

SPREMLJANJE KAKOVOSTI ČEBELJIH MATIC V VZREJALIŠČIH V SLOVENIJI IN POSTAVITEV KRITERIJEV ZA CERTIFICIRANJE MATIC

Maja Ivana SMODIŠ ŠKERL¹, Aleš GREGORC², Janez PREŠERN³, Ivana TLAK-GAJGER⁴

Izvleček

V naši raziskavi smo preiskovali kakovost opršenih matic na podlagi morfoloških in fizioloških značilnosti. Matice so bile vzrejene na posameznem vzrejališču in so izhajale iz selekcioniranih matičarjev. Skupaj smo vzorčili in analizirali 324 matic iz 27 vzrejališč v letu 2006, 288 matic iz 24 vzrejališč v letu 2008, 276 matic iz 23 vzrejališč v letu 2010 in 150 matic iz 30 vzrejališč v letu 2016. Matice iz posameznih čebeljakov smo stehali in izmerili premer oprsja ter dolžino zadka. Pri vseh maticah smo določali prisotnost spor *Nosema* spp. in jih preiskali na prisotnost štirih virusov: virus akutne paralize čebel (ABPV), virus črnih matičnikov (BQCV), virus deformiranih kril (DWV) in virus meščkaste zalege (SBV). Največja povprečna masa telesa matic je bila v letu 2016 ($210,38 \pm 19,70$ mg). Povprečno število spermijev pri maticah je bilo med $3,30 \times 10^6$ v letu 2006 do $5,23 \times 10^6$ v 2010. Spore *Nosema* spp. smo pri posameznih maticah potrdili v letih 2008 (3,4 %), 2010 (1,8 %) in 2016 (15,4 %). Virusi so se pri maticah posamično pojavljali v vsem obdobju izvajanja preiskave. Študija potrjuje pomen rednega ocenjevanja morfoloških in fizioloških lastnosti matic v vzrejališčih ter spremljanja pojavljanja patogenih organizmov. Rezultate večletnega spremljanja kakovosti matic smo obravnavali kot osnovo za postavitev kriterijev certificiranja vzrejenih čebeljih matic (*Apis mellifera carnica*, Polmann, 1879).

Ključne besede: čebelje matice / *Apis mellifera carnica* / morfologija / virusi / *Nosema* spp. / certificiranje

SURVEY ON QUALITY OF HONEY BEE QUEENS IN BREEDING STATIONS IN SLOVENIA AND ESTABLISHMENT OF STANDARDS FOR QUEENS

Abstract

In our study, we examined the quality of mated queens based on morphological and physiology traits. At each location, sister queen bees were reared from one *Apis mellifera carnica* breeder queen. Queens were also reared and mated in different locations. Altogether, we sampled and analyzed 324 queens from 27 apiaries in 2006, 288 queens from 24 apiaries in 2008, 276 queens from 23 apiaries in 2010, and 150 queens in 2016. Queens from each apiary were weighted, thorax and abdomen were measured, queens were analysed on spores *Nosema* spp. and tested for viruses: acute bee

¹ Dr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, SI-1001 Ljubljana, Slovenija

² Red.prof.dr., Mississippi State University, Starkville, MS, United States

³ Dr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, SI-1001 Ljubljana, Slovenija

⁴ Izr.prof.dr., Sveučilište u Zagrebu Veterinarski fakultet, Heinzelova 55, 10 000 Zagreb, Hrvatska

paralysis virus (ABPV), black queen cell virus (BQCV), deformed wing virus (DWV), and sackbrood virus (SBV). The highest average queen weight of 210 ± 19.70 mg was detected in 2016. The average number of spermatozoa in queens ranged from 3.30×10^6 in 2006 to 5.23×10^6 in 2010. *Nosema* spp. spores were found in queens sampled in 2008 (3.4%), 2010 (1.8%) and 2016 (15.4%). Viruses were discovered sporadically during the queen testing periods. This study importantly demonstrates that queens from rearing stations require regular evaluation for morphological and physiological changes as well as for infection from harmful pathogens. Based on the results, the relevant commercial standards for rearing quality honey bee queens (*Apis mellifera carnica*, Polmann 1879) were established.

Key words: honey bee queens / *Apis mellifera carnica* / morphology / viruses / *Nosema* spp. / certification

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. Vsak vzrejevalec ima delno prilagojeno metodo vzreje. Ima tudi določene izkušnje, ki omogočajo rutinsko izvajanje dejavnosti. Biološke osnove razvoja matic so določene in je zato potrebno pri vzreji upoštevati tudi znanstvena dognanja na tem področju (Laidlaw, 1992). 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 matic je cilj slehernega čebelarja vzrejevalca. Ker v Sloveniji čebelarimo z avtohtono čebeljo raso, ki ima izredne lastnosti, ki jih želimo ohraniti, 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.

Kriterij kakovostne matice ni popolnoma definiran, kljub poznavanju karakteristik, ki jih take matice morajo izražati v vsaki gospodarski družini. Zato v svetu potekajo številni poskusi določiti dejavnike, ki vplivajo na razvoj rodovitne matice in posledično produktivne družine. Tudi v Sloveniji smo v preteklih letih spremljali vzrejene matice in določali njihove lastnosti. Rezultati raziskav so bili objavljeni v številnih publikacijah doma in v tujini. Vzrejevalci so dobili uporaben pregled stanja njihovega vzrejenega plemenskega materiala v obdobjih preiskav, seznanili pa so se tudi z možnostmi, kako izboljševati lastnosti vzrejenega materiala. Tudi vsi čebelarji, ki so potencialni uporabniki teh matic, so se s problematiko matic dobro seznanili. V strokovnih čebelarskih krogih se s tem v zvezi vedno pojavljajo tudi različna z maticami povezana vprašanja, kot je dodajanje matic v čebeljo družino, oskrbe matic in družine ter dolgoživosti matic. Vsa odprta vprašanja s tega področja seveda niso rešena in jih bo za trenutne tehnološke, pašne in druge okoliščine vedno potrebno ustrezno raziskovati in rezultate prenašati v prakso.

Reprodukcijsko sposobnost matic v veliki meri določa masa matic, ovarijev (jajčnikov), število ovariol (jajčnih cevčic) v ovarijih (Woyke, 1971). Pri ličinkah, starih do 3 dni, je število ovariol enotno, ne glede na razvoj v delavko ali matico (Hartfelder in Steinbruck, 1997). Neposredni vpliv na število razvitih ovariol v ovariju pri čebeli še vedno ni znan (Capella in Hartfelder, 2002). Na nekatere morfološke lastnosti matic, ki so na trgu, nedvomno lahko vplivajo čebelarji v postopku vzreje matic. Med drugim ima presajanja ličink, ki je tehnološko opravilo v

začetku vzreje, velik vpliv na razvoj matic. Predvsem je pomembna starost ličink ob presajanju. Vzrejevalci matic v postopkih vzreje uporabljajo različne materiale. Že v samem začetku je možna raba voščenih ali plastičnih matičnih lončkov, v katere presajajo vzrejno gradivo, ter vzdrževanje vzrejnega gradiva v starterju in redniku. Prav tako je pomemben prehranski vidik vzreje, ki vključuje oskrbo vseh tipov družin v postopku vzreje. V preteklem obdobju smo v našem oddelku proučevali vpliv velikosti plemenilnika na uspešnost plemenitve in kakovost matic. Tudi sam način dodajanja matičnikov ali neoprašenih matic v plemenilnike, izleganje matic, odvzemanje matic iz plemenilnika, skladiščenje matic so opravila, ki so različno pogosto uporabljena v vzrejališčih. Vzrejevalci morajo pogosto oprasene matice shranjevati daljši čas do prodaje. Ugotovljeno je, da pri pravilnem skladiščenju matic, premor med oprasitvijo in vstavitvijo matice v družino nima negativnega vpliva na vitalnost in reprodukcijsko sposobnost matice (Levinsohn in Lensky, 1981; Gencer, 2003). Matice med shranjevanjem, v daljši neaktivnosti izgubijo na teži, po vstavitvi v živalno družino pa se ovariji ponovno aktivirajo (Shehata, 1982). Prehranski vidik ima zelo pomembno vlogo pri vzreji matic, predvsem cvetni prah, ki predstavlja beljakovinsko osnovo zarodu in matici. Matice, vzrejene med kostonjevo pašo ali v času cvetenja oljne ogrščice, so po izkušnjah čebelarjev najrodovitnejše. V brez pašnem obdobju čebelarji vzrejajo matice ob dodatku sladkorne raztopine, pogosto pa čebelarji dodajajo tudi cvetni prah kot vir beljakovin.

V letu 2016 smo proučili do sedaj opravljene meritve in raziskave kakovosti matic. Spremljali smo nekatere morfološke in fiziološke lastnosti ter zdravstveno stanje matic vzrejenih v odobrenih vzrejališčih. Postavili smo kriterije kvalitetno vzrejene matice z upoštevanjem do sedaj opravljenih raziskav. Na osnovi postavljenih kriterijev smo čebelje matice, pridobljene v vzrejališčih v Sloveniji, certificirali.

MATERIAL IN METODE

Vzorčenje matic

Matice so izvirale iz različnih statističnih regij v Sloveniji: Gorenjska, Goriška, Jugovzhodna, Obalno-Kraška, Osrednjeslovenska, Podravska, Pomurska, Savinjska in Zasavska regija. V tabeli 1 je seznam vzrejališč, iz katerih so v letošnjem letu izvirale matice. Skupno smo ocenili 1038 matic: 324 matic iz 27 vzrejališč v 2006, 288 matic iz 24 vzrejališč v 2008, 276 matic iz 23 vzrejališč v 2010 in 150 matic iz 30 vzrejališč v 2016. V letu 2016 smo pregledali po 5 matic iz posameznega vzrejališča v terminu od 8. do 23. junija. Vzorčene matice iz istega vzrejališča so izvirale

od istega matičarja. Po opravljenih meritvah smo matice poslali pogodbenim čebelarjem v testiranje.

Tabela 1. Seznam vzrejališč v letu 2016.

Št. vzrejevalca	PRIIMEK IN IME	POŠTA
1	Andrejč Jožef	9251 Tišina
2	Bali Robert	2324 Lovrenc na Dr. Polju
3	Bokal Krištof	4220 Škofja Loka
4	Bukovšek Janko	4000 Kranj
5	Bukovšek Štefan	1215 Medvode
6	Debevec Marko	1360 Vrhnika
7	Donko Bojan	9220 Lendava
8	Dremelj Janez	1275 Šmartno pri Litiji
9	Gaber Viktor	3202 Ljubecna
10	Grm Darko	1273 Dole pri Litiji
11	Herbaj Jožef	9224 Turnišče
12	Jug Vasja	5242 Grahovo ob Bači
13	Kapun Maršik Jožefa	9201 Puconci
14	Kavaš Milena	9233 Odranci
15	Kelemen Zoltan	9206 Križevci v Prekmurju
16	Kolar Peter	2323 Ptujška Gora
17	Koštomaj Matija	3224 Dobje pri Planini
18	Kovačević Ivana	3224 Dobje pri Planini
19	Lešek Venčeslav	3270 Laško
20	Luznar Henrik	4275 Begunje na Gorenjskem
21	Nakrst Mitja	1233 Dob
22	Petelin Irma	6221 Dutovlje
23	Pokorni Julij	2211 Pesnica
24	Potisek Jožef	1274 Šmartno pri Litiji
25	Starovasnik Milan	1218 Komenda
26	Tomažič Matevž	2310 Slovenska Bistrica
27	Tratnjek Jožef	9232 Črenšovci
28	Vidovič Jože	2324 Lovrenc na Dr. Polju
29	Vozelj Ladislav	1275 Šmartno pri Litiji
30	Zaletelj Henrik	1303 Zagradec

V letih 2006, 2008 in 2010 smo vzorčili po 12 matic iz posameznega vzrejališča. Vzorčene matice so izvirale od istega matičarja in so se prosto prašile s troti na plemenišču posameznega vzrejališča. Pri devetih maticah od skupno 12 iz posameznega vzrejališča smo v laboratoriju pod ste-

reomikroskopom izvedli morfološke analize. Preostale tri matice smo preiskali na prisotnost štirih virusov: ABPV (Acut Bee Paralysis Virus – virus akutne paralize čebel), BQCV (Black Queen Cell Virus – virus črnih matičnikov), DWV (Deformed Wing Virus – virus deformiranih kril) in SBV (Sack Brood Virus – virus meščkaste zalege).

Morfološke lastnosti

Matice iz 2016 smo pridobili iz 30 odobrenih vzrejališč v Sloveniji. Po prejemu matic v matičnicah (slika 1A) smo od vsakega vzrejevalca ocenili po pet matic tako, da smo zabeležili podatke na matičnicah (rodovniška številka, številka matice), vrsto matičnice in število čebel spremljevalk. Nadalje smo uspravili matico in delavke spremljevalke s ogljikovim dioksidom, odprli pokrov matičnice, s pinceto previdno položili matico na analitsko tehtnico (Mettler Toledo) in zabeležili vrednost telesne mase (slika 1B).



Slika 1. A - Matice v matičnicah. B - Priprava matic na tehtanje.

Matico smo takoj po tehtanju nežno preložili v manjšo petrijevko in naredili fotografijo zadka in oprsja s stereomikroskopom in kamero (Zeiss). Meritve oprsja in zadka matic smo obdelali v programu AxioVision 4.6. V letih 2006, 2008 in 2010 smo izvedli tehtanje, meritve volumna spermateke, določali število spermijev in ovariol. Matice smo v laboratoriju najprej uspavali z ogljikovim dioksidom, jih stehali z analitsko tehtnico (Mettler Toledo) in takoj zatem žrtvovali. Srednje črevo smo odstranili in shranili v epico na -20°C do nadaljnjih analiz. Odstranili smo spermateko in jo fotografirali s pomočjo stereomikroskopa in kamero (Zeiss). S programom AxioVision 4.6 (Zeiss) smo izmerili premer ter izračunali volumen. Število spermijev smo določili z Bürkerjevim hemocitometrom, kjer smo prešteli 80 polj pod 400-kratno povečavo s fazno kontrastnim mikroskopom.

Ovarije smo izločili iz telesa matice in jih stehali. Tki vo smo pripravili za histološke analize. Histološke vzorce smo analizirali s svetlobnim mikroskopom in s pomočjo programa AxioVision 4.6 prešteli število ovariol v posameznem ovariju. Izračunali smo povprečne vrednosti števila ovariol glede na posamezno leto vzorčenja (2006, 2008 in 2010).

Kvantifikacija 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. Delavke v matičnici smo ponovno za kratek čas uspavali z ogljikovim dioksidom in v matičnico nežno vrnili matico. Delavke z matico smo še nekaj časa opazovali in se prepričali, da so ostale žive in aktivne. V posameznem letu (2006, 2008, 2010) smo pri maticah analizirali srednje črevo (po Cantwellu, 1970). Prisotne spore smo kvantificirali z Bürkerjevim hemocitometrom.

Nadalje smo izvedli molekularno determinacijo in diferenciacijo med sporami *Nosema apis* in *N. ceranae* v 100 μL raztopine suspenzije.

Pri maticah iz leta 2016 smo analizirali iztrebke. Petrijevko s posamezno matico smo označili, odložili na belo podlago in pustili nekaj minut, da se je matica iztrebila. Označili smo področje iztrebka na petrijevki in vzorce shranili na -20°C do nadaljnjih analiz.

Za določanje virusnih nukleinskih kislin v vzorcu (matice, iztrebki) smo uporabili polimerazno verižno reakcijo

(PCR). V letu 2016 smo na viruse analizirali 30 skupnih vzorcev iztrebkov matic. V preteklih letih smo analizirali celotno telo matic: v 2006 81 matic, v 2008 je bilo v analize vključenih 72 matic in v 2010 69 matic.

Transportna matičnica

Po prejemu matic v matičnicah smo ocenjevali po pet matic matice od vsakega vzrejevalca. Zabeležili smo podatke na matičnicah (rodovniška številka, številka matice), vrsto matičnice in število čebel spremljevalk ter morebitne odmrle čebele (in matice).

Statistična obdelava podatkov

Povprečne vrednosti mase matic in ovarijev ter število spermijev smo primerjali med maticami, vzrejališči in leti vzorčenja z enosmerno analizo variance (ANOVA). S Pearsonovo korelacijo rangov smo merili jakost povezave ($\alpha = 0,05$) med maso matic, maso ovarijev in številom ovariol. V primeru statistično značilnih vplivov smo razlike med številom spermijev in volumnom spermateke testirali s testom po Scheffe-ju. Rezultate smo statistično obdelali s pomočjo računalniških programov Microsoft Excel in Statgraphic Plus (1996).

REZULTATI

Morfološke in fiziološke meritve matic

V 2016 je bilo vključenih v testiranje 150 matic. Po posameznem vzrejališču smo tehtali po pet matic in izračunali povprečne vrednosti po vzrejališču (tabela 2). Največjo povprečno maso 247,12 mg in najmanjšo 156,36 mg so imele matice iz Osrednjeslovenske statistične regije. V povprečju so bile najnižje vrednosti mase matic 194,4 mg in najvišje 226,31 mg. Večina matic, ki so izvirale iz 25 vzrejališč, je imela povprečno maso nad 200 mg.

Tabela 2. Vrednosti telesne mase matic za posamezno vzrejališče v letu 2016.

Št. vzrejevalca	Povprečna vrednost (mg)	$\pm SD$	Min	Max
10	247,12	13,38	224,70	257,90
5	226,70	3,77	223,90	231,00
21	224,44	7,97	216,60	234,40
3	223,86	8,71	216,10	238,10
29	222,10	13,05	203,50	240,10
20	221,04	15,23	202,00	237,90

Št. vzrejevalca	Povprečna vrednost (mg)	$\pm SD$	Min	Max
16	221,02	10,47	211,10	237,60
25	220,52	9,15	208,00	229,50
1	216,21	8,11	205,77	226,60
9	216,20	11,55	205,90	231,70
30	215,96	9,32	208,20	230,50
2	213,50	25,36	186,00	239,10
11	211,90	20,47	180,40	231,80
23	211,16	10,46	201,10	223,30
14	210,94	12,78	196,80	231,80
8	210,26	12,75	195,20	224,80
28	210,04	8,44	201,40	201,40
15	208,48	32,45	167,00	256,40
17	207,08	19,39	179,70	225,70
13	207,06	21,77	180,00	238,10
24	206,60	5,16	197,60	210,70
26	203,88	14,94	185,00	216,40
18	203,84	14,58	188,90	223,60
7	203,60	9,09	190,80	216,10
22	200,60	19,01	180,80	227,60
12	199,14	9,21	189,90	212,70
27	197,70	9,07	185,90	206,40
19	197,34	6,25	188,70	206,10
4	196,84	11,84	180,80	211,80
6	156,36	22,71	130,10	190,20
POVPREČJE	210,38	6,48	194,40	226,31

*koeficient variabilnosti

V letu 2016 smo izvedli meritve dolžine in širine zadka ter širine oprsja pri maticah. Rezultati meritev kažejo, da je povprečna dolžina zadka matic 10,84 mm, širina 4,94 mm in povprečna širina oprsja 4,84 mm. Med maso telesa in izmerjeno vrednostjo dolžine zadka matic smo ugotovili povezavo ($r = 0,3913$, $p < 0,0001$), prav tako med maso in širino zadka ($r = 0,4024$, $p < 0,001$) in maso ter širino oprsja ($r = 0,4001$, $p < 0,0001$).

Masa matic in ovarijev in število ovariol

Rezultati meritev preteklih let so prikazani v spodnji tabeli (3). Največja povprečna masa matic je bila zabeležena v letu 2008 in največja masa ovarijev v letu 2010. Razmerje med maso matic in maso ovarijev v vseh treh letih znašala 2,98, 2,86, in 2,56.

Največji delež mase ovarijev pri posamezni matici v primerjavi s povprečjem je bil 44,42 odstotkov in najnižji 26,63 odstotkov. Največje in najnižje razmerje med maso

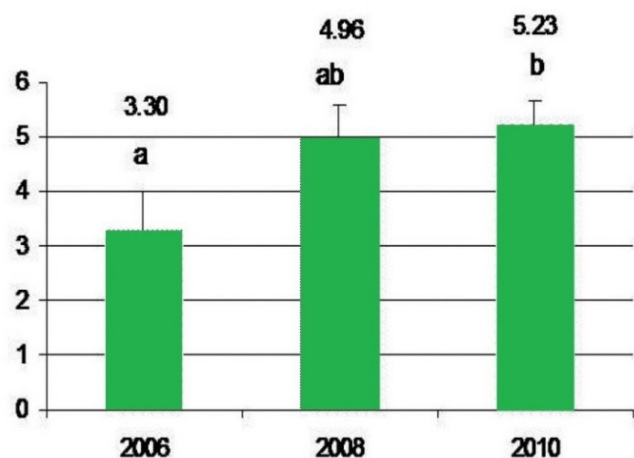
ovarijev in maso matic se je pojavilo v letu 2006 (38,97 %) in 2010 (33,49 %). Ugotovili smo, da je masa matic v korelaciji z maso ovarijev ($r = 0,5243$, $p < 0,001$) in da je masa ovarijev v šibki korelaciji s številom ovariol pri vseh testiranih maticah ($r = 0,2641$, $p < 0,05$). Med maso matic in številom ovariol nismo zaznali korelacije ($r = 0,0384$), prav tako ni bilo korelacije med maso matic in številom spermijev v spermateki ($r = 0,0568$, $p > 0,05$).

Tabela 3. Povprečna masa matic, ovarijev, število ovariol ($\pm$ standardni odklon, SD). Enake črke prikazujejo statistično neznačilne razlike med leti testiranja po Scheffe-ju ($P < 0,05$).

Leto	Masa matic (mg)	Masa ovarijev (mg)	Št. ovariol (mg)
2006	208,40 $\pm$ 15,31a	69,82 $\pm$ 11,08a	161,59 $\pm$ 8,70a
2008	209,49 $\pm$ 9,82ab	73,05 $\pm$ 9,82a	149,09 $\pm$ 7,96a
2010	201,83 $\pm$ 15,85c	78,67 $\pm$ 11,86a	135,02 $\pm$ 10,51a

Število semenčic

Število spermijev je v letu 2006 variiralo med 8×10^5 in $6,01 \times 10^6$, in v letu 2008 med $3,34 \times 10^6$ in $6,69 \times 10^6$. Rezultati meritev volumna spermatek so se gibali med 0,75 in 1,09 mm³. Na sliki 3 je prikazano triletno obdobje s povprečnim številom spermijev v spermateki matic, ki so jih vzredili vzrejevalci. Povprečni volumen spermatek je znašal 0,89 ($\pm 0,10$) mm³ pri maticah, ki so bile v testu v 2008, in 0,87 ($\pm 0,10$) mm³ pri maticah iz leta 2010, med letoma nismo zaznali razlik ($P > 0,05$).

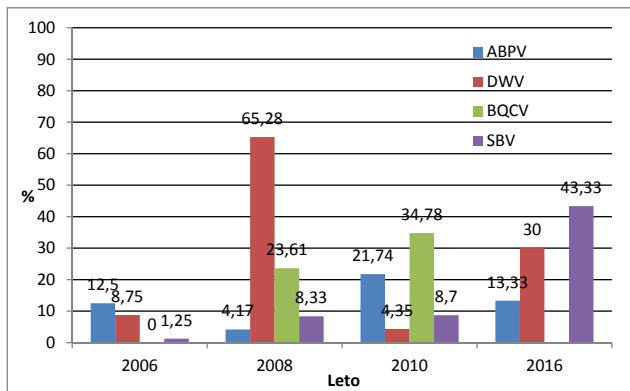


Slika 3. Povprečno število spermijev $\times 10^6$ v triletnem obdobju: 2006, 2008, in 2010. Enake črke prikazujejo statistično neznačilne razlike med leti po Scheffe testu ($P < 0,05$).

Prisotnost patogenih organizmov (*Nosema* spp., virusi)

Največ spor *Nosema* spp. smo potrdili v letu 2016 (15,4 %), nato pri 3,4 odstotkih matic v letu 2008 in 1,8 odstotkov je bilo pozitivnih v 2010. V preteklih letih smo z molekularno analizo potrdili prisotnost spor *N. ceranae* pri vseh testiranih maticah.

Pojavljane testiranih virusov pri maticah iz vzrejnih čebelnjakov je prikazano na spodnji sliki 6. Največji odstotek pozitivnih matic (65,28 %) na virus deformiranih kril (DWV) je bil v letu 2008, nadalje je bilo 43,33 odstotkov vzorcev pozitivnih na virus mešičkaste zalege (SBV) in 34,78 odstotkov pozitivnih na virus črnih matičnikov (BQCV). Virusa ABPV in DWV sta se pojavljala neenakomerno v obravnavanem obdobju. Odstotek matic, ki so bile pozitivne na BQCV in SBV, se z leti povečuje (BQCV v letu 2016 nismo obravnavali) od popolnoma negativnih vzorcev v letu 2006 do 34,78 odstotkov v 2010, in pojavljanje SBV narašča od začetne 1,25-odstotne okužbe v 2006 na 43,33 odstotkov v 2016 (slika 4).



Slika 4. Odstotek matic, ki so bile okužene z virusi (ABPV - acute bee paralysis virus; BQCV - black queen cell virus; SBV - sacbrood virus; DWV - deformed wing virus). V letu 2006 je bilo preiskanih 81 matic iz 27 vzrejališč; v 2008 72 matic iz 24 vzrejališč, v 2010 69 matic iz 23 vzrejališč in v 2016 je bilo skupno analiziranih 150 matic (skupni vzorec po 5 iztrebkov matic iz istega vzrejališča) iz 30 čebelnjakov.

Transport matic

Vzrejevalci uporabljajo dve vrsti PVC matičnic. Razlika med njima je v predvsem v dveh kanalih, kjer se vstavi košček pogače in kjer delavke v panju pojedjo pogačo v matičnici in tako sprostijo pot do matice, ki je v matičnici. Vzrejevalci v večini (63,3 %) uporabljajo bele PVC transportne matičnice. V povprečju vstavijo po 6,8 čebel spremljevalk, najmanj 4 in največ 12.

RAZPRAVA

Na maso matic ima velik vpliv starost ličinke pri presajanju v matične lončke, genetski dejavniki in v večji meri tudi zunanji dejavniki, kot so kakovost in količina paše ter vremenski pogoji (Woyke, 1971; Weiss, 1974; Meyer, 1975; Skowronek in sod., 2004; Büchler in sod., 2013). Nosemavost je kronična bolezen čebelje družine in je v čebelji populaciji razširjena tako v Sloveniji, kakor tudi drugod po svetu (Klee in sod. 2007, Chen in sod. 2008, Williams in sod. 2008, Tapaszti in sod. 2009, Nabian in sod. 2011). Chen s sodelavci (2005) in Roy in Kryger (2012) sicer poročata, da se splošno zdravstveno stanje in masa matic pri manjšem pojavu okužb z *Nosema* spp. in virusi znatno ne spreminja.

Metode vzreje se razlikujejo od vzrejališča do vzrejališča, spreminjajo se od leta do leta, kar bi lahko imelo veliko večji vpliv na kakovost matic. Že Woyke (1971) in Ruttner (1983) sta poročala, da je število ovariol v povezavi s starostjo ličinke v lasu presajanja. Matice iz 24 ur starih ličink imajo v povprečju 154 ovariol, medtem ko imajo starejše ličinke (48 ur) kot matice 146 ovariol in iz ličink, ki so jih presajali pri starosti 3 dni, so imele matice le 136 ovariol. Kakovostna matica mora imeti okrog 150 ovariol (Ruttner, 1983; Carreck in sod., 2013). Pri kranjski čebeli (*Apis mellifera carnica*) se število ovariol pri kakovostni matici giblje med 145 in 160 (Hatjina in sod., 2014).

V naših raziskavah skozi leta smo ugotovili, da so imele pregledane matice višje vrednosti od priporočenega števila ovariol, vendar je vrednost v obdobju od 2006 (161 ovariol) do 2010 (135 ovariol) nekoliko padala. V splošnem pogledu so imele matice v povprečju 149 ovariol, kar nakazuje zelo dobro kakovost matic, ki so bile vzrejene v slovenskih vzrejališčih. Kakovost matic se poleg reprodukcijskega potenciala izraža tudi v uspešnosti oprašitve. Uspešno oprašena matica ima v spermateki skladiščenih od 5 milijonov do 7 milijonov semenčic (Woyke, 1962). V naših raziskavah smo ugotovili od 2,36 milijonov do 6,11 milijonov spermijev, kar je v povprečju 4,43 milijone spermijev na matico. Rezultat je primerljiv s številom spermijev matic iz Kalifornije, kjer so testirali matice iz 80 vzrejališč (Tarpy in sod., 2012). Camazine je s sodelavci (1998) preiskoval 325 matic iz 13 vzrejališč in ugotovil, da je bilo 19 odstotkov matic slabo opršenih, saj so v spermatekah določili manj kot 3 milijone spermijev. V povprečju smo v naših raziskavah pri pregledu testiranih matic iz vzrejališč ugotovili, da je imelo 15 odstotkov matic manj kot 3 milijone spermijev in 36 odstotkov matic več kot 5 milijonov spermijev skladiščenih v spermateki. Na število spermijev vpliva tudi vzrejna sezona, kar so potrdili Güler in Alpay (2005) ter Koç in Karacaoglu (2011).

Naši rezultati kažejo, da je mogoče vzpostaviti sprejemljivi

ve standarde za kakovostno matico. Kakovostna matica ima telesno maso vsaj 200 mg, ovariji imajo okrog 150 ovariol, in v spermateki je mogoče skladiščiti 4 milijone ali več spermijev. Matice morajo biti proste okužbe s spori *Nosema* spp., prav tako ne smejo biti prisotni drugi bolezenski znaki. Vzreja matic je pomembna čebelarstva aktivnost, ki zagotavlja vzrejo kvalitetnih čebeljih matic in je za čebelarstvo izrednega pomena.

Nakup in zamenjava matic v čebeljih družinah je vezana na nekatera tveganja z okužbami npr. *Nosema* spore in vnos virusov (Gregorc in sod., 1991; 1992; Czekonska, 2000). V ta namen je pozornost vzrejne dejavnosti usmerjena tudi v zmanjševanje potencialnih prenosov pomembnejših patogenih dejavnikov. Znan je prenos povzročiteljev virusnih obolenj preko parjenja. Obenem so starejše in oprasene matice v primerjavi z neoprasenimi bolj izpostavljene okužbam preko delavk ali tudi preko vertikalnega prenosa

virusov (preko jajčec), kar je ugotovil Gauthier s sodelavci (2011). Gregorc in Bakony (2012) poročata, da je virus deformiranih kril (DWV) prisoten v normalno razvitih maticah, ki zalegajo jajčeca, čeprav se je v čebelji družini izvajal nadzor nad varozo.

Rezultati dolgoletnega testiranja matic bodo v pomoč vzrejevalcem in strokovnim delavcem na terenu pri izboljšanju tehnologije vzreje in pogojev parjenja matic, kar je osnovnega pomena za certificiranje matic za prodajo. Z našo raziskavo smo prispevali k boljšemu razumevanju, kako so morfološke in fiziološke meritve znatnega pomena za postavitve standardov. Ti standardi bodo pripomogli k vzreji visoko kakovostnih matic, ki bodo dosegle uspešno oprasitev in imele visok reprodukcijski potencial. Rezultate preteklih testiranj smo objavili v znanstveni reviji *Journal of Apicultural Science* (Gregorc in Smodiš Škerl, 2015) in na mednarodni konferenci EurBee v Romuniji (7. - 9. 9. 2016).

ZAKLJUČKI

CERTIFICIRANJE MATIC

Na podlagi preteklih raziskav 888 oprasenih matic iz vzrejališč predlagamo standard pri vzreji in oprasovanju matic.

Karakteristike matic, dobljene pri rutinskem ocenjevanju, se certificirajo kot:

- Visoko kakovostne matice:

Matice morajo biti proste spor *Nosema* spp., masa oprasenih matic mora biti 200 mg ali več. V povprečju je v ovarijih razvitih okrog 150 ovariol, v spermateki naj bo v povprečju shranjenih okrog 4 milijone spermijev.

- Tržne matice: ne dosegaajo postavljenih ciljev.

V letošnji raziskavi smo pregledali 150 matic iz 30 vzrejališč, ki so bile posredovane čebelarjem v testiranje. V povprečju so matice tehtale 210,38 mg, kar je najvišja vrednost do sedaj opravljenih raziskav. Na osnovi postavljenih kriterijev so v letu 2016 visoko kakovostne matice izhajale iz 14 odobrenih vzrejališč.

Predlog ocenjevanja matic:

1. Rutinsko ocenjevanje, ki se izvaja na letni ravni: Analizira se vzorec okrog 10 matic iz posameznega vzrejališča (od istega matičarja in z isto tehnologijo vzreje). Pri tem se izvede meritev mase matic, velikost zadka, oprsja in pregled iztrebkov na spore *Nosema* spp. in viruse.

2. Raziskovano in razvojno ocenjevanje, ki se izvaja v 5 do 10 letnih obdobjih: Žrtvuje se okrog 10 matic (od istega matičarja in z isto tehnologijo vzreje). Poleg rutinskih meritev se izvedejo še meritve na ovarijih, spermateki in morebitne nove lastnosti in karakteristike, ki bi imele pomen za razvoj vzreje.

ZAHVALA

Zahvaljujemo se našim sodelavcem, ki so vsa leta sodelovali pri spremljanju kakovosti vzrejenih matic, pokojnemu Marjanu Kokalju, Vesni Lokar in Mitji Nakrstu ter študentkama Špeli Zarnik in Tini Porenta. Raziskava je potekala v okviru Programov ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2006-2008, 2009-2011 in 2014-2016, ki so bili financirani iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske zveze.

LITERATURA

- Büchler R., Andonov S., Bienefeld K., Costa C., Hatjina F., Kezic N., Kryger P., Spivak M., Uzunov A., Wilde J. (2013) Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. J. Apicult. Res. 52(1): 1-29.
- Camazine S., Çakmak I., Cramp K., Finley J., Fisher J., Frazier M., Roza A. (1998) How healthy are commercially produced US honey bee queens? A. Bee J. 138: 677-680.
- Cantwell G. E. (1970) Standard methods for counting nosema spores. Am. Bee J. 110: 222-223.
- Capella I.C.S., Hartfelder K. (2002) Juvenile hormone effect on DNA synthesis and apoptosis in caste-specific differentiation of the larval honey bee (*Apis mellifera* L.) ovar. J. Ins. Physiol. 44(5-6): 385-391.
- Carreck N. L., Andree M., Brent C. S., Cox-Foster D., Dade H. A., Ellis J. D., Hatjina F., VanEngelsdorp D. (2013) Standard methods for *Apis mellifera* anatomy and dissection. In: Dietemann V., Ellis J. D., Neumann P. (Eds.) The COLOSS BEEBOOK, Volume I: standard methods for *Apis mellifera* research. J. Apicult. Res. 52(4): 1-40.
- Chen Y. P., Higgins J. A., Feldlaufer M. F. (2005) Quantitative real-time reverse transcription-PCR analysis of deformed wing virus infection in the honeybee (*Apis mellifera* L.). Appl. Environm. Microbiol. 71: 436-441.
- Chen Y, Evans JD, Smith IB, Pettis JS. 2008. *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honeybee (*Apis mellifera*) in the United States. J. Invertebr. Pathol., 97: 186-188.
- Czekońska K. (2000) The influence of *Nosema apis* on young honey bee queens and transmission of the disease from queens to workers. Apidologie 31(6): 701-706.
- Gauthier L., Ravallec M., Tournaire M., Cousserans F., Bergoin M., Dainat B., de Miranda J. R. (2011) Viruses associated with ovarian degeneration in *Apis mellifera* L. queens. PLoS ONE 6(1): e16217.
- Gençer H. (2003) Overwintering of honey bee queens en mass in reservoir colonies in a temperate climate and its effect on queen performance. J. Apic. Res. 42: 61-64.
- Gregorc A., Bakony T. (2012) Viral infections in queen bees (*Apis mellifera carnica*) from rearing apiaries. Acta vet. Brno 81: 15-19.
- Gregorc A., Fijan N., Poklukar J. (1992) The effect of *Apis mellifera carnica* Polm worker bee source for populating mating nuclei on degree of infection by *Nosema apis* Zander. Apidologie 23(3): 241-244.
- Gregorc A., Poklukar J., Perko M., Babnik D. (1991) Incidence of nosema disease in queen-rearing (*Apis mellifera* Pollm.) apiaries in Slovenia. Zbornik Veterinarske fakultete, Univerze v Ljubljani 28(1): 19-24.
- Gregorc A., Smodiš Škerl M.I. (2015) Characteristics of honey bee (*Apis mellifera carnica*, Pollman 1879) queens reared in Slovenian commercial breeding stations. J. Apic. Sci. 59(2): 5-12.
- Güler A., Alpay H. (2005) Reproductive characteristics of some honeybee (*Apis mellifera* L.) genotypes. J. Animal Vet. Adv. 4(10): 864-870.
- Hartfelder K., Steinbruck G. (1997) Germ cell cluster formation and cell death are alternatives in caste-specific differentiation of the larval honey bee ovary. Invert. Reprod. Develop, 31: 237-250.
- Hatjina F., Bieńkowska M., Charistos L., Chlebo R., Costa C., Dražić M. M., Filipi J., Gregorc A., Ivanova E. N., Kezic N., Kopernicky J., Kryger P., Lodesani M., Lokar V., Mladenovic M., Panasiuk B., Petrov P. P., Rašić S., Smodiš Škerl M. I., 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(3): 337-363.
- Higes M., Martín R., Meana A. (2006) *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. J. Invertebr. Pathol. 92(2): 93-95. DOI:10.1016/j.jip.2006.02.005
- Klee J., Besana A.M., Genersch E., Gisder S., Nanetti A., Tam D.Q., Chinh T.X., Puerta F., Ruz J.M., Kryger P., Message D., Hatjina F., Korpela S., Fries I., Paxton R.J.

- (2007) Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. J. Invertebr. Path., 96, 1: 1-10.
- Koç A. U., Karacaoglu M. (2011) Effects of queen rearing period on reproductive features of Italian (*Apis mellifera ligustica*), Caucasian (*Apis mellifera caucasica*), and Aegean ecotype of Anatolian honey bee (*Apis mellifera anatoliaca*) queens. Turkish J. Vet. Animal Sci. 35(4): 271-276.
 - Laidlaw H.H. (1992) Production of queens and package bees. The Hive and the Honey Bee. Hamilton, III.:Dadant and Sons. Pp. 989-1042.
 - Levinsohn M., Lensky Y. (1981) Long-term storage of queen honeybees in reservoir colonies. J. Apic. Res. 20(4): 226-233.
 - Meyer W. (1975) Jungkönigin, EWK und Insebegstelle. Allgemeine Deutsches Imkerzeitung 9: 151-152. OIE Terrestrial Manual 2008.
 - Nabian S., Ahmadi K., Nazem Shirazi M.H., Gerami Sadeghian A. (2011) First Detection of *Nosema ceranae*, a Microsporidian protozoa of european honeybees (*Apis mellifera*) in Iran. Iran. J. Parasitol., 6(3): 89-95.
 - Roy M.F., Kryger P. (2012) Single assay detection of acute bee paralysis virus, Kashmir bee virus and Israeli acute paralysis virus. J. Apicult. Sci. 56:137-146.
 - Ruttner F. (1983) Queen rearing. Apimondia Publishing House. Bucharest. 358 pp.
 - Skowronek W., Bieńkowska M., Kruk C. (2004) Changes in body weight of honeybee queens during their maturation. J. Apicult. Sci. 48(2): 61-68.
 - Statgraphic plus (1996) Statistical graphic system. STSC Inc. Rockville.
 - Tapasztó Z., Forgách P., Kővágó C., Békési L., Bakonyi T., Rusvai M (2009) First detection and dominance of *Nosema ceranae* in hungarian honeybee colonies. Acta Vet. Hung., 57(3): 383-8.
 - Tarpay D. R., Keller J. J., Caren J. R., Delaney D. A. (2012) Assessing the Mating 'Health' of Commercial Honey Bee Queens. J Econ. Entomol. 105(1): 20-25.
 - Weiss K. (1974) The weight of honeybee queens seen in dependence of the larva's grafting age and its food supply. Apidologie 5: 127-147.
 - Williams G.R., Shafer A.B.A., Rogers R.E.L., Shuttler D., Stewart D.T. (2008) First detection of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite of european honeybees (*Apis mellifera*), in Canada and central USA. J. Invertebr. Pathol., 97: 189-92.
 - Woyke J. (1962) Natural and artificial insemination of queen honeybees. Bee World 43: 21-25.
 - Woyke J. (1971) Correlations between the age at which honey bee brood was grafted, characteristics of the resultant queens, and results of insemination. J. Apicult. Res. 10: 45-55.