

Direktni test so izvajali vzrejevalci v selekcijskih čebelnjakih. Pri tem so ocenjevali donos medu, mirnost oz. vedenje, rojivost, odpornost na varoje, rasne karakteristike (obarvanost),

živalnost in čistilno sposobnost čebelje družine. Rezultate smo statistično obdelali in jih predstavili v poročilu.

1.3 REZULTATI

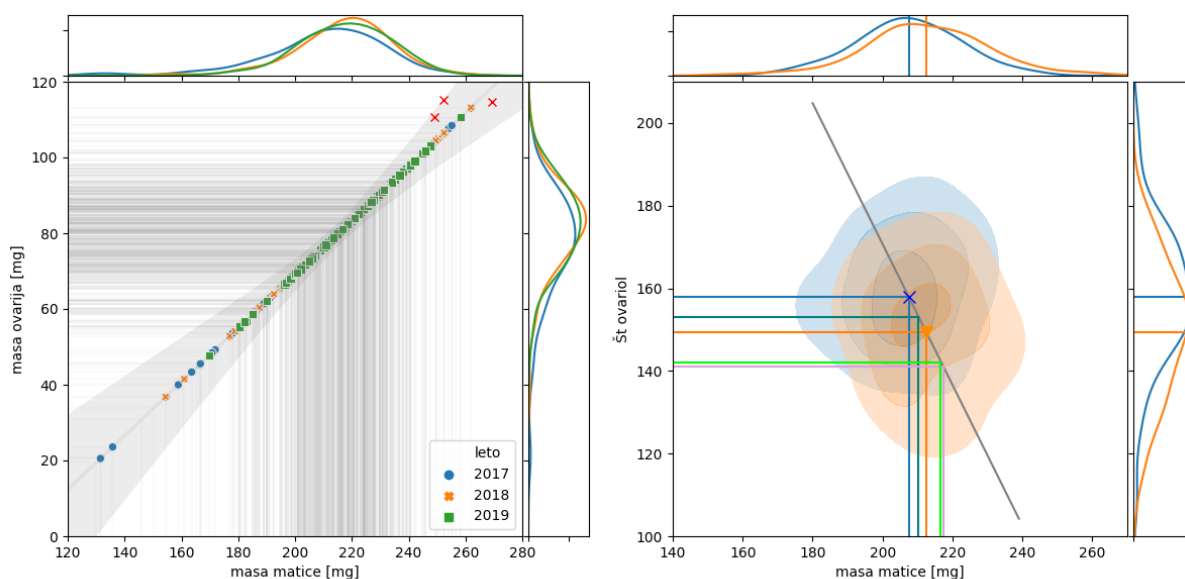
1.3.1 Spremljanje morfoloških in fizioloških parametrov

Tabela 3. Pregled mase matic v sezonah 2017, 2018 in 2019. Zelena barva označuje najboljši rezultat v triletju, rdeča najslabšega.

Vzrejevalec	Povprečna masa matic 2017 (mg)	Povprečna masa matic 2018 (mg)	Povprečna masa matic 2019 (mg)
Andrejč	190,58 ± 15,58	204,48 ± 10,25	211,44 ± 17,18
Bali	226,84 ± 9,06	217,24 ± 7,0	222,412 ± 12,67
Bukovšek J.	236,26 ± 6,65	227,48 ± 5,7	227,825 ± 6,88
Bukovšek Š.	226,64 ± 17,17	220,14 ± 9,84	223,173 ± 12,41
Debevec	151,30 ± 18,48	/	/
Donko	195,28 ± 13,81	199,26 ± 14,26	206,8 ± 7,22
Dremelj	192,70 ± 10,12	212,80 ± 10,2	213,076 ± 13,12
Gaber	190,72 ± 15,93	210,24 ± 11,57	202,706 ± 17,6
Grm	223,18 ± 13,40	219,40 ± 4,4	212,464 ± 8,8
Herbaj	208,70 ± 8,24	218,54 ± 7,76	218,252 ± 9,39
Jug	225,04 ± 8,07	243,14 ± 6,2	221,84 ± 10,09
Juvan	/	218,62 ± 8,9	237,132 ± 4,68
Kapun	227,72 ± 6,79	209,38 ± 13,63	212,092 ± 17,01
Kavaš	209,48 ± 8,92	198,84 ± 22,0	201,636 ± 15,36
Kolar	223,42 ± 18,83	241 ± 8,4	227,53 ± 10,05
Koštomaj	220,78 ± 9,10	220,40 ± 11,03	226,386 ± 10,5
Kovačević	212,84 ± 2,12	221,34 ± 6,0	204,77 ± 10,88
Lešek	210,16 ± 10,76	203,40 ± 15,21	/
Luznar	196,56 ± 34,77	188,38 ± 21,5	211,586 ± 11,62
Metelko	/	/	213,508 ± 10,13
Nakrst	231,54 ± 16,46	225,46 ± 10,91	219,38 ± 12,94
Novak	217,56 ± 8,89	238,64 ± 13,5	213,373 ± 7,46
Petelin	203,76 ± 15,07	192,60 ± 10,19	225,36 ± 16,68
Pokorni	191,10 ± 10,69	221,52 ± 4,5	202,778 ± 11,79
Poslek	/	/	221,722 ± 13,12
Potisek	/	203,90 ± 13,38	/
Starovasnik	/	220,38 ± 15,6	/
Tomažič	212,78 ± 24,86	232,00 ± 12,82	/
Tratnjek	207,22 ± 12,93	217,36 ± 8,3	207,68 ± 11,63
Vidovič	225,96 ± 7,79	232,16 ± 7,08	224,06 ± 6,52
Vozelj	216,38 ± 8,30	217,50 ± 9,5	231,624 ± 5,45
Zaletelj	208,90 ± 16,38	228,76 ± 8,23	239,05 ± 10,91
Zemljič	205,92 ± 9,13	216,14 ± 11,3	209,78 ± 15,47
POVPREČJE	210,33	217,36	217,48
	8	11	9
	7	7	11
	12	10	6
	1	2	2

V 2017 je bilo vključenih v testiranje 140 matic. Po posameznem vzrejališču smo tehtali po pet matic, izmerili velikost zadka in oprsja, ter izračunali povprečne vrednosti po vzrejališču. Povprečna masa v letu 2017 je bila 210,33 (±20,96) mg, najvišja izmerjena masa je bila 236,26 mg in najmanjša 151,3 mg. Večina matic, ki so izvirale iz 21 vzrejališč (75 %), je imela povprečno maso enako ali višjo od 200 mg. Povprečna dolžina zadka je bila 10,42 (± 0,38) mm in oprsja 42 (± 0,15) mm. V 2018 smo testirali 150 matic, ki so v povprečju tehtale 217,36 (± 10,64) mg. Največja povprečna masa v letu 2018 je bila 243,14 mg in najmanjša

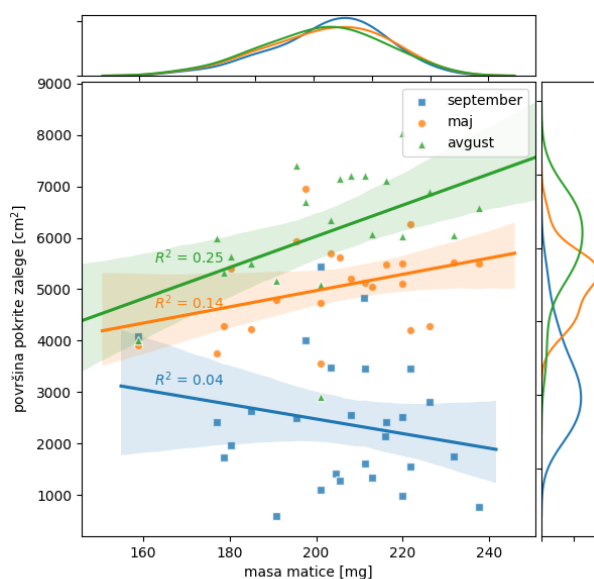
188,38 mg. Večina matic, ki so izvirale iz 26 vzrejalšč (86,7 %), je imela povprečno maso enako ali višjo od 200 mg. V 2019 je bilo v testiranje vključenih 165 matic. Povprečna telesna masa matic izmerjena v tem letu je bila 218,25 ($\pm 21,05$) mg. Najnižja izmerjena masa je bila 169,76 mg, najvišja pa 247,60 mg. Velika večina pregledanih matic (91%) je imela maso višjo ali enako 200 mg (Tabela 3). Triletni rezultati kažejo, da je bila večina najnižjih mas zabeležena v prvem letu.



Slika 1. Levo: določanje mase ovarijev. Odnos med maso matic in maso ovarijev je linearen. Rdeče točke (x) prikazujejo rezultate verifikacijskih disekcij. Vse verifikacijske meritve padejo znotraj 95% intervala zaupanja. Desno: določanje števila ovariol. Modra in oranžna prikazujeta kalibracijske vrednosti iz let 2006 in 2008. Modrozeleni, zeleni in vijolični prikazujejo določeno število ovariol za posamezna leta.

Ugotovili smo, da je med maso matice in maso ovarijev linearen odnos z visoko mero zaupanja (Prešern & Smodiš Škerl, 2019). Na tej osnovi smo zgradili model določanja mase ovarijev posameznih matic. Tako smo za posamezna leta dobili vrednosti $76,5 \pm 15,4$ (2017), $81,5 \pm 12,0$ (2018) in $81,06 \pm 15,0$ (2019). Ker se ta odnos med leti lahko spremeni, smo za potrditev le-tega opravili tudi *post mortem* meritve. Vsi izmerki padejo znotraj intervala zaupanja (Slika 1, levo). Pri našem delu smo tudi ugotovili, da med maso matic in številom ovariol v slovenski populaciji ni neposredne odvisnosti. Izmerki tako mase matic kot števila ovariol se normalno razporejajo okoli povprečne vrednosti (Prešern & Smodiš Škerl, 2019). Pri izvedbi neinvazivne ocene števila ovariol smo se poslužili količine zajete v letih 2006 in 2008. Na podlagi le-teh smo izračunali širino standardno deviacijo za obe leti ter centroida

obeh distribucij. Na podlagi teh količin smo izračunali modele distribucij meritev za tekoča leta. Določili smo število ovariol za posamezna leta s 95% zanesljivostjo in sicer: $153,1 \pm 28,4$ (2017), $141,1 \pm 29,8$ (2018) in $142,3 \pm 29,6$ (2019) (Slika 1, desno). Ugotovili smo tudi, da ima število spermatozoidov v spermateki vpliv na maso matic: prispeva približno 20 % k variabilnosti mase matic. Kljub prispevku k variabilnosti smo zabeležili le šibko povezavo med maso in številom spermatozoidov, katere R^2 sezonsko variira med 0,02 in 0,13 (Prešern & Smodiš Škerl, 2019).



Slika 2. Razmerje med maso matic in površino pokrite zalege v septembru v letu poleganja (modro), ter v maju (oranžno) in avgustu (zeleno) naslednjega leta.

Maso matice smo primerjali s površino pokrite zalege, ki je eden najbolj očitnih fizioloških pokazateljev sposobnosti zaleganja. Masa matice in površina zalege sta v šibkem nasprotnem sorazmerju v septembru leta poleganja ($R^2 = 0,04$). V mesecu maju v naslednjem letu je to razmerje pozitivno in močnejše ($R^2 = 0,14$), še močnejše pa postane v mesecu avgustu ($R^2 = 0,25$). Prikaz kaže, da je masa matice pomembna za velikost zalege, posledično pa za velikost družine. Masa matic v obdobju do pričetka zaleganja jajčec zelo niha. Tri dni po začetku zaleganja doseže svoj maksimum in v naslednjem mesecu počasi rahlo upade (Kahya in sod., 2008); Zato vzrejevalcem priporočamo, da se maso oprasenih matice meri po prvi pokriti zalegi; takrat je že moč opaziti tudi njihovo potentnost in pravilnost zaleganja. To je tudi prvi možni čas, ko lahko vzrejevalci oprasene matice vzamejo iz plemenilnikov in jih prodajo (Gregorc, 2005).

1.3.2 Prisotnost spor *Nosema* spp. in virusov v iztrebkih matic

Ugotovili smo, da je bilo v letu 2017 s spori okuženih 6,4%, leta 2018 0,7% in leta 2019 med testiranimi maticami ni bilo okuženih matic. V triletnem obdobju je opazen trend padanja števila okuženih matic (Tabela 4). V vseh treh letih se je v skoraj vseh vzrejališčih pojavljala okužba z virusom črnih matičnikov (BQCV), kar ne odstopa od slike slovenskega povprečja (Toplak s sod., 2012). V letu 2017 se je DWV pojavljal le v petih primerih skupnih vzorcev iztrebkov matic iz posameznega vzrejališča, to je slabih 18 odstotkov vzrejališč. SBV je bil prisoten le v enem vzrejališču, ABPV pa v skoraj 36 odstotkih. Virus kronične paralize čebel v iztrebkih matic nismo zaznali. Samo en virus (BQCV) je bil leta 2017 prisoten v 15 vzrejališčih, po dva virusa sta bila prisotna v 8 vzrejališčih. V enem od vzrejališč so bili prisotni hkrati 3 virusi (BQCV, DWV, ABPV); štirje virusi hkrati pa (BQCV, DWV, ABPV, SBV) pa ravno tako v enem od vzrejališč. V letu 2018 sta se SBV in ABPV pojavila v treh vzrejališčih, v enem primeru sočasno. Tako kot v prejšnjih letih je bil leta 2019 virus BQCV prisoten v vseh vzrejališčih (Tabela 5). Po dva virusa sta bila prisotna v 15 vzrejališčih. Prisotnost 3 ali 4 virusov ni bila potrjena v nobenem od vzrejališč hkrati.

Tabela 4. Število pregledanih matic in pozitivnih na prisotnost spor *Nosema* spp. v posameznih letih testiranja.

Leto	2017	2018	2019
Št. pregledanih matic	n = 140	n = 150	n=160
Št. vzrejališč	N = 28	N = 30	N=29
Št. pozitivnih matic na spore <i>Nosema</i> spp.	9 (6,4 %)	1 (0,7 %)	0 (0%)

V praksi se je za transport matic uveljavila bela transportna matičnica iz umetnega materiala. Vzrejevalci so jo uporabljali v 75 % v letu 2017, 74 % leta 2018 in 81 % v letu 2019. Čebele spremljevalke so dodane v različnem številu, vsa leta je dodanih od 4 do 11 čebel. Povprečno število spremljevalk je bilo v letu 2018 6,92, v letu 2019 pa 6,76. Izkaže se, da je pri večjem številu spremljevalk matica zelo utesnjena.

Tabela 5. Prevalenca virusov v vzrejališčih po posameznih letih.

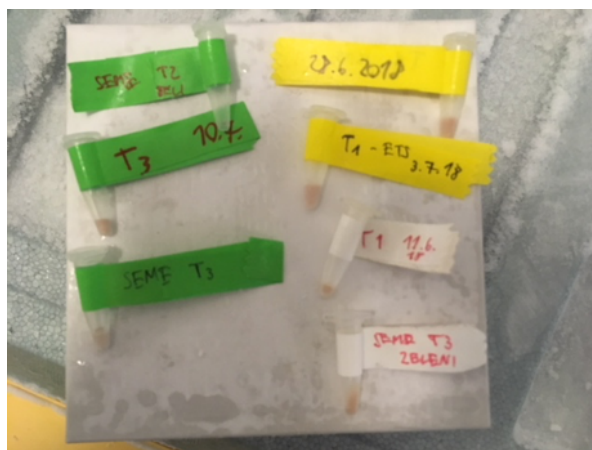
	DWV	BQCV	SBV	ABPV
2019	24%	100%	9%	12%
2018	np	97%	10%	10%
2017	17,90%	100%	3,60%	35,70%

1.3.3 Dolgotrajno shranjevanje genskega materiala in ocenjevanje kakovosti semena

V sodelovanju s sodelavci Washington State University smo v letu 2017 opravili krioprezervacijo trotovskega semena z izbranih lokacij. Poudarek pri izboru trotovske družine je bil na rasni čistosti in mirnosti. Krioprezervacija je bila opravljena na Kmetijskem inštitutu Slovenije. V letu 2018 in 2019 smo genski material zbrali iz treh družin testne postaje Ljubljana. Te družine so bile ocenjene z različnimi ocenami za čistilno sposobnost (Tabela 6). Seme smo zbrali z napravo za umetno osemenjevanje, predstavili v mikrocentrifugirke ustrezne velikosti in shranili na -80 °C. Seme je sedaj na voljo za nadaljnje postopke.

Tabela 6. Seznam družin, iz katerih je bil odvzet genski material v letu 2018. ČS - čistilna sposobnost. Barve: zelena - dobra ČS; rdeča - slaba ČS; siva - vmesna vrednost ČS.

Zap. št.	Datum	Ime	Vir	ČS
1	11.06.18	trotar 1	TP-LJ-01	58 %
2	14.06.18	trotar 3	TP-LJ-08	92 %
3	14.06.18	trotar 2	TP-LJ-02	8 %
4	28.06.18	trotar 1	TP-LJ-01	58 %
5	29.06.18	trotar 3	TP-LJ-08	92 %
6	03.07.18	trotar 1	TP-LJ-01	8 %
7	10.07.18	trotar 3	TP-LJ-08	92 %
8	26.07.19	trotar 1	TP-LJ-01	88%
9	26.07.19	trotar 2	TP-LJ-02	0%
10	26.07.19	rezerva3	TP-LJ_07	96%



Slika 3: Mikrocentrifugirke s shranjenim genskim materialom.

Poskusno trotovsko seme smo v letu 2018 na predmetnem steklu obarvali z eozinom in vzorec pregledali pod mikroskopom ter na napravi Casa. Rezultati so bili spodbudni predvsem pri opazovanju semena pod navadnim mikroskopom. Pri ustrezni redčitvi semena je dobro vidno razmerje med živimi in mrtvimi spermiji, vendar bo metodo potrebno še modificirati. Naprava Casa meri gibljivost živega semena. Trotovsko seme se je videlo razločno, vendar je naprava prilagojena le za spermatozoide sesalcev, ki se v prostoru premikajo. Trotovsko seme te lastnosti nima in je vidno le valovanje na istem mestu.

1.3.4 Direktni test

Obdelali smo podatke, ki so prispeli na Kmetijski inštitut s strani vzrejevalcev. Predstavljeni so podatki za leta 2016, 2017, 2018 in 2019. Za leto 2019 so prikazani podatki, prejeti s strani vzrejevalcev do 25.7.2019 (Tabela 7).

Tabela 7: Primerjava povprečnih vrednosti direktnega testa po letih. Pri lastnostih mirnost, rojivost, obarvanost in živalnost so možne ocene od 1(najslabše) do 4 (najboljše). Čistilna sposobnost se ocenjuje v odstotkih od 0 (najslabše) do 100 (najboljše).

	Med (kg)	Mirnost	Rojivost	Obarvanost	Živalnost	Čistilna spos.
2016	12,9	3,6	3,1	3,8	3,6	90,4 %
2017	15,4	3,5	3,4	3,7	3,6	87,2 %
2018	24,2	3,4	3,5	3,7	3,5	75,0 %
2019	12,1	3,4	3,4	3,8	3,4	79,9 %

1.3.4.1 Pridelek medu

Skupni donosi medu v letu 2017 so bili med 3 in 52 kilogrami. Skupno je bil donos medu izmerjen pri vseh, 485 družinah. Povprečni pridelek medu v letu 2017 je 16,20 kg na čebeljo družino. Pridelek v letu 2017 je pod povprečjem. V letu 2018 so bili skupni donosi medu med 0 in 68 kilogrami. Skupno je bil donos medu izmerjen pri 541 družinah. Povprečni pridelek medu v letu 2018 je kar 24,2 kg na čebeljo družino in je po dveh slabših letih ponovno normalen. Leto 2019 je bilo rekordno nizko, zgolj 12,1 kg na čebeljo družino.

1.3.4.2 Mirnost

Vsaka družina je bila trikrat ocenjena na mirnost: v maju, juniju in juliju. V maju 2017 so bile ocenjene 503 družine, v juniju in juliju istega leta pa je bilo ocenjenih 505 družin. Povprečna ocena mirnosti v posameznih mesecih je prikazana v Tabela 8. Okoli 38 % družin je vedno dobilo oceno 4. Oceno 2 ali manj je dobilo 53 družin ali 10,9 %. V vseh mesecih je bila ocena mirnosti nižja od preteklega leta. V maju in juniju 2018 je bilo ocenjenih 560 družin, v juliju 2018 pa vse, 581. Okoli 30 % družin je vedno dobilo oceno 4. Oceno 2 ali manj je dobilo 83 družin ali 14,3 %. Tudi v letu 2018 je bila ocena mirnosti v vseh mesecih nižja kot v letu 2017. Po trenutnih rezultatih (248 družin) je v letu 2019 49% dobilo oceno 4 pri vsakem ocenjevanju. Oceno 2 ali manj je dobilo 72 družin ali 12,8 %. Povprečna ocena je bila nižja kot v prejšnjih letih (Tabela 8).

Tabela 8. Mirnost po letih

	MAJ	JUNIJ	JULIJ	POVPREČJE
2017	3,5	3,4	3,5	3,5
2018	3,4	3,4	3,5	3,4
2019	3,4	3,4	3,4	3,4

1.3.4.3 Rojivost

Vzrejevalci ocenjujejo rojivosti je v juniju, v času najintenzivnejšega razvoja čebeljih družin. V letu 2017 je bilo ocenjenih 485 družin. Le 56,7 % družin ni poskusilo rojiti, pri 26,2 % so čebele same podrle matičnjake. V 11,6 % družin je čebelar s trdom preprečil rojenje in le 5,2 % družin je izrojilo. Povprečna ocena rojivosti je v letu 2017 boljša kot leto poprej. V letu 2018 je bilo ocenjenih 581 družin. 60,1 % družin ni poskusilo rojiti, pri 29,6 % so čebele same podrle matičnjake. V 8,4 % družin je čebelar s trdom preprečil rojenje in le 1,9 % družin je izrojilo. Leto 2018 lahko smatramo kot precej manj rojivo kot leto poprej. Ocene rojivosti za leto 2019 so bile poročane iz 248 družin. Le 54,8 % družin ni poskusilo rojiti, pri 33,9 % so čebele same podrle matičnjake. V 8,5 % družin je čebelar s trdom preprečil rojenje in 2,8 % družin je izrojilo.

1.3.4.4 Obarvanost

Obarvanost zadkov, s katero poskušamo oceniti pasemsko čistost čebeljih družin je bila ocenjena v vseh treh ocenjevanjih, v maju, juniju in juliju. V juliju 2017 sta se pojavili tudi dve obarvani družini, prav tako sta se dve obarvani družini pojavili v juliju 2018 kar potrjuje ugotovitve prejšnjih let, da se delež obarvanih družin proti koncu sezone poveča. V letu 2019 je bilo od poročenih 248 družin 62,1 % neobarvanih, 7 družin pa je dobilo oceno 1 ali 2, kar pomeni, da bi matice teh družin morali zamenjati z bolj ustreznimi.

1.3.4.5 Čistilna sposobnost

V letu 2017 je bila čistilna sposobnost pravilno izmerjena pri 480 družinah. Krajši čas testiranja se je odrazil v večjih razlikah med družinami. Vrednosti čistilne sposobnosti so bile med 0 in 100 % (27,9 % družin). V letu 2018 so bile izmerjene vrednosti prav tako med 0 in 100 % (24,0 % družin). Za vzrejo priporočamo družine, ki imajo čistilno sposobnost vsaj 90 % ali pa najboljše družine v čebelnjaku. S tem želimo spodbuditi naravno odpornost čebeljih družin na varojo. Delež 100 % testiranj čistilne sposobnosti se že več zadnjih let znižuje, kar ocenjujemo kot večjo natančnost pri izvedbi testiranja. V letu 2019 (248 poročenih družin)

so bile izmerjene čistilne sposobnosti med 6 in 100 % (11,2 %) družin. Spremenjena navodila za testiranje so bistveno spremenila razporeditev ocen čistilne sposobnosti. Zaradi krajšega časa testiranja so razlike med družinami bistveno večje. Za vzrejo priporočamo družine iz najboljše tretjine v čebelnjaku.

1.4 INTERPRETACIJA IN SPLOŠNE UGOTOVITVE

Nakup in zamenjava matic v čebeljih družinah je vezana na nekatera tveganja z okužbami npr. spore *Nosema* spp. in vnos virusov. Na podlagi preteklih raziskav smo v letu 2017 postavili standard pri vzreji in opraševanju matic. Standard določa, da so matice proste spor *Nosema* spp., masa oprašenih matic mora znašati vsaj 200 mg. Vsako leto smo pregledali od 140 do 165 matic iz odobrenih vzrejališč. Pregledane matice so bile posredovane čebelarjem v nadaljnje testiranje. V povprečju so matice tehtale 210,33 mg v letu 2017, 217,36 mg leta 2018 in 218,19 mg leta 2019. S sporami *Nosema* spp. je bilo leta 2017 okuženih 6,4%, le ena matica (0,7 %) leta 2018, v letošnjem letu pa so bile vse matice negativne pri pregledu na spore noseme. Standardom (masa matic, brez spor *Nosema* spp.) je ustrezalo 86,7 % odstotkov čebeljih matic v letu 2018 in 91 odstotkov v letu 2019. V triletnem obdobju je opazen trend naraščanja telesne mase matic ter padanje števila okuženih s sporami *Nosema* spp, posledično tudi vsako leto več matic ustreza standardu, ki je bil vpeljan. To pripisujemo neposredni komunikaciji z vzrejevalci.

Trend padanja prevalence spor *Nosema* spp. lahko z veliko verjetnostjo pripišemo večji pozornosti pri pripravi plemenilnikov in njihovi naselitvi z mladimi delavkami iz zdravih in močnih družin. Povzročitelji virusnih obolenj se prenašajo tudi preko parjenja. V preiskanem vzorcu matic smo ugotovili, da so nekateri virusi prisotni skoraj povsod (to velja za BQCV), drugi pa se pojavljajo posamično oz. v kombinacijah. Virusi so pogosto prisotni v latentni obliki in sama prisotnost virusov še ne pomeni pojava kliničnih znakov virusnih bolezni. Seveda pa pojavljanje dveh ali več virusov v vzrejališču povečuje tveganje za izbruh kliničnih oblik virusnih bolezni v čebelji družini. Pojavljanje novih virusov v isti družini je lahko posledica združevanja družin, premeščanja zalege (npr. v rednik), in visoke gostote družin na lokaciji čebelnjaka, kar poveča možnost uletavanja tujih čebel in ropa. Pomemben vektor virusov je tudi pršica varoja. Podatki analiz za posamezna vzrejališča so vzrejevalcem dostopni na Kmetijskem inštitutu Slovenije.

Rezultate in trende, ki so v direktnem testu očitni na prvi pogled, si moramo razlagati z zrnomo soli. Navajamo dva možna razloga: 1) v letu 2017 smo prvič priporočali vzrejevalcem, da uporabljajo nove kriterije, kot so opisani v Böhner in sod. (2013). Ti kriteriji pa se pri nekaterih lastnostih zelo razlikujejo od do sedaj uporabljenih. Razlog za spremembo kriterijev je združljivost s projektom SmartBees in panevropsko mrežo BeeBreed; 2) testnim

čebelarjem in vzrejevalcem vsako leto znova priporočamo, da so strogi (a korektni) pri ocenjevanih družinah. Družine znotraj ocenjevanega čebelnjaka naj bi bilo moč razvrstiti po ocenah. Na podlagi rezultatov, ki so jih poslali posamezni vzrejevalci, smo pripravili priporočila za odbiro, ki so bila odposlana vzrejevalcem skupaj s potrdilom o številu matic vpisanih v rodovniško knjigo. Na podlagi pravilno izvedenega direktnega testa so vzrejevalci prejeli potrdilo o pravilni izvedbi direktnega testa.

2 ODBIRA ČEBELJIH DRUŽIN, KI SO ODPORNE PROTI VAROJAM

Delo smo razdelili na dva sklopa. V prvem smo izvajali preskuse čistilne sposobnosti in obremenjenosti družin z varojo na različnih lokacijah, v drugem nadaljevali z vzrejnim delom. Odbira, vzreja in reprodukcija proti varojam bolj odpornih linij čebeljih družin je izredno pomembna na svetovnem nivoju. V prejšnjem programskem obdobju smo s selekcijo izbrali nekaj družin, ki so se izkazale za bolj odporne. V tekočem programskem obdobju pa smo nekatere od teh družin uporabili kot genetski vir, hkrati pa smo nadaljevali z odbiro v naših družinah in v izbranih čebeljakih na terenu. V letu 2019 smo vzrejni material uporabili kot osnovo za vzrejo čebeljih matic, ki smo jih tudi ponudili na trg (Slika 4. Cenik Kmetijskega inštituta Slovenije).



II. ČEBELARSTVO

Storitev	Cena/vzorec (EUR)
• Aplikativna raziskava vpliva ruralnega in urbanega okolja ter prehranskih virov na razvoj čebeljih družin	kont. Oseba: Janez Prešern
• Določanje kubitarnega indeksa (morfolometrično razmerje odsekov spodnje žile tretje kubitarne celice prednjega krila)	23,00
• Histološke analize (ocene reprodukcijske sposobnosti čebeljih matic in trotoev, fiziološkega stanja čebel itd.)	kont. Oseba: Janez Prešern
• Komplet za preverjanje čistilne sposobnosti čebelje družine »Pin test«	20,00
• Matica, gospodarska	18,26
• Matica, rodovniška	73,06
• Molekularne analize na prisotnost virusov – 1 virus	51,00
• Molekularne analize na prisotnost virusov – 4 virusi (ABPV, BQCV, DWV, SBV)	75,00
• Paketni roj (1,3 kg čebel) z gospodarsko matico	91,32
• Pregled prebavil na spore mikrosporidija <i>Nosema</i> spp.	17,00
• Preskušanje učinkov krme in krmnih dodatkov	kont. Oseba: Janez Prešern
• Preskušanje različnih tehnologij s področja čebelarstva	kont. Oseba: Janez Prešern
• Rasna klasifikacija (celovita morfolometrična analiza prednjih kril)	29,00
• Raziskava spremljanja kakovosti matic kranjske čebele in odbira čebeljih družin, ki so odporne proti varojam	kont. Oseba: Janez Prešern
• Sat zalege na AŽ satju s čebelami	13,69
• Senzorična analiza medu I. (osnovna)	16,39
• Senzorična analiza medu II. (razširjena)	49,18
• Tehtanje čebeljih matic (cena se oblikuje po porabljenem času in potnih stroških v primeru tehtanja na terenu)	kont. oseba: Janez Prešern
• Zrel matičnik	5,48

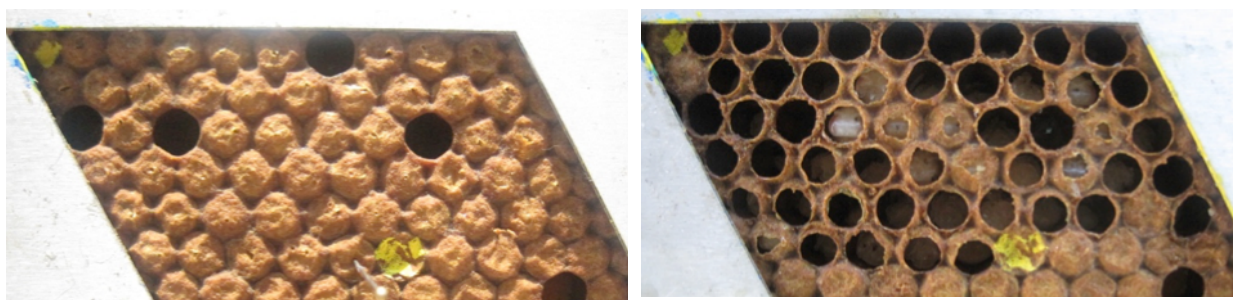


Slika 4. Cenik Kmetijskega inštituta Slovenije

2.1 ZNAČILNOSTI ODBRANEGA PLEMENSKEGA MATERIALA

Pri odbiri plemenskega materiala smo se za glavni kriterij osredotočili na čistilno sposobnost, ki se kaže kot čiščenje prizadete čebelje zalege, za podporni kriterij pa obremenjenost odraslih čebel z varojo. Podlaga čistilnega vedenja so določene genetske predispozicije, ki se jih v praksi najlaže ocenjuje preko testov kot je t.i. »pin test« (Newton in Ostasiewski, 1986). Pri tem testu se uniči čebelja zalega na stopnji bube z rožnatimi očmi s prebadanjem s tanko iglo, potem pa se po določenem času preveri odstotek odkritih celic in se ga primerja z rezultatom iz drugih družin na isti lokaciji. Poleg tega so bili uporabljeni tudi ostali kriteriji za odbiro, ki so določeni v rejskem programu.

2.1.1 Metode odbire



Slika 5: Izvedba pin-testa na 50 celicah. S pisalom za matice označimo vogale (levo zgoraj, desno spodaj). Prebodemo 50 celic, začenši pri prvi nepobarvani levo zgoraj. Preskočimo prazno celico, pobarvamo 51 celico. Levo: sat z označenim in izvedenim pin-testom. Desno: sat z očiščenimi in odprtimi celicami.

Družine smo odbirali v treh čebelnjakih v okolici Žirov (podizvajalec NIB) ter na testnih postajah KIS. Uporabili smo standardno metodo, ki je predlagana za selekcijo čebel (Büchler in sodelavci, 2013). Iz vsake testirane družine smo vzeli sat s pokrito zalego. Na izbranem satu pokrite zalege smo s pomočjo šablone določili polje s stotimi celicami (v obliki romba) čim bolj strnjene zalege (Slika 5). Prvo vogalno celico (zgoraj levo) smo označili z barvo, 50 naslednjih pokritih celic smo preluknjali z entomološko iglo in prvo naslednjo (nepreluknjano) spet barvno označili. Sat smo označili in vrnili v panj na isto mesto ter v enakem položaju. Po 12 urah smo test pregledali in prešteli število pokritih satnih celic med obema označenima celicama. V kolikor so čebelje družine na lokaciji očistile vse celice do

drugega pregleda, smo test ponovili in skrajšali interval. Čistilno sposobnost smo izračunali po formuli: $\text{ČS} = (50 - \text{št. neočiščenih celic}) \times 2$.

Na treh lokacijah smo izvedli tudi sladkorni test po standardni metodi, ki omogoča določitev okuženosti z varjo (Dietemann in sod. 2013). Iz družine smo odvzeli 300 čebel in jih zaprli v poseben tulec z mrežo. Dodali smo žlico mletega sladkorja, pretresli in počakali eno minuto (Slika 6, levo). Tulec s čebelami smo nato stresali nad belo kadjo in prešteli število odpadlih varoj (Slika 6, desno). Čebele smo nato vrnili v družino.



Slika 6: Sladkorni test. Levo: 300 čebel v tulcu, posutih s sladkornim prahom. Desno: odpadle varoje.

2.1.2 Rezultati

Čebele so v letu 2017 v testiranih družinah v 24 urah očistile od 4 % do 100 %, v povprečju 67,17 % celic. Povprečno število očiščenih celic na družino v posameznem čebelnjaku je bilo od 61,36 do 75,43 %. V treh čebelnjaki v okolici Žirov so čebele leta 2018 v 24 urah očistile od 10 % do 100 %, v povprečju 76,81 % celic. Povprečno število očiščenih celic na družino v posameznem čebelnjaku je bilo od 74,10 % do 82,00 %. Število odpadlih varoj je znašalo od 0 do 13, v povprečju 0,12. Povprečno število odpadlih varoj na družino v čebelnjaku je bilo od 0,19 do 2,13. Zalego treh matice (R526, R527 in R528), ki so se v dveh zaporednih letih testiranja odrezale najboljše smo pripeljali na lokacije KIS. Nadalje smo vršili odbiro na lokacijah KIS v treh statističnih regijah: obalno-kraški, gorenjski in osrednjeslovenski. Povprečna čistilna sposobnost po posameznih lokacijah je bila 94 % na lokaciji Štanjel, 71 % na lokaciji Mengeško polje, 54 % na lokaciji Senično in 51 % na lokaciji Ljubljana. V sezoni 2018 materiala iz obalno-kraške regije nismo uporabili zaradi rumene obarvanosti obročkov na zadku čebel. Družine s preostalimi lokacijami smo uporabili bodisi kot vir matičarjev ali kot vir trotoev. V letu 2019 smo pred pričetkom vzrejne sezone še enkrat opravili test čistilne

spodobnosti. Povprečna čistila sposobnost v 8 urah v testiranih čebeljih družinah je bila 66,1%, Najboljša družina je očistila 98% poškodovanih bub, najslabša pa poškodovanih bub sploh ni prepoznala. Najboljše družine smo uporabili kot matičarje.

2.2 IZBOLJŠANJE LASTNOSTI VZREJE IN INTENZIVIRANJE VZREJE



Slika 7: Cepljenje ličink (levo). Družina z dodatno naklado za iztrebljanje (sredina). Markiranje trotov (desno).

Za vzrejo smo v letu 2018 pripravili štarter/rednik v dveh nakladah, kateremu je bila odstranjena matica. Poskrbeli smo za dovolj peloda in hrane ob vzrejnem satu in po potrebi dodajali sladkorno raztopino (1:1) za tekoče potrebe, v letu 2019 pa smo štarter/rednik pripravili v eni nakladi, ki je bila prav tako brez matice, zato smo dodajali zalego, in če je bilo potrebno tudi čebele. Po pokritju matičnikov smo jih prestavili v inkubator. Matice smo prašili po naravni poti in z umetno osemenitvijo. Za zagotavljanje kvalitetnega trotovskega materiala smo v izbrane družine vstavili gradilne sate, ter jih po potrebi prenesli na lokacijo Ljubljana pred poleganjem. Ker troti pogosto prehajajo med družinami, smo trotovsko zalego po pokrivanju prenesli v mediščno naklado, ločeno od plodišča in izhoda z matično rešetko, s čimer smo trotom preprečili izlet. Ko so se troti začeli polegati, smo poleglate trote označevali z barvami, ter tako zagotovili njihovo identifikacijo: vsaki družini smo določili svojo barvo (Slika 7). Za osemenjevanje smo uporabljali zgolj spolno zrele trote. Ko so prvi troti dosegli spolno zrelost, smo dodali t.i. letalno naklado, na vrhu omejeno z mrežo. Pokrovanje smo odkrili zgodaj popoldne, da smo spodbudili trote k letenju. Tako smo dosegli, da so se iztrebili.

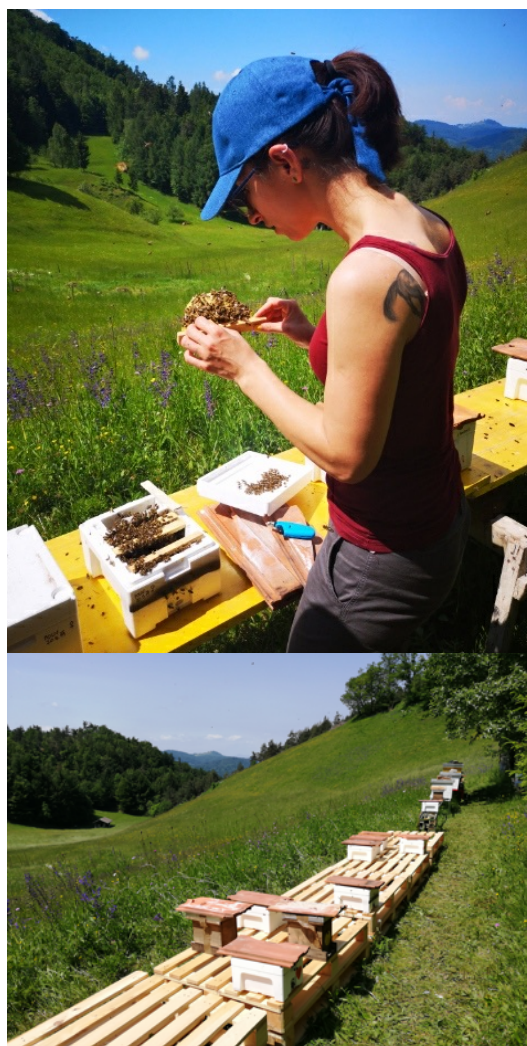
2.3 REPRODUKCIJA ODBRANEGA MATERIALA

Za vzrejno dejavnost in lokalno odbiro smo vzdrževali 24 družin na štirih različnih lokacijah in v treh regijah: gorenjski, obalno-kraški in osrednjeslovenski. Za vzrejo matic smo pripravili posebne družine, ki so služile kot kombinacija štarterja in rednika. V prvem letu so za trotarje služile družine iz TP Jable in Povir, odbrane v 2016. Ostale družine smo namenili za sprejem osemenjenih matic, kljub temu pa smo na vseh družinah (razen TP Senično) izvajali test čistilne sposobnosti, na podlagi katerega smo izbirali matičarje (TP-LJ-4, 84 %). Matice smo cepili tedensko. Pred poleganjem smo matičnike zaščitili z plastičnimi mrežami, vzrejne letve pa prestavili v medišča gospodarskih družin, v katerih smo matičen rešetko večinsko pokrili s folijo in tako zmanjšali pretok feromonov »domače« matice. Preverjanje osemenjenosti matic smo izvajali v prašilčkih. Osemenjene matice smo prestavili v zato pripravljene družine na TP Jable ter jih zabeležili v izvorno rodovniško knjigo (IRK). V rodovniško knjigo so bile v letu 2017 vpisane 4 matice, od katerih je bila ena umetno osemenjena.

Za selekcijo trotov pri umetnem osemenjevanju sta v letu 2018 služili dve družini na lokaciji TP Ljubljana: TP-LJ-1 in TP-LJ-8. V nekaterih primerih smo iz TP-LJ-8 nacepili tudi matice, pri čemer smo pazili, da smo semenili s semenom iz druge družine. Matice, nacepljene iz odbranih družin iz okolice Žirov, smo prašili na testni postaji Senično, kjer so odbrane družine služile kot trotarji. Pred poleganjem smo matičnike zaščitili s plastičnimi mrežami (Slika 8, spodaj levo), vzrejne letve pa prestavili v medišča gospodarskih družin, v katerih smo plodiščno nakladno večinsko pokrili s folijo in tako zmanjšali pretok feromonov »domače« matice v medišče. Preverjanje uspešnosti osemenitve izvajamo na plemenilnikih (Slika 8, zgoraj desno). V kolikor se matice izkažejo za osemenjene, jih prestavimo v zato pripravljene družine na eni od lokacij ter jih zabeležimo v izvorno rodovniško knjigo (IRK). V vzrejni sezoni smo vzredili ter v IRK vpisali 37 matic. Vse umetno osemenjene matice so propadle tekom zime 2018/2019.

V letu 2019 smo vzrejo matic intenzivirali. Na lokaciji TP Ljubljana smo pripravili 3 družine, ki so služile kot štarter/rednik. Za matičarje smo uporabili družine, ki so v lanskem letu dosegale najboljše rezultate pri ocenjevanju čistilne sposobnosti in sicer: tp-sen-1 in tp-št-1 (matica 70020-2018) ter družini z maticama 70026-2018 in 70016-2018, ki so že potomke v lanskem letu odbranih družin. Po pokritju smo matičnike prestavili v matičnice ter v

inkubator. Matice smo prašili po naravni poti, na lokaciji v okolici Trojan. Po dveh tednih smo pregledali plemenilčke, da smo ugotovili, če so se matice uspešno sprašile. Sprašene matice smo označili z opalitno ploščico ter skupaj z nekaj spremljevalkami dali v transportno matičnico, matičnice z maticami pa do prodaje shranili v za to pripravljeni »banki« matic-tj. brez matična družina, v katero redno dodajamo zalego, ki skrbi za matice v matičnicah. Do dne 16.7.2019 smo vzredili 30. V štarter/rednikih je bilo na ta dan 100 matičnikov, v inkubatorju 20 matičnikov in v plemenilnikih 37 matic. 20 matic lastne vzreje smo dodali v družine na lokaciji TP-MP, kjer jih bomo v letošnjem ter prihodnjem letu testirali. Formirali smo tudi dve liniji odbranih matic z višjo čistilno sposobnostjo, ki izvirajo iz dveh različnih čebelnjakov v okolici Žirov (Tabela 9).



Slika 8: Vzreja.

Tabela 9. Rodovnik odbranih matic: v letu 2017 smo na območju Žirov odbrali matere z najboljšo čistilno sposobnostjo (R526, R527 in R528). V letu 2017 smo vzredili ter testirali prvo generacijo njihovih potomk. Matice, označeni z rumeno smo uporabili v matičarjih za vzrejo matic za trg v letu 2019. * od odbranih matic imamo v postopku vzreje tudi matičnike ter matice v plemenišču; AI umetno osemenjene, številka v oklepaju je rodovniška številka matice v trotarju; ČS-čistilna sposobnost.

2016	2017	2018	PARJENJE	2019
	R526 (ČS 94,5%) LINIJA 1	70010-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70011-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70012-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70013-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70014-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70015-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70032-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70033-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70034-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70025-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70026-2018 (ČS 34%)	Prosto (TP-SEN)	v vzreji*
		70035-2018	prosto	
		70036-2018	prosto	
		70037-2018	prosto	
		70016-2018 (ČS 84%)	prosto	v vzreji*
		70017-2018	prosto	
	R527 (ČS 85,0%) LINIJA 2	70018-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70027-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70020-2018 (ČS 100,0%)	prosto	25515-2019
	R528 (ČS 87,0%)	70021-2018	Prosto (TP-SEN)	25516-2019
		70022-2018	Prosto (TP-SEN)	v vzreji*
		70023-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70024-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70028-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70029-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70030-2018	Prosto (TP-SEN)	
		70038-2018	Prosto (TP-SEN)	
70002-2016	70001-2017 (ČS 84,0%)	70002-2018	AI (70001-2016) (ČS 92,0 %)	
		70003-2018	AI (70004-2016) (ČS 8,0%)	
		70004-2018	AI (70001-2016) (ČS 92,0 %)	
		70005-2018	AI (70003-2016) (ČS 58,0%)	
		70006-2018	AI (70004-2016) (ČS 8,0%)	
		70007-2018	AI (70004-2016) (ČS 8,0%)	
		70008-2018	AI (70004-2016) (ČS 8,0%)	
		70009-2018	AI (70004-2016) (ČS 8,0%)	
		70031-2018	AI (70001-2016) (ČS 92,0 %)	

2.4 INTERPRETACIJA REZULTATOV IN SPLOŠNE UGOTOVITVE

V prvem letu smo z vzpostavitvijo lastne vzreje matic in kontrolirano osemenitvijo matic napravili korak naprej. Sistem, ki smo ga vzpostavili, smo v naslednjem letu razširili in uporabili pri ciljni odbiri s poudarkom na čistilni sposobnosti družin. V letu 2018 smo osvežili našo vzrejo z materialom, pridobljenem iz okolice Žirov. Območje je znano po relativni geografski izoliranosti, kar je pomembno pri odbiri zaradi možnosti kontroliranega parjenja s troti iz trotarjev s primernimi rejskimi lastnostmi. Matice, ki bodo uspešno zalegale, bomo predstavili v gospodarne družine.

V letu 2019 smo nadaljevali selekcijsko delo, ki smo ga začeli v preteklih letih. V spomladanskem obdobju smo zaradi slabega vremena imeli težavi pri vzreji kot tudi prahi matic, ko se je pa vreme stabiliziralo se je zvišal tudi odstotek sprejetih ličink ter oprasnih matic. V lastne čebelje družine bomo dodali vzrejene matice, kjer bomo preverjali njihovo čistilno sposobnost ter ostale gospodarsko zanimive lastnosti. Čistilni nagon je zelo odvisen od paše, zato rezultati merjenja čistilne sposobnosti med lokacijami niso primerljivi; primerjavo je potrebno vršiti znotraj iste lokacije.

Literatura kaže, da so tako čistilni nagon kot tudi ostale rejsko zanimive lastnosti nestabilne in se hitro izgubijo z nadaljnjim neselektivnim parjenjem. Znano je tudi, da je vpeljava določene lastnosti s selektivno rejo in brez osiromašanja genskega sklada hitrejša in bolj uspešna, kadar imamo na voljo veliko primerne začetnega genetskega materiala (matice in troti). Za prenos željenih odbranih lastnosti na potomce so poleg odbranih matičarjev potrebi tudi odbrani trotarji, ki so vir vitalnih trotov na plemenišču gospodarskih matic. V želji po zagotovitvi čim večjega selekcijskega napredka je pomembna tudi sledljivost po očetovi liniji, kar pa je pri čebelah glede na običajen potek parjenja v primerjavi z drugimi živalskimi vrstami oteženo, zato bo v prihodnosti za potrebe kontrolirane vzreje in ohranjanja zaželenih lastnosti nujno vzpostaviti izolirano plemenilno postajo, ki bo omogočala večjo produkcijo matic oprasnih z znanimi troti kot pa umetno osemenjevanje.

3 VIRI

Büchler R, Andonov S, Bienefeld K, Costa C, Hatjina F, Kezić N, Kryger P, Spivak M, Uzunov A, Wilde J. Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. J Api Res, 52: 1 – 30. <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.07>

Büchler R, Berg S, Le Conte Y. 2010. Breeding for resistance to *Varroa destructor* in Europe. Apidologie 41: 393 – 408.

Dietemann V, Nazzi F, Martin SJ, Anderson D, Locke B, Delaplane KS, Wauquiez Q, Tannahill C, Ellis JD. 2013. Standard methods for varroa research. V: Dietemann V., Ellis J.D., Neumann P. The COLOSS BEEBOOK, Volume II: standard methods for *Apis mellifera* pest and pathogen research. J Apic Res 52(1): <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.09>

Gregorc A. 2005. Vzreja čebeljih matic. Čebelarska zveza Gorenjske,.

Hatjina F, Bieńkowska M, Charistos L, Chlebo R, Costa C, Dražić M, Filipi J, Gregorc A, Ivanova E, Kezić N, Kopernicky J, Kryger P, Lodesani M, Lokar V, Mladenović M, Panasiuk B, Petrov, Plamen P, Rašić S, Smodiš Škerl MI, Vejsnæs F, Wilde J. 2014. A review of methods used in some European countries for assessing the quality of honey bee queens through their physical characters and the performance of their colonies. J Apicult Res 53: 337-363.

Kahya, Y., Gençer, H. V., & Woyke, J. (2008). Weight at emergence of honey bee (*Apis mellifera caucasica*) queens and its effect on live weights at the pre and post mating periods. Journal of Apicultural Research, 47(2), 118-125.

Newton DC in Ostasiewski NJ. 1986. A simplified bioassay for behavioral resistance to American foulbrood. Am Bee J, 126: 278 – 281.

Prešern J, Smodiš Škerl MI. 2019. Parameters influencing queen body mass and their importance as determined by machine learning in honey bees (*Apis mellifera carnica*). Apidologie, DOI: 10.1007/s13592-019-00683-y.

Smodiš Škerl MI, Presern J, Bevk D, Podgoršek P. 2017. Raziskava spremljanja kakovosti matic kranjske čebele in izbira čebeljih družin, ki so odporne proti varojam: programsko obdobje 2017 - 2019: poročilo o izvedenih nalogah v letu 2017. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije.

Smodiš Škerl MI, Presern J, Bevk D, Podgoršek P. 2018. Raziskava spremljanja kakovosti matic kranjske čebele in izbira čebeljih družin, ki so odporne proti varojam: programsko obdobje 2017 - 2019: poročilo o izvedenih nalogah v letu 2018. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije.

PRILOGA 1. ČISTILNA SPOSOBNOST V OKOLICI ŽIROV

	2017									2018									
Čebelnjak	Družina	Datum		ČS (%)			št. var. / 300 čebel			Družina	Datum		ČS (%)			št. var. / 300 čebel			ČS povp. dveh let
		I	II	I	II	Povp.	I	II	Povp		I	II	I	II	Povp.	I	II	Povp	
298779	1	13.6	20.6	100	46	73	1	0	0,5	1	21.6	28.6	100	78	89	3	4	3,5	81,0
298779	2	13.6	20.6	84	18	51	0	0	0	3	21.6	28.6	46	78	62	1	5	3	56,5
298779	3	13.6	20.6	98	78	88	0	4	2										
298779	4	13.6	20.6	82	92	87	0	0	0	4*	21.6	28.6	86	80	83	0	0	0	85,0
298779	5	13.6	20.6	70	58	64	0	0	0										
298779	6	13.6	20.6	82	66	74	0	0	0	6	21.6	28.6	36	96	66	0	1	0,5	70,0
298779	7	13.6	20.6	82	4	43	0	0	0										
298779	8	13.6	20.6	98	18	58	0	0	0										
298779	9	13.6	20.6	94	50	72	0	1	0,5	9	21.6	28.6	78	78	78	0	1	0,5	75,0
298779	10	13.6	20.6	28	34	31	0	0	0										31,0
298779	11	13.6	20.6	10	58	34	0	0	0	11	21.6	28.6	100	100	100	0	0	0	67,0
111849	12	16.6	23.6	70	72	71	2	6	4										
111849	13	16.6	23.6	92	90	91	0	0	0										
111849	14	16.6	23.6	96	64	80	0	0	0	14	21.6	28.6	92	64	78	2	0	1	79,0
111849	15	16.6	23.6	98	70	84	0	2	1	15	21.6	28.6	52	100	76	0	2	1	80,0
111849	16	16.6	23.6	100	22	61	0	0	0	16	21.6	28.6	10	22	16	0	9	4,5	38,5
111849	17	16.6	23.6	90	20	55	0	0	0	17	21.6	28.6	78	100	89	0	0	0	72,0
111849	18	16.6	23.6	94	78	86	2	0	1	18*	21.6	28.6	86	90	88	0	13	6,5	87,0
111937	19	28.6	30.6	90	98	94	0	0	0	19*	19.6	26.6	94	96	95	0	0	0	94,5
111937	20	28.6	30.6	78	44	61	0	0	0	20	19.6	26.6	52	92	72	0	0	0	66,5
111937	21	28.6	30.6	84	80	82	7	2	4,5	21	19.6	26.6	74	96	85	0	0	0	83,5
111937	22	28.6	30.6	90	100	95	0	0	0										
111937	23	28.6	30.6	46	90	68	0	0	0	22	19.6	26.6	96	54	75	1	1	1	71,5
111937	24	28.6	30.6	70	90	80	1	1	1	23	19.6	26.6	78	90	84	0	0	0	82,0
111937	25	28.6	30.6	54	34	44	3	0	1,5	24	19.6	26.6	86	92	89	0	0	0	66,5
111937	26	28.6	30.6	86	10	48	0	6	3										
111937	27	28.6	30.6	84	76	80	0	0	0	27	19.6	26.6	76	90	83	0	0	0	81,5
111937	28	28.6	30.6	40	10	25	0	0	0	28	19.6	26.6	58	88	73	1	0	0,5	49,0

Leto 2019

Čebelnjak	Družina	Datum		Čistilna sposobnost (%)			Število varoj / 300 čebel		
		I	II	I	II	Pov	I	II	Povp.
SI298779		04.07.	10.07.	90	26	58	2	5	3,5
SI298779	2	04.07.	10.07.	90	38	64	0	2	1,0
SI298779	6	04.07.	10.07.	40	44	42	1	1	1,0
SI298779	7	04.07.	10.07.	10	82	46	1	0	0,5
SI298779	8	04.07.	10.07.	98	88	93	1	2	1,5
SI298779		04.07.	10.07.	94	90	92	1	0	0,5
SI298779	10	04.07.	10.07.	46	72	59	11	7	9,0
SI298779	11	04.07.	10.07.	66	86	76	5	6	5,5
SI298779	33	04.07.	10.07.	28	14	21	5	8	6,5
SI298779	41	04.07.	10.07.	36	38	37	2	7	4,5
SI111849	14	02.07.	08.07.	28	16	22	0	0	0,0
SI111849	15	02.07.	08.07.	82	88	85	5	9	7,0
SI111849	17	02.07.	08.07.	90	34	62	11	36	23,5
SI111849	29	02.07.	08.07.	96	94	95	9	4	6,5
SI111849	30	02.07.	08.07.	96	26	61	1	1	1,0
SI111849	31	02.07.	08.07.	94	42	68	25	45	35,0
SI111849	51	02.07.	08.07.	96	66	81	5	8	6,5
SI111849	52	02.07.	08.07.	86	88	87	11	23	17,0
SI111849	53	02.07.	08.07.	92	4	48	5	2	3,5
SI111937	19	29.06.	06.07.	86	70	78	3	4	3,5
SI111937	20	29.06.	06.07.	70	64	67	5	3	4,0
SI111937	21	29.06.	06.07.	82	42	62	1	3	2,0
SI111937	22	29.06.	06.07.	50	62	56	4	5	4,5
SI111937	23	29.06.	06.07.	78	76	77	9	5	7,0
SI111937	24	29.06.	06.07.	62	40	51	2	3	2,5
SI111937	26	29.06.	06.07.	84	94	89	3	2	2,5
SI111937	27	29.06.	06.07.	78	90	84	4	6	5,0
SI298779	28	29.06.	06.07.	42	66	54	3	4	3,5
Povprečje				70,4	59,8	65,1	4,9	7,3	6,1