

VPLIV HMF-A NA DOLGOŽIVOST ČEBEL V LABORATORIJSKIH POGOJIH

Snežana JURIŠIČ¹

Izvleček

V letu 2013 smo na Kmetijskem inštitutu Slovenije raziskovali vpliv organske spojine hidroksimetilfurfural (HMF) na dolgoživost delavk medonosne čebele *Apis mellifera carnica* v laboratorijskih pogojih. V raziskavi smo ugotovili, da zviševanje odmerka HMF-a dodanega v sladkorno pogačo (Apifonda®) ne kaže večjega odstopanja v odmiranju čebel do 15. dneva. Med 16. in 30. dnevom je odmiranje čebel postopoma naraščalo med odmerkoma 100 in 1500 mg HMF-a/kg pogače, in sicer pri višjem odmerku je bila stopnja preživetja krajša. Negativen vpliv HMF-a se kaže tudi po 30. dnevu, kjer je skupina čebel pri višjem odmerku HMF-a živel še nekaj dni, pri nižjem odmerku pa se je stopnja preživetja zmanjšala; čebele v kontrolni skupini so dočakale tudi 45 dni.

Ključne besede: HMF / *Apis mellifera carnica* / dolgoživost čebel

THE EFFECT OF HMF ON LONGEVITY OF BEES IN LABORATORY CONDITIONS

Abstract

In 2013 we conducted a research about the effects of the organic compound hydroxymethylfurfural (HMF) on the longevity of honey bee workers *Apis mellifera carnica* in laboratory conditions at the laboratories of the Kmetijski inštitut Slovenije. Our research showed that the increased concentration of HMF in the basic sugar candy (Apifonda®) does not reflect in increased mortalities of bees until the age of 15 days. Between days 16 and 30 the mortalities increases, with higher mortality trends corresponding to higher concentration of HMF in the candy (100 and 1500 mg/kg of HMF). The negative effect of HMF is also noticeable after day 30. In the group, receiving the highest concentration of HMF, none of the bees survived more than 30 days, while there were bees surviving longer corresponding to the lower concentration of HMF in the food. In the test groups the bees survived 45 days.

Key words: Hydroxymethylfurfural (HMF) / *Apis mellifera carnica* / longevity

¹ ssjurisic@gmail.com

UVOD

Na Zemlji obstaja okoli 250.000 cvetočih rastlin, ki brez opraševanja ne bi mogle obstati. Kar 40 % svetovne kmetijske pridelave je odvisne od opraševalcev, in sicer 87 od 115 gospodarsko najpomembnejših rastlin (Klein in sod. 2007). Čebele oprašujejo tudi 90 % sadnih dreves, medtem ko seznam cvetočih rastlin, ki jih oprašujejo čebele, vključuje kar 170.000 vrst (Tautz, 2008). V primeru izgube vseh opraševalcev bi glede na trenutno povpraševanje proizvodnja sadja upadla za okoli 12 odstotkov in zelenjave za okoli 6 odstotkov (Gallai in sod. 2009).

Z gospodarskim čebelarjenjem lahko v veliki meri vplivamo na zdravstveno stanje čebel in posledično na njihovo življenjsko dobo. Obstaja veliko dejavnikov (bolezni čebel, vremenske razmere, neustrezna raba pesticidov, nepravilno ravnanje s čebelami, bližina posameznih nevarnih objektov itn.), ki lahko negativno vplivajo na dolgoživost čebel. Že dlje časa obstaja trend upadanja števila čebeljih družin. Tako je število čebeljih družin v Evropi leta 1970 znašalo več kot 21 milijonov, a se je do leta 2007 zmanjšalo na okrog 15,5 milijonov (FAO 2009).

Življenjska doba čebel delavk se zelo razlikuje in je odvisna od letnega časa. T. i. spomladanske in jesenske čebele živijo povprečno 30–60 dni, poletne 15–40 dni, zimske pa preživijo tudi do 140 dni. V vseh obdobjih leta je za dosego maksimalne življenjske dobe pomembna ustrezna hrana (Zdešar in sod., 2011).

Za prezimitev čebeljih družin sta pomembna predvsem dva dejavnika: moč čebelje družine in zaloga hrane. Sodobni čebelar v prvi vrsti skrbi za zagotavljanje primerne količine hrane. Zagotavljanje kvalitetne zaloge hrane predstavlja enako pomemben dejavnik za uspešno prezimitev čebelje družine, kakor tudi za njen neoviran razvoj skozi vse leto. V širšem smislu predstavlja med kompleksno zmes več kot 70 različnih komponent. Nekatere izmed njih so: proteini, vitamini, minerali, organske kisline, fenolne spojine, arome in različni derivati klorofila (Rugolija 2009). Določene sestavine se lahko naravno nahajajo v medu, in če so prisotne v majhnih količinah, ne predstavljajo slabše kvalitete samega medu. V kolikor njihova količina presega določeno mejo prisotnosti, lahko predstavlja nezaželeno snov, ki bi znala negativno vplivati na čebelji organizem. Ena izmed takšnih snovi je hidroksimetilfurfural (HMF) ali 5-hidroksimetil-2-furaldehid ($C_6H_6O_3$).

Gre za vodotopno heterociklično organsko spojino, pridobljeno iz sladkorja, in je derivat furana. Naravno je v medu prisotna v majhnih in celo zanemarljivih količinah, kar velja tudi za drugo svežo hrano (mleko, sadni sokovi, alkoholne pijače, kruh) (Basumallick in Rohrer 2001). Zviševanje količine HMF-a v medu je običajno posledica nepravilnega ravnanja pri skladiščenju. Pri dehidraciji

medu z gretjem pri visokih temperaturah prihaja do zviševanja količine HMF-a. Pravilnik o medu (kot živilu) določa, da vsebnost HMF-a ne sme presegati vrednosti 40 mg HMF-a po kilogramu medu (Pravilnik o medu 1999).

Strokovnjaki opozarjajo, da visoka koncentracija HMF-a v medu predstavlja možen dejavnik, ki prispeva k prezgodnjem odmiranju čebel in propadu čebeljih družin (Le Blanc in sod. 2009, van der Zee in Pisa, 2010). Za ohranjanje čebeljih družin so raziskave potencialnih dejavnikov, ki lahko negativno vplivajo na krajšanje življenjske dobe čebel, vsekakor pomembna naloga.

HMF nastaja tudi tekom procesov fermentacije in kuhanja, in sicer kot posledica dehidracije sladkorjev, kot sta fruktoza in glukoza (Basumallick in Rohrer 2001). V medu in drugi krmi za čebele nastaja pri visokih temperaturah in dolgotrajnem skladiščenju. (Smodiš Škerl 2013, Tosi in sod., 2001). Toplotna obdelava v veliki meri pripomore k zviševanju vsebnosti le-tega. Če toplotna obdelava ne presega meje $\sim 50^\circ\text{C}$, zviševanje stopnje HMF-a nad nevarno količino znotraj medu ne bo pospešeno, vendar lahko v primeru neustreznega postopka toplotne obdelave nastopijo negativne posledice, kot so fermentacija in slabša kakovost (Tosi in sod., 2001).

V svežem medu je HMF prisoten v majhnih količinah, običajno <15 mg HMF-a/kg medu (Basumallick in Rohrer 2001), najpogosteje v zanemarljivih količinah, in sicer od 0,06 do 0,2 mg/kg. Stopnja prisotnosti se začne zviševati pri temperaturah nad 20°C . Tekom poletnih mesecev temperature znotraj panja narastejo tudi do ali preko 40°C , s čimer se v tem času poveča tudi prisotnost HMF-a, ki se giblje nekje do 10 mg/kg medu.

Po podatkih iz literature raziskovalci opozarjajo, da je HMF za čebele toksičen. S poskusi v kletkah so ugotavljali, ali višje koncentracije HMF-a v hranilih za čebele povečujejo umrljivost čebel v primerjavi z nižjimi koncentracijami (Jachimowicz in El Sherbiny 1975, Prandin in sod. 2001, Le Blanc 2009, Ruiz-Matute in sod. 2010).

Maksimalno dovoljena količina prisotnega HMF-a v medu za prehrano ljudi (znotraj Evropske zveze) znaša do 40 mg HMF/kg medu. Trenutno ne obstaja predpis, ki bi določal mejno vrednost HMF-a v čebelji krmi, kot so pogače, sirupi ipd., ki bi predstavljala tveganje za preživetje čebel.

Delovna hipoteza in laboratorijske raziskave

Namen naše raziskave je bil preučiti vpliv različnih odmerkov HMF-a na življenjsko dobo avtohtone kranjske čebele *Apis mellifera carnica* (Pollmann 1879) v laboratorijskih pogojih. Zanimalo nas je, ali različno visoki odmerki HMF-a pripomorejo k hitrejšemu odmiranju čebel.

Tako smo postavili delovno hipotezo, da vsebnost HMF-a

v čebelji krmi pospeši odmiranje čebel in da posledično višja koncentracija HMF-a močnejše vpliva na odmiranje kakor nižja koncentracija. Delovna hipoteza se tako glasi: **z zviševanjem vsebnosti HMF-a v čebelji krmi se proporcionalno krajša življenjska doba čebel delavk v poskusnih kletkah.**

MATERIALI IN METODE DELA

Poskusi so potekali spomladi in poleti, leta 2013, in sicer na Kmetijskem inštitutu Slovenije (KIS) v Ljubljani, na oddelku za živinorejo. Za potrebe naših poskusov smo uporabili družine avtohtone kranjske čebele *Apis Mellifera carnica*. Razen čebel je bil za potrebe našega poskusa uporabljen inkubator z regulacijo temperature ($T=28\text{ }^{\circ}\text{C}$), vlažnost v inkubatorju smo vzdrževali na $\sim 65\%$ relativne vlage. Kletke, ki so bile uporabljene v poskusih, so bile improvizirane PVC škatle za CD (zgoščenke), višine $\sim 8\text{ cm}$, premera $\sim 12\text{ cm}$, z okrog 80 odprtini, premera okrog 2 mm , ki so zagotavljale zračenje notranjosti kletk. Še dve dodatni odprtini, premera 12 mm , sta bili predvideni za vstavljanje plastičnih epruvet. Ena je predstavljala napajalnik z vodo, v drugo epruveto smo dodali čebeljo krmo. Satno osnovo ($\sim 4 \times 5\text{ cm}$) smo vstavili pokončno znotraj posamezne kletke. Kot tesnilo smo uporabljali vato oz. peno. Sladkorno pogačo Apifonda (Nord Sugar, Nemčija) smo uporabljali za čebeljo krmo. Čebele v poskusu smo v inkubatorju vzdrževali v temi.

Priprava poskusa

Iz izbranih zdravih čebeljih družin smo dan pred poskusom odvzeli satje s pokrito zalego in ga prestavili v inkubator ($T = 34,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ in okrog 65% vlažnosti zraku). Naslednji dan so se izlegle mlade čebele delavke. V poskusu smo obravnavali naključno izbrane čebele delavke, stare do 24 ur, ki smo jih razvrstili v kletke, prilagojene laboratorijskim poskusom.

Za osnovno čebeljo hrano smo uporabili sladkorno pogačo Apifondo, ki je služila za krmo v netretirani kontrolni skupini, brez dodanega HMF-a. Skupine čebel, ki so bile tretirane, so prav tako za osnovno hrano dobile pogačo, ki smo ji dodali načrtovane odmerke HMF-a. Predvideni odmerki se nanašajo na 1 kilogram osnovne čebelje hrane. Za posamezne poskusne skupine smo zatehtali po 250 gramov pogače. Vsem skupinam razen kontrolni smo glede na predvidene odmerke dodali proporcionalno manj HMF-a. Tako pripravljeno krmo smo temeljito premešali s paličnim mešalnikom, da bi zagotovili homogenost krme. V plastične posodice smo dali ustrezno količino krme in jih vstavili v posamezne kletke. V kletke smo vstavili

plastične epruvete s čisto pitno vodo ad libitum. Dnevno smo spremljali količino in gostoto krme. Po prvem podajanju hranil čebelam smo preostanek krme skrbno hranili v hladilniku in jo po potrebi dopolnjevali. Dnevno smo spremljali tako zalogo hranil, kakor tudi njeno agregatno stanje. Preveč tekoča hranila bi lahko stekla po kletkah in posledično ovirala gibanje čebel. Po drugi strani preveč strnjena hrana ni lahko dostopna čebelam, da bi jo lahko zaužile. V takšnih primerih je bilo potrebno hrano zmehčati.

Poskusne čebele smo razvrstili v pet skupin, v vsaki izmed petih skupin smo zasnovali pet ponovitev. Vse kletke smo naselili z mladimi čebelami, starimi do 24 ur. Prvi skupini čebel smo ponudili pogačo brez dodatka HMF-a in jo opredelili za kontrolno skupino. V drugo in tretjo skupino smo v sladkorno pogačo dodali različni koncentraciji HMF-a, in sicer 100 mg/kg krme ter 1500 mg/kg krme (Apifonda). V vsako skupino krme smo dodali po 3 ml vode/kg. Vsakodnevno smo vodili evidenco in spremljali smrtnost čebel ter zaključili poskus, ko so odmrle zadnje čebele. Tekom trajanja poskusa smo čebelam po potrebi dodajali krmo in vodo, dnevno smo spremljali tudi višino temperature in vlažnost zraka v inkubatorju. Da bi zagotovili zadostno količino vlažnosti v zraku, smo na dno inkubatorja postavili pladenj s svežo vodo, h kateri smo dodali natrijev klorid, da bi stimulirali hitrejšo izhlapevanje vode oz. ustrezno vlažnost.

Preglednica 1: Zasnova poskusa. V poskusu so bile tri skupine čebel (od 1 do 3) v kletkah, glede na vrsto krme 1) kontrola, brez dodatka HMF, 2) 100 mg HMF/kg krme, 3) 1500 mg HMF/kg krme.

	Zasnova poskusa		
Oznaka skupine tretiranja	1	2	3
Št. kletk	5	5	5
Št. čebel na kletko	30	30	30
Odmerek HMF-a (v mg/kg krme)	kontrola	100	1500

Ponovitve poskusa

Da bi izključili morebitne naključne dejavnike, ki bi lahko vplivali na smrtnost čebel, smo poskus pod enakimi pogoji ponovili. Znova smo načrtovali tri skupine s petimi ponovitvami oz. kletkami in v posamezne kletke smo se odločili naseliti po 20 mladih čebel. Hrano, ki vsebuje različne koncentracije HMF-a, ki nam je preostala iz prvega poskusa, smo skrbno hranili v hladilniku in preostanek

uporabili tudi v drugem poskusu oz. ponovitvi. Razvrstitev skupin glede vsebnosti HMF-a ostaja nespremenjena oz. enaka kot v prvem poskusu. Spremljanje življenjske dobe, dodajanje krme ter vode je potekalo pod enakimi pogoji kot v prvem poskusu. Na novo smo naredili razpredelnico kot za prvi poskus in v njej vodili evidenco mrtvic v kletkah. Ponovitev poskusa je prav tako potekala do konca življenja zadnje naseljene čebele.

Drugo ponovitev prvega poskusa smo izvedli z namenom, da bi ugotovili dolgoživost poletnih čebel, starih 0–24 ur. Zasnova in postavitve poskusa sta potekali pod enakimi pogoji kot v prvem poskusu in njegovi ponovitvi. Vsaka skupina je vsebovala po pet ponovitev. Zasnova je potekala po naslednjem načrtu:

- I. Skupina: kontrolna (apifonda brez dodanega HMF-a)
- II. Skupina: 100 mg HMF/kg
- III. Skupina: 1500 mg HMF/kg

V vsako kletko je bilo naseljenih po dvajset čebel. Čebele so imele enak dostop do vode ter hranil kot v predhodnih poskusih. Hrano, v katero smo dodajali HMF, smo znova z ročnim mešalnikom temeljito premešali, da bi zagotovili homogenizirano maso. Dolgoživost čebel smo spremljali dnevno, in sicer na vsakih 24 ur do konca poskusa.

Statistična obdelava podatkov

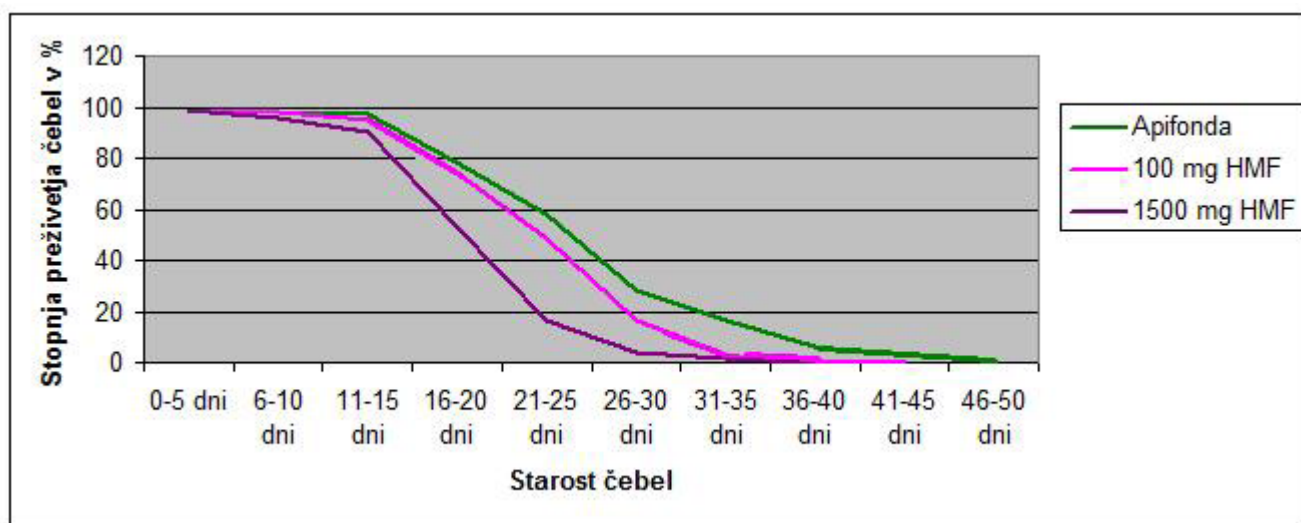
Pridobljene podatke smo vnesli v preglednice delovnega programa Microsoft Excel. Za računalniško obdelavo

podatkovnih baz smo uporabili program za statistično obdelavo podatkov IBM SPSS 23.0 za programsko okolje Windows 10. Izračun srednjih vrednosti povprečnih parametrov smo primerjali med posameznimi obravnavanji, in sicer s pomočjo analize variance (One way ANOVA). S Tukey-evim HSD testom so bile testirane variabilne spremenljivke proučevanih srednjih vrednosti.

Statistično značilne razlike posameznih parametrov med različnimi obravnavanji so bile $P < 0,05$; statistično neznačilne razlike pa pri $P \geq 0,05$, oz. pri 5 % stopnji tveganja.

REZULTATI Z RAZPRAVO

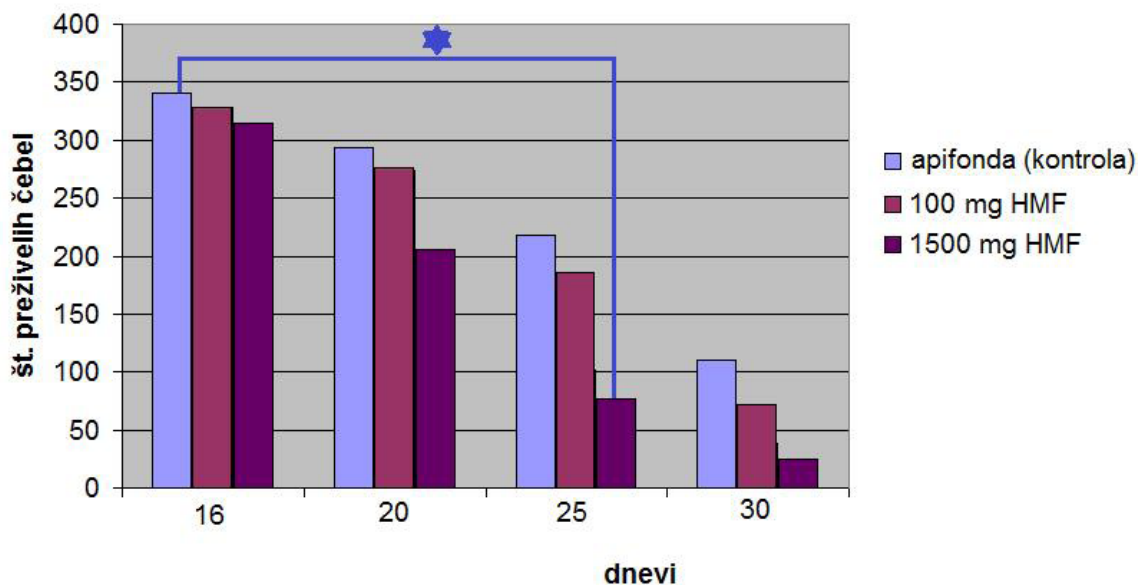
Na dnevni ravni smo spremljali odmiranje poskusnih čebel, izpostavljenih različnim koncentracijam HMF-a. V prvi skupini so kontrolne čebele zauživale le apifondo, preostali skupini čebel pa so bile izpostavljene odmerkom 100 in 1500 mg HMF-a/kg apifonde. Temeljito premešano hrano smo ponudili čebelam in spremljali njihovo življenjsko dobo. Število mrtvic vsake skupine smo beležili na 24 ur ob približno enakem času. Vsaka skupina je štela po pet kletk, posamezna kletka pa je v prvi zasnovi vsebovala po 30 čebel, v ponovitvah pa po 20 čebel. Podatke smo prenesli v razpredelnico delovnega programa Microsoft Excel. Na podlagi pridobljenih podatkov smo oblikovali Grafikon 1, ki prikazuje kumulativno preživetje čebel v posamičnih skupinah za časovno obdobje dni, in sicer od začetka do konca poskusa.



Grafikon 1: Preživetje čebel (v odstotkih), izraženo v 5-dnevnih intervalih. Pri poskusu so bile čebele v kletkah razdeljene v 3 skupine (po 5 ponovitev na skupino) in so dobile sladkorno pogačo Apifonda z dodanimi različnimi odmerki HMF-a. Prva skupina čebel (kontrola) je prejela samo pogačo, druga skupina pogačo s 100 mg/kg HMF-a in tretja 1500 mg/kg HMF-a. Vrednosti odmerkov HMF-a so izražene v miligramih na 1 kilogram pogače apifonde (Apifonda®).

Potencialni vzrok za večjo izgubo čebeljih družin predstavlja prisotnost HMF-a v čebelji krmi (LeBlanc in sod., 2009, van der Zee in Pisa, 2010). V naši raziskavi smo potrdili povečano odmiranje posameznih čebel v kletkah, kar prikazuje Grafikon 1. Razvidno je, da je prvih 15 dni preživel več kot 90 % čebel iz vseh skupin. Po 25 dnevih je ostalo manj kot 30 % čebel iz vseh skupin. Največja stopnja odmiranja je v vseh skupinah tako potekala med

15 in 20 dnevom. Sicer razlike v stopnji odmiranja med posameznimi skupinami niso velike, vendar je iz Grafikona 1 moč opaziti, da se ob višjem odmerku HMF-a v hranilu življenjska doba čebel krajša. Pri preverjanju značilnosti odstopanj med posameznimi skupinami smo z analizo varijance (ANOVA) ugotovili, da obstajajo statistično značilne razlike med kontrolno skupino in skupino z najvišjim odmerkom, kar prikazuje Grafikon 2.



Grafikon 2: Število preživelih čebel pri 16, 20, 25 in 30 dnevni starosti. Zvezdica prikazuje statistično značilno razliko v obdobju med 16. in 25. dnem (kontrolna skupina in skupina s 1500 mg HMF-a/kg hrane, Tukey, $p=0,029$).

ZAKLJUČKI

Ugotovili smo, da pri mladih delavkah, in sicer t. i. spomladanskih čebelah, obstaja razlika v trajanju življenjske dobe ob zaužitju krmila z visoko vsebnostjo HMF-a, in sicer z zviševanjem dodanega odmerka HMF-a v krmi se čebelam krajša življenjska doba. Pri poletnih čebelah se je prav tako izkazalo, da je prisotnost HMF-a vplivala na krajšanje življenjske dobe le-teh. Čeprav razlike v hitrosti odmiranja med posameznimi odmerki niso velike, so vendarle očitne in nakazujejo, da se z zviševanjem prisotnosti

HMF-a v hranilu krajša življenjska doba čebel. Začetek odmiranja čebel se ne pokaže nemudoma, prav tako odmiranje ni ekstremno pri najvišjem odmerku, ki smo ga uporabili v tej raziskavi. Zaradi omenjenega sklepamo, da HMF postopno »tiho mori« posamezne čebele. Ta pojav ima v čebelji družini pomembne posledice in bi ga bilo smotrno natančneje raziskati. Z ugotovitvijo negativnega vpliva HMF-a potrjujemo našo delovno hipotezo.

ZAHVALA

Zahvaliti bi se želela mojemu mentorju red. prof. dr. Alešu Gregorcu kot odličnemu strokovnjaku in osebi, za vso strokovno pomoč, mnenja in napotke in vsekakor za ves trud, posvečen čas, potrpežljivost ter znanje ki sem ga pridobila tekom izvajanja poskusov.

Hvala tudi oddelku za živinorejo kmetijskega inštituta Slovenije, ker so mi omogočili uporabo svojih prostorov za izvedbo praktičnega dela poskusov. Zahvala je vsekakor

namenjena tudi zaposlenim in sodelujočim na živinorejskem oddelku, ki so mi nesebično pomagali: Mitji Nakrst s čigavo pomočjo je izvedba praktičnih del poskusov bila lažja in bolj razumljiva, mladima doktoricama Maji Ivani Smodiš Škerl ter Mateji Soklič za vso strokovno pomoč, Davidu Kozamerniku in Sanji Filipović Čugura za tehnično pomoč ter številnim drugim neomenjenim ampak vsekakor pomembnim osebam.

LITERATURA

- Basumallick, L. in Rohrer, J. 2001. Determination of Hydroxymethylfurfural in Honey and Biomass. Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, CA, USA. (elektronski vir) http://www.dionex.com/en-us/webdocs/109807-AN270-IC-HMF-Honey-Biomass-AN70488_E.pdf (7. maj 2013).
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2009. FAOSTAT. (elektronski vir) <http://faostat.fao.org/> 16. februar 2014.
- Gallai, N. in Salles, J. in Settele, J. in Vaissiere, B. E. 2009. Economic evaluation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68: 810–21.
- Jachimowicz, T. in El Sherbiny, G. 1975. Zur Problematik der Verwendung von Invertzucker für die Bienenfütterung, *Apidologie* 6: 121–143.
- Kandolf, A. 2011. Analize medu. Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje (2). Ljubljana, Čebelarska zveza Slovenije.
- Klein, A. in Weisser, B. E. in Cane, J. H. in Steffan-Dewenter, I. in Cunningham, S. A. in Kremen, C. in Tscharntke, T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*, 274: 303–313.
- LeBlanc, B. W. in Eggleston, G. in Sammataro, D. in Cornett, C. in Dufault, R. in Deeby, T. in Cyr Sr., E. 2009. Formation of Hydroxymethylfurfural in Domestic High-Fructose Corn Syrup and its Toxicity to the Honey Bee (*Apis mellifera*) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Prandin, L. in Dainese, N. in Girardi, B. in Damolin, O. in Piro, R. in Mutinelli, F. 2001. A scientific note on long-term stability of a home-made oxalic acid water sugar solution for controlling varroosis. *Apidologie* 32: 451–452.
- Rugolja, D. 2009. Kemijske, fizikalne i senorske značajke meda. Pčelinjak, Udruga pčelara neposrednih proizvođača. (elektronski vir) <http://www.pcelinjak.hr/OLD/index.php/Prehrana-i-biotehnologija/kemijske-fizikalne-i-senzorske-znaajke-med.html> (8. junij 2013).
- Ruiz-Matute, A. I. in Weiss, M. in Sammataro, D. in Finely, J. in Luz Sanz, M. 2010. Carbohydrate composition of high-fructose corn syrups (HFCS) used for bee feeding: effect on honey composition. *Journal of Agricultural food chemistry* 58: 7317–7322.
- Smodiš Škerl, M. I. 2013. Vpliv kakovosti prehrane na dolgoživost čebel in vitalnost čebeljih družin. Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za živinorejo, Čebelarstvo (elektronski vir) http://www.mkgp.gov.si/fileadmin/mkgp.gov.si/pageuploads/podrocja/Rejne_zivali/Cebele/vpliv_kakovosti_prehrane_cebel_porocilo_2013.pdf (11. september 2013).
- Tautz, J. 2008. The buzz about bees. Springer-Verlag, Berlin: 284.
- Tosi, E. in Ciappini, M. in Ré, E. in Lucero, H. 2001. Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry*, 77: 71–74.
- Van der Zee, R. in Pisa, L. 2010. Bijensterfte 2009-10 en toxische invertsuikersiroop. Nederlands Centrum Bijenonderzoek.
- Zdešar, P. in Gregori, J. in Gregorc, A. in Božnar M. in Meglič M. 2011. Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje. Čebelarska zveza Slovenije, Brdo pri Lukovici: 96