

Oddelek za živinorejo

Čebelarstvo

Hacquetova ulica 17

SI-1001 Ljubljana

Slovenija

T: 01 280 51 74

F: 01 280 52 55

ISKANJE ALTERNATIVNIH PAŠ IN KARAKTERISTIKE MEDU V POVEZAVI S POVZROČITELJI MEDENJA

Programsko obdobje 2023 – 2025

Poročilo o izvedenih nalogah v letu 2023

Vodja naloge:
dr. Ajda Moškrič

Poročilo pripravili (Kmetijski inštitut Slovenije):

dr. Ajda Moškrič
dr. Janez Prešern
Andraž Marinč
Katarina Mole

Podizvajalec Čebelarska Zveza Slovenije:

Simon Golob
Aleš Bozovičar
Aljaž Debelak



5. september 2023

Poročilo je v skladu z Uredbo o izvajanju intervencij v sektorju čebelarških proizvodov iz strateškega načrta skupne kmetijske politike 2023 – 2027 (Uradni list RS, št.17/23; v nadaljnjem besedilu: Uredba) in Programa raziskave iskanja alternativnih paš in karakteristike medu v povezavi s povzročitelji medenja.

Poročilo je oblikovano na osnovi javnega naročila z oznako JN002006/2003-W01 z dne 6. 4. 2023, Odločitve o oddaji javnega naročila, št. 430-58/2023/16 z dne 9. 5. 2023 in dvostranske pogodbe med Ministrstvom za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano in Kmetijskim inštitutom Slovenije s številko 2330-23-111032.

Raziskava, skladno z javnim naročilom, zajema raziskavo na 35 opazovalnih postajah, z beleženjem podatka o donosu medu, temperaturi, vlagi, vetru in padavinah. Na vsaki opazovalni postaji smo vzdrževali eno čebeljo družino. V okolici opazovalne postaje smo vizualno spremljali prisotnost povzročiteljev medenja glede na razpoložljivost medenja. Povzročitelje medenja smo vzorčili in izvedli molekularno analizo DNK za identifikacijo povzročiteljev medenja. Vzorčili smo mano in sicer tako, da smo vzorčili kapljice mana ali iz medenih želodčkov čebel ob prihodu v panj. V primeru, da v okolici opazovalnih postaj ni bilo medenja, smo vzorčili v okolici drugih opazovalnih postaj. Na 70 vzorcih mane smo izvedli kromatografsko analizo sladkorjev v mani z napravo HPLC. Vzpostavili smo protokole za določanje botaničnih ter maninih elementov ter preverili ustreznost metode na izbranih vzorcih medu. Na eni dodatni lokaciji smo opravili raziskavo ocenjevanja gostote in konkurenčnosti med čebeljimi družinami, ki tekmujejo za isti vir.

Doseženi rezultati so nastali v okviru strateškega načrta, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije, podrobneje, v okviru intervencij v sektorju čebelarških proizvodov v letih 2023–2027, ki je financiran iz sredstev proračuna RS na proračunski postavki 221642 Strateški načrt SKP 2023-2027 – sektor čebelarških proizvodov – slovenska udeležba (50%) in 221642 Strateški načrt SKP 2023-2027 – sektor čebelarških proizvodov – EU (50%), ukrepu Skupni strateški načrt 2023-2027, NRP 2330-23-0036.

POVZETEK.....	1
1 UVOD.....	4
2 METODE DELA	6
2.1 UGOTAVLJANJE MEDENJA NA OBMOČJIH Z VIŠJO NADMORSKO VIŠINO NA NOVIH OPAZOVALNIH POSTAJAH	6
2.2 BELEŽENJE PODATKOV O MASI ČEBELJIH DRUŽIN (DONOSU MEDU), TEMPERATURI, VLAGI, VETRU, PADAVINAH	8
2.3 VIZUALNO SPREMLJANJE POVZROČITELJEV MEDENJA V OKOLICI OPAZOVALNIH POSTAJ GLEDE NA RAZPOLOŽLJIVOST MEDENJA	8
2.4 VZORČENJE POVZROČITELJEV MEDENJA ZA MOLEKULARNE ANALIZE GLEDE NA RAZPOLOŽLJIVOST MEDENJA ..	8
2.5 VZORČENJE MANE GLEDE NA RAZPOLOŽLJIVOST MEDENJA	9
2.6 MOLEKULARNE ANALIZE POVZROČITELJEV MEDENJA.....	10
2.7 KROMATOGRFSKE ANALIZE SLADKORJEV V MANI Z NAPRAVO HPLC	13
2.8 VZPOSTAVITEV PROTOKOLOV ZA DOLOČANJE BOTANIČNIH IN MANINIH ELEMENTOV V MEDU	15
2.9 OCENA GOSTOTE IN KONKURENČNOSTI MED ČEBELJIMI DRUŽINAMI, KI TEKMUJEJO ZA ISTI VIR.....	16
3 REZULTATI.....	18
3.1 UGOTAVLJANJE MEDENJA NA OBMOČJIH Z VIŠJO NADMORSKO VIŠINO NA NOVIH OPAZOVALNIH POSTAJAH	18
3.1.1 Donos medu, temperatura, vlaga, veter in padavine	18
3.1.2 Vizualno spremljanje povzročiteljev medenja v okolici opazovalnih postaj glede na razpoložljivost medenja.....	38
3.1.3 Vzorčenje povzročiteljev medenja za molekularne analize glede na razpoložljivost medenja.....	38
3.1.4 Vzorčenje mane glede na razpoložljivost medenja.....	40
3.2 MOLEKULARNE ANALIZE POVZROČITELJEV MEDENJA.....	41
3.3 KROMATOGRFSKE ANALIZE SLADKORJEV V MANI Z NAPRAVO HPLC	49
3.4 VZPOSTAVITEV PROTOKOLOV ZA DOLOČANJE BOTANIČNIH IN MANINIH ELEMENTOV V MEDU	54
3.4.1 Prikaz rezultatov molekularne identifikacije virov medenja na podlagi 6 vzorcev medu	54
3.5 OCENA GOSTOTE IN KONKURENČNOSTI MED ČEBELJIMI DRUŽINAMI, KI TEKMUJEJO ZA ISTI VIR.....	60
3.5.1 Sončnice in ajda	60
4 INTERPRETACIJA REZULTATOV.....	62
4.1 SPREMLJANJE MEDENJA NA OBMOČJIH Z VIŠJO NADMORSKO VIŠINO NA 35 OPAZOVALNIH POSTAJAH	62
4.2 MOLEKULARNE ANALIZE POVZROČITELJEV MEDENJA.....	62
4.3 KROMATOGRFSKE ANALIZE SLADKORJEV V MANI Z NAPRAVO HPLC.....	63
4.4 VZPOSTAVITEV PROTOKOLOV ZA DOLOČANJE BOTANIČNIH IN MANINIH ELEMENTOV V MEDU	64
4.5 OCENA GOSTOTE IN KONKURENČNOSTI MED ČEBELJIMI DRUŽINAMI, KI TEKMUJEJO ZA ISTI VIR.....	64
5 SPLOŠNE UGOTOVITVE.....	65
6 VIRI	66

POVZETEK

Pašni viri čebel se zaradi spremenjenih klimatskih razmer spreminjajo. To lahko vpliva na pridelavo medu in na samo oskrbo čebeljih družin. Zaradi spreminjanja klimatskih razmer so za čebelarjenje lahko zanimive tudi paše na višjih in preostalih legah. Z namestitvijo opazovalnih postaj na ta izbrana območja smo spremljali donose medu, okoljske pogoje (temperatura, vlaga, veter, padavine) in beležili prisotnost povzročiteljev medenja. Vzorčili smo mano in povzročitelje medenja za namen analize s HPLC in molekularne analize za identifikacijo povzročiteljev medenja z DNK. Vzpostavili smo protokole za določanje botaničnih ter maninih elementov. Iz rezultatov raziskave lahko sklepamo na primernost čebelje paše na višjih legah za čebelarjenje. Na novo postavljene opazovalne postaje so v smiselnem obsegu vključene v obstoječi sistem opazovalno napovedovalne službe medenja. Raziskava naslovi tudi ocenjevanje gostote in konkurenčnosti čebeljih družin, ki tekmujejo za isti vir.

Raziskava iskanja alternativnih paš in karakteristike medu v povezavi s povzročitelji medenja je v letu 2023 obsegala:

- raziskavo na 35 opazovalnih postajah, pri čemer vsaka posamezna opazovalna postaja zajema 1 hišico s kovinsko lestvijo in kovinskim podstavkom, 1 AŽ-panj (11+3-satni s testnim vložkom) in 1 tehniko z vremensko postajo (ki omogoča sporočanje meritev po SMS-sporočilih ali spletni aplikaciji in ki omogoča povezovanje v sistem opazovalno-napovedovalne službe medenja). Vsaka posamezna opazovalna postaja je označena in na njej so se beležili podatki o masi čebeljih družin (donos medu), temperaturi, vlagi, vetru, padavinah;
- vzdrževanje 1 čebelje družine na vsaki posamezni opazovalni postaji;
- vizualno spremljanje prisotnost povzročiteljev medenja v okolici vsake opazovalne postaje glede na razpoložljivost medenja;
- vzorčenje skupno do 70 povzročiteljev medenja glede na njihovo razpoložljivost v okolici opazovalnih postaj;
- izvedbo molekularnih analiz (analize DNA za identifikacijo povzročiteljev medenja) na do 70 vzorcih povzročiteljev medenja
- vzorčenje skupno do 70 vzorcev mane glede na razpoložljivost medenja v okolici vsake opazovalne postaje na način, da se vzorec mane odvzame predvidoma dvakrat na posamezni opazovalni postaji in sicer ob začetku donosov medu v panju in po nekaj dneh tako, da se pridobi kapljice mane ali da se vzorči iz čebele pred prihodom v panj;
- izvedbo kromatografske analize sladkorjev v mani z napravo HPLC, ki je del kompleta osnovne opreme na do 70 vzorcih mane;
- vzpostavitev protokolov za določanje botaničnih ter maninih elementov v medu;

- raziskavo na eni dodatni lokaciji za ocenjevanje gostote in konkurenčnost med čebeljimi družinami, ki tekmujejo za isti vir. Na tej lokaciji se označi in vzdržuje 10 čebeljih družin, ki so posamično opremljene s tehniko za nadzor čebeljih družin. V vsakem panju se beleži masa čebeljih družin (donos medu) ter oceni jakost družin na začetku in koncu raziskave. Izvede se analiza donosov medu v povezavi z jakostjo družin, na podlagi razpoložljivih virov in vremenskih razmer.

Za izvedbo raziskave se je uporabil komplet osnovne opreme, ki ga je Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano na osnovi Uredbe z javnim razpisom za ukrep sofinanciranje nakupa opreme za izvedbo raziskave iskanja alternativnih paš in karakteristike medu v povezavi s povzročitelji medenja v programskem obdobju 2020–2022 (Uradni list RS, št. 100/21) že sofinanciralo upravičencu Čebelarski zvezi Slovenije.

Komplet osnovne opreme sestavljajo:

1. 1 naprava HPLC s pripadajočo opremo in računalniškim programom ter z RI, DAD in ECD detektorjem, primerna za analizo sestave medu in mane oziroma nektarja;
2. 35 hišic s kovinsko lestvijo in kovinskim podstavkom v velikosti, ki ustreza dimenzijam 1 kosa opreme iz 3. in 4. točke tega odstavka;
3. 35 AŽ-panjev, 11+3-satni s testnim vložkom;
4. 35 tehnic z vremensko postajo, ki mora omogočati sporočanje meritev po SMS-sporočilih ali spletni aplikaciji in ki omogoča povezovanje v sistem opazovalno-napovedovalne službe medenja.

Komplet osnovne opreme je izvajalcu raziskave v uporabo nujen brezplačno v času od 29. 5. 2023 do 16. 8. 2025.

Cilji ukrepa so:

- ugotavljanje medenja na območjih z višjo nadmorsko višino na novih opazovalnih postajah;
- določiti molekularne parametre za identifikacijo vira maninih elementov;
- vzpostaviti protokole za določanje botaničnih ter maninih elementov in preverjanje ustreznosti metode na izbranih vzorcih medu;
- ugotoviti kompeticijo med družinami s hkratnim spremljanjem družin na istih virih.

Na 35 alternativnih lokacijah smo ugotavljali medenje. Na večini lokacij so se večji donosi pojavili v drugi polovici meseca junija. Glede na vse zbrane podatke pa lahko zaključimo, da so se marsikateri izmed opazovanih lokacij izkazale kot obetavne, saj je bilo na njih prisotno medenje. Vsekakor pa bo glede na do sedaj zbrane podatke potrebno izbrane spremljati lokacije več let. S pomnoževanje mitohondrijskega odseka, ki kodira protein citokrom oksidaza 1 (COI), z verižno reakcijo s polimerazo (PCR) smo identificirali 67 vzorcev povzročiteljev medenja. Z metodo HPLC smo določali vsebnost sladkorjev v mani in iz medenih želodčkov čebel. Na podlagi prve verzije protokola za določanje botaničnih in maninih elementov v vzorcih medu z

molekularnimi metodami, ki smo ga vzpostavili v sezoni 2022, smo optimirali bioinformatični del analize. S tem smo zmanjšali možnost napako pri umeščanju v določeno taksonomsko skupino. Poleg tega smo uvedli dodatne kriterije ki omogočajo izločitev tistih nukleotidnih odčitkov, ki nimajo dovolj šne resolucije t.i. lahko določimo več sorodnih vrst/višjih taksonov enako zanesljivo.

Nazadnje smo preučevali tudi kompeticijo za isti vir med družinami znotraj čebelnjaka ter interpretirali donose glede na gostoto čebeljih družin ter druge pogoje.

1 UVOD

Najpomembnejši vir čebelje hrane so gozdovi iglavcev in listavcev, ki pokrivajo okoli 58 % Slovenije. Na gozdnem drevju, grmovju in zeliščnem sloju nabirajo čebele medicino, mano, cvetni prah in propolis. Mana ali medena rosa na iglavcih in listavcih je živalskega izvora – izločajo jo rastlinske uši in kaparji – povzročitelji gozdnega medenja, ki spadajo v rod kljunatih žuželk (Hemiptera). Njihovi izločki predstavljajo nepogrešljiv vir hrane številnim žuželkam, ki so potrebne za ohranitev biološkega ravnotežja v gozdu. Ko žuželka zabode svoj kljunec v lubje in z njim prodre do sitastih cevčic, po katerih se pretaka drevesni sok z organskimi snovmi, ji ta zaradi pritiska (turgorja) v večini primerov sam priteče v usta. Kljunec je zgrajen tako, da v svoji notranjosti oklepa dva vzporedna kanala; po enem prodira iz rastline v usta žuželke drevesni sok, po drugem pa v obratni smeri slina, ki se na površini vbodenega mesta strdi in se oblikuje v nekakšno cevko. Skozi to ranico pronica drevesni sok tudi še potem, ko je ušica že izvlekla sesalo in se premaknila na drugo mesto. Ušice predelajo velike količine drevesnega soka. Iz njega porabijo zase le majhen del sladkorjev in beljakovin, ostalo pa izločijo v obliki sladkih kapljic. Pomembno je vedeti, da v tej medeni rosi, ki pada na podrast in ki jo nabirajo čebele, ni ostankov prebave. V telesu kljunatih žuželk je poseben filtrni prekat, skozi katerega se pretaka večji del soka, pri čemer se zniža odstotek vode in tudi nekoliko spremeni njegova kemična sestava.

Prehrana proizvajalcev mane je izključno odvisna od njihove gostiteljice. Dušičnate spojine, ki so potrebne za rast, se med letom pojavljajo v drevesnem soku v različnih koncentracijah. Največ jih je spomladi, ko nastajajo novi poganjki. Poleti rast zastane, pred začetkom jeseni pa se spet zviša delež aminokislin v drevesnem soku. Če so v omenjenih dveh obdobjih ugodni za razvoj ušic tudi ostali faktorji okolja, so s tem podani osnovni pogoji za medenje. Opazovanja kažejo, da drevo ali del gozda, ki je v določenem letu dobro medil, prihodnje leto ali tudi več let zaporedoma ne gosti na svojih vejah rastlinskih ušic. Možno je, da na tako »izčrpanih« gostiteljicah ne najdejo prave hrane in se zato tudi ne morejo normalno razvijati. Rastline poleg tega v svojem obrambnem odzivu tvorijo obrambne snovi, ki ušem preprečujejo razmnoževanje. Pri življenju jih ostane le majhen del, tako imenovana »železna rezerva«, ki poskrbi za nadaljevanje vrste (po Šivic F).

V zadnjem desetletju se zaradi spremenjenih klimatskih in vremenskih razmer spreminjajo tudi pašni viri za čebele, kar vpliva na pridelavo medu in na samo oskrbo čebeljih družin. Zaradi spremembe podnebja bi za čebele lahko bile zanimive tudi paše na višjih in preostalih legah, zato se bo na ta območja pilotno namestilo opazovalne postaje, kjer se bo ugotavljalo donos medu in ugotavljalo povzročitelje medenja. Ugotavljalo se bo tudi v kakšni meri pride do medenja smreke, jelke, javorja, kostanja, lipe, ... Z raziskavo se bo ugotovilo, ali so paše na višjih legah za čebelarje zanimive, zato bi se v primeru ugodnih rezultatov novo postavljene opazovalne postaje lahko vključile v sistem opazovalno napovedovalne službe medenja. Za natančnejšo opredelitev pestrosti povzročiteljev medenja se bo vzorčene povzročitelje medenja identificiralo s pomočjo molekularnih analiz ter vzpostavilo protokol za določanje botaničnih ter maninih elementov neposredno iz

vzorcev medu. Raziskava bo naslovila tudi ocenjevanje gostote in konkurenčnosti med čebeljimi družinami, ki tekmujejo za isti vir.

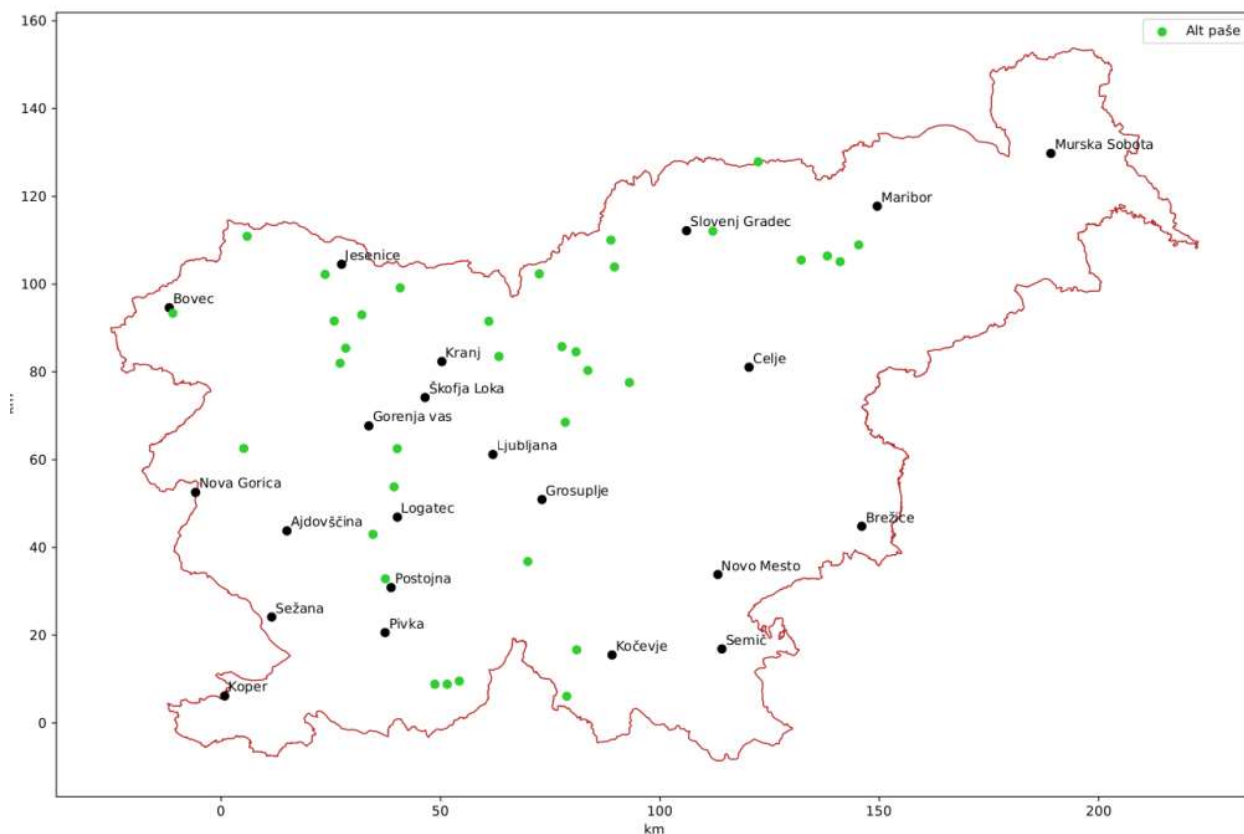
2 METODE DELA

2.1 UGOTAVLJANJE MEDENJA NA OBMOČJIH Z VIŠJO NADMORSKO VIŠINO NA NOVIH OPAZOVALNIH POSTAJAH

V letu 2022 smo vzpostavili 35 novih opazovalnih postaj za namen spremljanja medenja na višjih in preostalih legah (Tabela 1, Slika 1). Vsaka posamezna opazovalna postaja zajema 1 hišico s kovinsko lestvijo in kovinskim podstavkom, 1 AŽ- panj (11+3-satni s testnim vložkom) in 1 tehcnico z vremensko postajo (Slika 2). Ta omogoča sporočanje meritev preko sporočil SMS ali po spletni aplikaciji in omogoča povezovanje v sistem opazovalno-napovedovalne službe medenja. Na posamezni opazovalni postaji smo vzdrževali po 1 čebeljo družino.

Tabela 1. Seznam 35 novih opazovalnih postaj za namen spremljanja medenja na višjih in preostalih legah.

	IME POSTAJE	KOORDINATE y v min.	KOORDINATE x v min.	SI št.	n.v. v m
1	Begunje na Gorenjskem - Draga	46.389459	14.230112	370255	847
2	Bovec	46.33643	13.553501	370125	488
3	Butajnova	46.0599387	14.226696	370271	762
4	Cerklje na Gorenjskem - Šmartno	46.250615	14.524033	388166	442
5	Črnivec	46.271512	14.707959	370170	1115
6	Grčarice - Goteniška gora	45.649743	14.756427	370284	567
7	Jelovica - Bohinjka	46.268499	14.062767	370109	1351
8	Jelovica - Talež	46.333292	14.117451	370095	786
9	Kalce - Hrušica	45.886944	14.156202	388140	794
10	Kokra - Predvdvor	46.322269	14.492889	370268	720
11	Kranjska gora	46.491095	13.774481	370242	893
12	Legen - Šmartno pri Slovenj Gradcu	46.508333	15.156846	388179	920
13	Limovce - Trojane	46.198102	14.909763	370372	710
14	Logarska dolina	46.42030	14.64209	370314	804
15	Lokovec - Nova gorica	46.05722	13.77431	370112	958
16	Ludranski vrh - Črna na Koroškem	46.434858	14.864530	370154	1087
17	Mežakla	46.415723	14.006306	370079	1025
18	Moravče - Studenci	46.116105	14.909763	370196	613
19	Osankarica - Pohorje	46.265473	15.2646	370343	1243
20	Planina Zajama - Pokljuka	46.320092	14.035921	370082	1100
21	Podpeca - Črna na Koroškem	46.490794	14.854533	370141	929
22	Slivnica na Pohorju	46.478688	15.589900	388153	475
23	Smrečno - Pohorje	46.456017	15.496438	370255	1054
24	Snežnik - Črni dol	45.578244	14.379762	370213	1116
25	Snežnik - Grda draga	45.584193	14.413888	370226	1224
26	Snežnik - Smrekovec	45.577649	14.343276	370200	1204
27	Strma reber - Kočevje	45.554388	14.727696	370297	1050
28	Sv. Pankracij - Remšnik	46.649982	15.292666	370167	900
29	Šmartno na Pohorju	46.444464	15.534466	370372	807
30	Tuhinjska dolina	46.222689	14.788418	370330	435
31	Velike Lašče	45.830373	14.612252	370239	635
32	Vznožje Menine planine	46.260259	14.752750	370183	945
33	Zagon - Postojna	45.790350	14.195077	370301	1027
34	Zaplana - Vrhnika	45.981771	14.218238	370138	671
35	Zgornje Danje - Železniki	46.233409	14.054839	370327	1126



Slika 1. Zemljevid lokacij 35 opazovalnih postaj za namen spremljanja medenja na višjih in preostalih legah. Lokacije so označene z zelenimi pikami. Črne pike so večji kraji.



Slika 2. Opazovalna postaja na Mežakli.

2.2 BELEŽENJE PODATKOV O MASI ČEBELJIH DRUŽIN (DONOSU MEDU), TEMPERATURI, VLAGI, VETRU, PADAVINAH

Podatki se beležijo preko elektronskih čebelarских tehtnic na 35 opazovalnih postajah na dnevni ravni, ki so povezane s spletno aplikacijo e-čebelar. Tehtnice beležijo dnevni donos, temperaturo in vlago ozračja, količino padavin ter hitrost vetra. Podatki so javno dostopni preko spletne in mobilne aplikacije e-čebelar vsak dan po 21.45. uri. Podatke si lahko ogleda kdorkoli, ki se registrira v spletno aplikacijo e-čebelar, ki je dostopna na povezavi <https://ečebelar.czs.si/> in na ta način lažje spremlja stanje virov medenja v naravi.

2.3 VIZUALNO SPREMLJANJE POVZROČITELJEV MEDENJA V OKOLICI OPAZOVALNIH POSTAJ GLEDE NA RAZPOLOŽLJIVOST MEDENJA

Ob vsakem obisku opazovalnih postaj smo spremljali prisotnost povzročiteljev medenja na različnih drevesnih rastlinskih vrstah, prav tako smo beležili razvojno stopnjo povzročiteljev medenja in tako lažje načrtovali najbolj primerne termine za vzorčenje mane.

2.4 VZORČENJE POVZROČITELJEV MEDENJA ZA MOLEKULARNE ANALIZE GLEDE NA RAZPOLOŽLJIVOST MEDENJA

Glede na razpoložljivost medenja smo vzorčili povzročitelje medenja za molekularno analizo DNK za identifikacijo povzročiteljev medenja. Ob prihodu na lokacijo smo preverili stanje povzročiteljev medenja na različnih rastlinskih vrstah.

Povzročitelje medenja, ki smo jih zasledili, smo vzorčili s pomočjo v vnaprej pripravljenih kompletov za vzorčenje. Komplet za vzorčenje vsebuje 1,5 ml mikrocetrifugirke napolnjene z absolutnim etanolom, označene s predhodno določenimi vavčerskimi številkami, preglednico za vpisovanje podatkov, pinceto. Poleg vzorčenja je bilo stanje dokumentirano opisno (datum, posebnosti, vir medenja, prisotni povzročitelji medenja) in s fotografijami (Slika 3).



Slika 3. Različni povzročitelji medenja na različnih rastlinskih vrstah. Vir: osebni arhiv.

2.5 VZORČENJE MANE GLEDE NA RAZPOLOŽLJIVOST MEDENJA

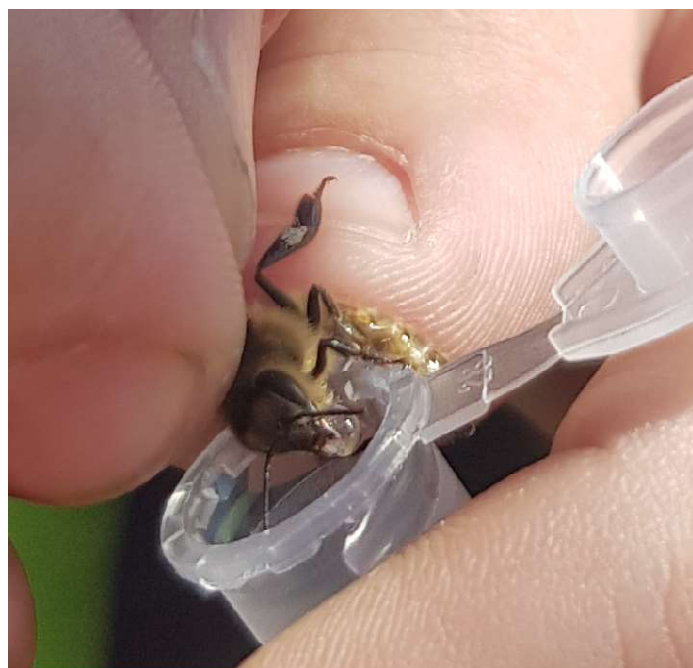
V okolici opazovalnih postaj smo spremljali pojavnost medenja. Primer izločanja mane je prikazan na sliki 4 – kapljice mane na podraсти. Ob prisotnosti povzročiteljev medenja, njihovi aktivnosti in izločanju mane smo namestili lovilno folijo in lovili manine kapljice, ki so s povzročiteljev medenja kapljale na tla. Ko je manina kapljica padla na lovilno folijo, smo jo s pomočjo kapilare prenesli v posodico za vzorčenje. V nekaterih primerih smo mano vzorčili v kapilare neposredno s površine povzročitelja medenja ali z dreves (slika 5). Za spremljanje povezave med povzročitelji medenja in dovzetnostjo čebel za vir medenja smo vzorčili tudi vsebino iz mednega želodčka čebel (slika 6), katerih družine so locirane v neposredni bližini vzorčenja mane.



Slika 4. Levo -Kapljice mane na podrašti – eden od znakov medenja v okolici. Sredina - Vzorčenje mane s pomočjo plastične folije, prikaz postavitve folije pod drevesa; desno – kapljica mane, ki je padla na folijo, tik pred vzorčenjem.



Slika 5. Levo - Kapar na hoji s kapljico mane. Desno – vzorčenje mane s kapilaro neposredno z vejice drevesa.

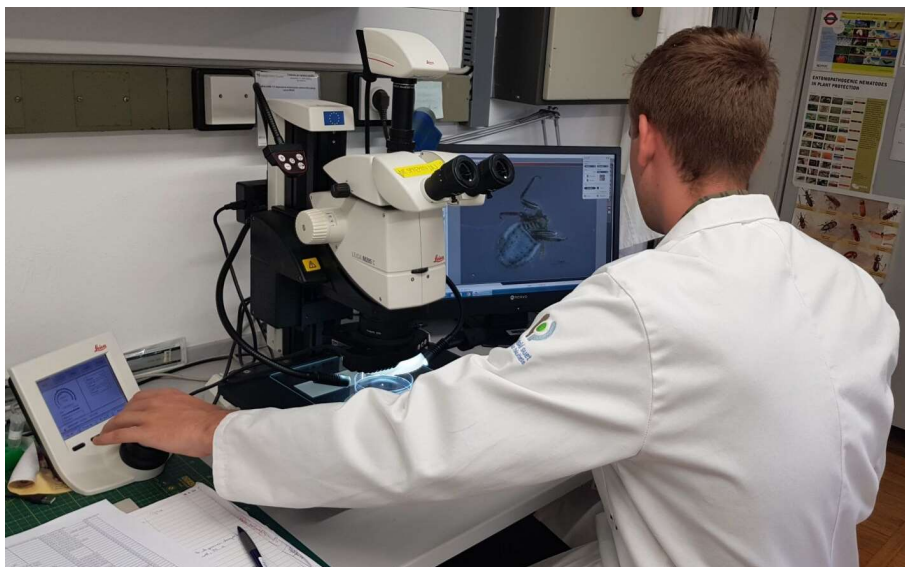


Slika 6. Vzorčenje vsebine medenega želodčka pri čebeli delavki.

2.6 MOLEKULARNE ANALIZE POVZROČITELJEV MEDENJA

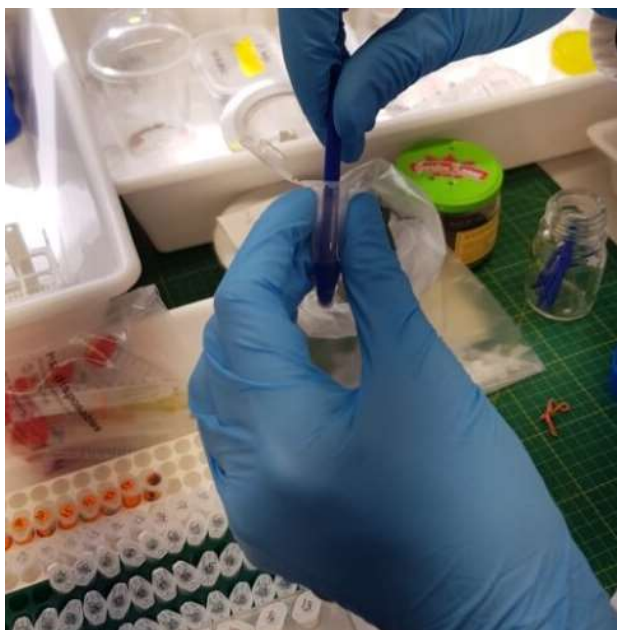
Za ugotavljanje vrstne pestrosti povzročiteljev medenja, ki se nahajajo v okolici novih opazovalnih postaj, smo uporabili vzorce, zbrane pri terenskem delu naloge (podpoglavje 2.1.3). Skupno smo na terenu zbrali 67 vzorcev (1 vzorec je 1 mikrocentrifugirka s povzročitelji medenja, v kateri je lahko nabranih več osebkov z iste mikrolokacije). En vzorec za analizo je predstavljal en osebek polkrilcev. Skupno smo analizirali 81 osebkov.

Pred ekstrakcijo DNK smo vsak osebek fotodokumentirali (motoriziran stereomikroskop Leica M205) (Slika 7).



Slika 7. Zajemanje slike objekta v vidnem polju s stereomikroskopom. Vir: osebni arhiv.

Za ekstrakcijo DNK smo uporabili komercialni komplet QIAamp DNA mini kit (Qiagen, Nemčija). Pri ekstrakciji smo sledili navodilom proizvajalca po protokolu za ekstrakcijo tkiva preko membrane s centrifugiranjem (Slika 8). V zadnjem koraku smo DNK sprali iz kolone v 50 μ L elucijskega pufra. Ekstrakte DNK smo hranili v hladilniku do nadaljnjih postopkov.



Slika 8. Homogenizacija tkiva s pestilom – začetni korak pri ekstrakciji DNK.

Z verižno reakcijo s polimerazo (PCR) smo uspešno pomnožili 661 bp dolg mitohondrijski fragment za označevalec citokrom oksidaza 1 - COI. Nukleotidno zaporedje tega dela mitohondrijske DNK je primerno za taksonomsko določanje osebkov do vrste natančno (Folmer in sod., 1994).

Osnovni volumen reakcije je bil 15 μ L. Reakcijska mešanica je vsebovala 7,5 μ L 2x mešanice DreamTaq MasterMix polimeraze (ThermoFischer Scientific, ZDA), po 0,2 μ L 20 μ M vsakega začetnega oligonukleotida, 2 μ L izolirane DNK in 5,1 μ L destilirane H₂O (Sigma, ZDA). Informacije o nukleotidnih zaporedjih oligonukleotidnih začetnikov in nastavitve programa PCR smo povzeli po literaturi (Folmer in sod., 1994). PCR smo izvedli v cikličnem termostatu SureCycler 8800 (Agilent, ZDA). Specifični začetni oligonukleotidi, ki smo jih uporabili, ter vir so navedeni v preglednici (Tabela 2).

Tabela 2. Začetni oligonukleotidi, uporabljeni pri pomnoževanju specifičnih mitohondrijskih regij.

OZNAČEVALEC	OLIGONUKLEOTIDNI ZAČETNIK	zaporedje od 5' proti 3' koncu	Vir
COI	LCO 1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTG	Folmer in sod., 1994
	HCO 2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAAT	

Specifične fragmente smo pomnožili v cikličnem termostatu pri naslednjih pogojih:

OZNAČEVALEC	COI	
Začetna denaturacija	4 min	95°C
3-stopenjsko pomnoževanje fragmentov (35 ciklov):		
Denaturacija	1 min	95°C
Prileganje	1 min	45°C
Podaljševanje	2 min 30 s	72°C
Zaključno podaljševanje	7 min	72°C

Za negativno kontrolo smo uporabili reakcijsko mešanico brez DNK, za pozitivno kontrolo pa smo uporabili ekstrakt DNK, pri katerem smo predhodno uspešno pomnožili in prebrali specifična nukleotidna zaporedja (ekstrakt čebelje DNK).

Po 5 μ L pomnoženega produkta smo nanesti v jamice v 1,8 % agaroznem gelu z dodatkom EtBr (etidijevega bromida) v 0,5 x pufru TBE na horizontalni elektroforezi. Za oceno dolžine fragmenta smo uporabili standardno lestvico GeneRuler™ 100 bp DNA (ThermoFisher Scientific, ZDA), ki smo jo sočasno z vzorci nanesti v eno od jamic na gelu. Produkta PCR smo po končani elektroforezi vizualizirali s pomočjo UV transiluminatorja pri valovni dolžini 280 nm. Uspešno pomnožene produkte PCR smo encimsko očistili z reagentom ExoSAP-IT (ThermoFischer Scientific, ZDA) po navodilih proizvajalca. Določanje nukleotidnega zaporedja očiščenih produktov PCR je bilo izvedeno po Sangerjevi metodi z obema začetnima oligonukleotidoma.

Kromatograme zaporedij DNK smo uredili v programu Geneious Prime v2023.0.1 (<https://www.geneious.com>). Urejena homologna zaporedja smo poravnali z dodatkom Mafft. Odrezali smo ostanek zaporedij začetnih oligonukleotidov. Kodirajoča zaporedja označevalca COI smo prevedli v aminokislinska zaporedja in preverili, da ne vsebujejo stop-kodonov. Nato smo identificirali unikatna zaporedja in izvedli poizvedovanje v podatkovni zbirki BOLD (<https://boldsystems.org/>), s pomočjo katere smo

analizirane osebke identificirali do vrste. V primerih, kadar ustreznega zadetka v podatkovni zbirki BOLD, smo za identifikacijo uporabili podatkovno zbirko BLAST (NCBI - <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

2.7 KROMATOGRAFSKE ANALIZE SLADKORJEV V MANI Z NAPRAVO HPLC

Postopek določanja sladkorjev v medicini in mani smo priredili na podlagi metode za določanje sladkorjev v medu (Bogdanov, 2009; <https://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>). Pri postopku smo uporabili tehniko (Sartorius), magnetno mešalo (Ika WERKE), mikropipete (LLG proMLP), napravo HPLC (Thermo Scientific), kolono (Thermo Scientific Synchronis Amino) in RI detektor (ERC RefractoMax 250).

Vzorčno raztopino smo pripravili tako, da smo v 60 µl vode, primerne za kromatografijo, dodali 1 µl vzorca medicne ali mane in dobro premešali s pomočjo mikropipete. Vsebnost sladkorjev v vzorčni raztopini določimo z metodo HPLC z RI detektorjem. Pri tem se uporablja mobilna faza acetonitril:voda (80:20). Vrhovi se identificirajo na osnovi retenzijskih časov. Vsebnost sladkorjev izračunamo s primerjanjem površine vrhov vzorca s standardno raztopino ob upoštevanju količine razredčenja standarda. Standardno raztopino glukoze, fruktoze, saharoze, melcitoze, trehaloze, maltoze in rafinoze pripravimo tako da 175 mg vsakega od sladkorjev raztopimo v 2,5 ml metanola in dopolnimo z vodo do oznake 25 ml. S tako pripravljeno standardno raztopino dobimo umeritveno krivuljo s pomočjo katere pa izračunamo koncentracije preiskovanih sladkorjev v vzorcih.

Skupno smo določili vsebnost sladkorjev v medicini ali mani v 70 vzorcih (od tega je bilo 57 vzorcev mane, ter 13 vzorcev iz čebeljih medenih želodčkov. Določili smo vsebnost sladkorjev glukoze, fruktoze, saharoze, melcitoze, trehaloze, maltoze in rafinoze. Vzorci so predstavljeni v tabeli 3. Poimenovani so glede na način vzorčenja. Vzorci mane so označeni z začetno črko M, vzorci vsebine mednih želodčkov s črko Č, sledi pa zaporedna številka vzorca, lokacija vzorčenja, lokacija opazovalne postaje, datum vzorčenja in vir medenja (Napaka! Vira sklicevanja ni bilo mogoče najti.).

Tabela 3. Seznam in tip vzorcev (vsebina medenega želodčka - Č ali mane - M).

	oznaka vzorca	številka vzorca	lokacija	naziv/oznaka opazovalne postaje	datum vzorčenja	vir medenja (rastlinska vrsta) in del rastline (brst/list/steblo...)
1	Č23-	61	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja
2	Č23-	75	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja
3	Č23-	12	Hrušica	Hrušica-Kalce	29.06.2023	hoja-zelena hojeva ušica
4	Č23-	20	Hrušica	Hrušica-Kalce	29.06.2023	hoja-zelena hojeva ušica
5	Č23-	15	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	18.07.2023	hoja-zelena hojeva ušica
6	Č23-	60	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	18.07.2023	hoja-zelena hojeva ušica
7	Č23-	41	Snežnik- Črni dol	Snežnik- Črni dol	19.07.2023	Hoja in Smreka
8	Č23-	42	Mašun	Snežnik - Grda draga	19.07.2023	hoja-zelena hojeva ušica
9	Č23-	44	Mašun	Snežnik - Grda draga	19.07.2023	hoja-zelena hojeva ušica
10	Č23-	45	Mašun	Snežnik - Grda draga	19.07.2023	hoja-zelena hojeva ušica
11	Č23-	47	Snežnik- Črni dol	Snežnik- Črni dol	19.07.2023	Hoja in Smreka
12	Č23-	48	Snežnik - Smrekovec	Snežnik - Smrekovec	19.07.2023	hoja-zelena hojeva ušica

	oznaka vzorca	številka vzorca	lokacija	naziv/oznaka opazovalne postaje	datum vzorčenja	vir medenja (rastlinska vrsta) in del rastline (brst/list/steblo...)
13	Č23-	49	Snežnik- Črni dol	Snežnik- Črni dol	19.07.2023	Hoja in Smreka
14	M23-	1	Trnovski Gozd	Trnovski Gozd-Loče	29.06.2023	Hoja
15	M23-	2	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja (Zelena hojeva ušica in velika rjava hojeva ušica)
16	M23-	9	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja (Zelena hojeva ušica in velika rjava hojeva ušica)
17	M23-	11	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja (Zelena hojeva ušica in velika rjava hojeva ušica)
18	M23-	18	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja (Zelena hojeva ušica in velika rjava hojeva ušica)
19	M23-	70	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja (Zelena hojeva ušica in velika rjava hojeva ušica)
20	M23-	73	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja (Zelena hojeva ušica in velika rjava hojeva ušica)
21	M23-	74	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja (Zelena hojeva ušica in velika rjava hojeva ušica)
22	M23-	17	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja
23	M23-	21	Krim	Velike Lašče, Ulaka	21.06.2023	Hoja
24	M23-	25	Krim	Velike Lašče, Ulaka	21.06.2023	Hoja
25	M23-	27	Krim	Velike Lašče, Ulaka	21.06.2023	Hoja
26	M23-	28	Krim	Velike Lašče, Ulaka	21.06.2023	Hoja
27	M23-	44	Krim	Velike Lašče, Ulaka	21.06.2023	Hoja
28	M23-	47	Krim	Velike Lašče, Ulaka	21.06.2023	Hoja
29	M23-	55	Pokljuka- planina Zajamniki	Bohinjska bela - Pokljuka	21.06.2023	Smreka (Veliki smrekov kapar)
30	M23-	57	Pokljuka- planina Zajamniki	Bohinjska bela - Pokljuka	21.06.2023	Smreka (Veliki smrekov kapar)
31	M23-	58	Pokljuka- planina Zajamniki	Bohinjska bela - Pokljuka	21.06.2023	Smreka (Mali smrekov kapar)
32	M23-	66	Krim	Velike Lašče, Ulaka	21.06.2023	Hoja
33	M23-	71	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja
34	M23-	72	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja
35	M23-	76	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja
36	M23-	77	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja
37	M23-	78	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja
38	M23-	79	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja
39	M23-	61	hotel Jelka	Bohinjska bela - Pokljuka	27.06.2023	Smreka (Ušice)
40	M23-	67	Krnica	Bohinjska bela - Pokljuka	27.06.2023	Smreka (kapar)
41	M23-	7	Trnovski Gozd	Lokovec -Nova Gorica	29.06.2023	Hoja
42	M23-	8	Trnovski Gozd	Lokovec -Nova Gorica	29.06.2023	Hoja
43	M23-	12	Hrušica	Hrušica-Kalce	29.06.2023	Hoja
44	M23-	14	Trnovski Gozd	Lokovec -Nova Gorica	29.06.2023	Hoja
45	M23-	3	Cerkniško jezero- Otok	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
46	M23-	4	Cerkniko jezero- začetek	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
47	M23-	5	Cerkniško jezero- Otok	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
48	M23-	6	Cerkniko jezero- začetek	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
49	M23-	10	Cerkniško jezero- Otok	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
50	M23-	13	Cerkniško jezero- Otok	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
51	M23-	19	Cerkniško jezero- Otok	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
52	M23-	75	Cerkniko jezero- začetek	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)

	oznaka vzorca	številka vzorca	lokacija	naziv/oznaka opazovalne postaje	datum vzorčenja	vir medenja (rastlinska vrsta) in del rastline (brst/list/steblo...)
53	M23-	80	Cerkniko jezero- začetek	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
54	M23-	81	Cerkniko jezero- začetek	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
55	M23-	82	Cerkniko jezero- začetek	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
56	M23-	83	Cerkniko jezero- začetek	Zagon, Postojna	03.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
57	M23-	60	Rakitnica	Grčarice, Kočevje	11.07.2023	Hoja
58	M23-	62	Rakitnica	Grčarice, Kočevje	11.07.2023	Hoja
59	M23-	63	Rakitnica	Grčarice, Kočevje	11.07.2023	Hoja
60	M23-	64	Rakitnica	Grčarice, Kočevje	11.07.2023	Hoja
61	M23-	69	Rakitnica	Grčarice, Kočevje	11.07.2023	Hoja
62	M23-	89	Ulaka	Velike Lašče, Ulaka	18.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
63	M23-	95	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	18.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
64	M23-	102	Ulaka	Velike Lašče, Ulaka	18.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
65	M23-	103	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	18.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
66	M23-	112	Ulaka	Velike Lašče, Ulaka	18.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
67	M23-	113	Ulaka	Velike Lašče, Ulaka	18.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
68	M23-	114	Kočevje- Baza	Strma reber, Kočevje	18.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
69	M23-	51	Mašun	Snežnik - Grda draga	19.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)
70	M23-	59	Mašun	Snežnik - Grda draga	19.07.2023	hoja (zelena hojeva ušica)

2.8 VZPOSTAVITEV PROTOKOLOV ZA DOLOČANJE BOTANIČNIH IN MANINIH ELEMENTOV V MEDU

Ob nabiranju mane, nektarja in cvetnega prahu čebele iz okolja v panj prinašajo tudi ostanke organizmov. Med organizme, katerih DNK čebele prinašajo s seboj, med drugim sodijo številne rastlinske vrste in vrste iz reda polkrilcev (Hemiptera). Na tem temelji molekularna metoda za določanje botaničnih in maninih elementov v medu, pri kateri izoliramo celokupno DNK iz vzorca medu in na principu pomnoževanja specifičnih fragmentov in uporabe tehnologije druge generacije sekvenciranja (NGS) določimo celoten molekularni odtis medu.

Pristop DNK metabarcoding, uporabljen za določanje botaničnega in entomološkega izvora medu, temelji na identifikaciji vrst na podlagi medvrstnih razlik v kratkih regijah na njihovi DNK (Khansaritoreh in sod., 2020). Na podlagi podatkov, ki jih pridobimo v teh regijah, lahko določimo vse vrste, ki ustrezajo določenemu taksonu (Balachandran in sod., 2015).

DNK rastlin izvira iz ostankov zelenih in cvetnih delov rastlin, na katerih čebele nabirajo nektar. V medu je poleg DNK rastlin prisoten tudi **DNK kljunatih žuželk** iz reda polkrilcev, ki izločajo mano. Ta je v majhnih količinah prisotna v vseh vrstah medov, ne zgolj v maninih medovih.

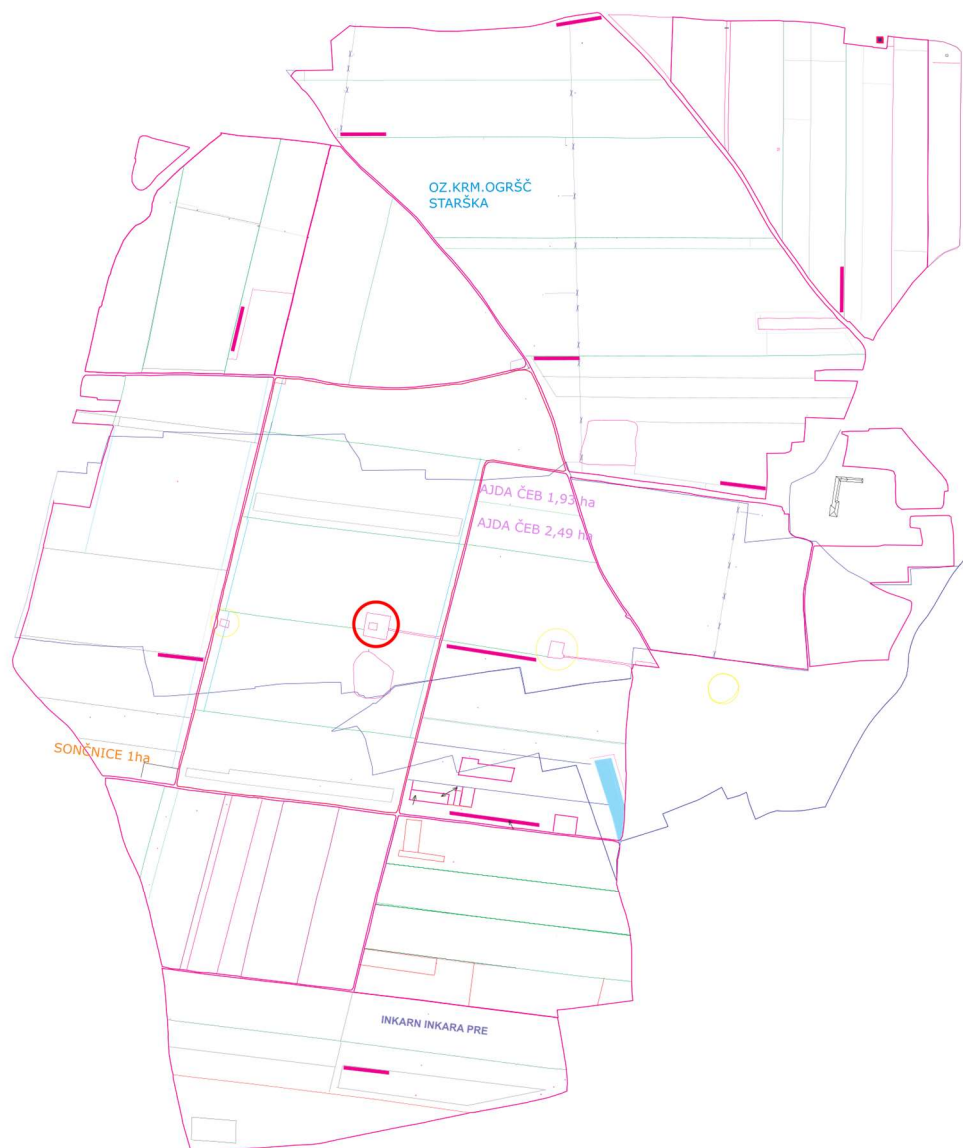
Za vzpostavitev protokolov za določanje botaničnih in maninih elementov v medu smo v letu 2022 (Poročilo: Moškrič in sod., 2022) na podlagi že objavljenih študij (Utzeri in sod., 2018; Prosser in Herbert) postavili molekularno metodo, ki smo jo optimirali in posamezne korake preizkusili na 6 vzorcih medu. V letošnjem letu smo se osredotočili na bioinformatični del analize, kjer je zaradi nepopolnih podatkovnih baz in specifik posameznih nukleotidnih zaporedij, velika potreba po dodatni optimizaciji. Poleg tega smo glede na lanske rezultate načrtovali dodatne oligonukleotidne začetnike za izboljšanje uvrščanja posameznih zaporedij v taksonomske enote.

Za obdelavo odčitkov smo uporabili program Torrent Suite v5.14.1 na Ion Torrent strežniku (Thermo Fisher Scientific Inc.). Kvaliteto pridobljenih rezultatov smo preverili z orodjem FastQC (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Za odstranitev začetnih nukleotidov v zaporedjih smo uporabili orodje Cutadapt (<https://cutadapt.readthedocs.io/en/stable/>). Uporabili smo ukaz "discard-untrimmed", s katerim smo odstranili zaporedja, ki niso vsebovala nobenega od uporabljenih začetnih nukleotidov. V naslednjem koraku smo z orodjem VSEARCH (<https://github.com/torognes/vsearch>) filtrirali zaporedja glede na njihovo kvaliteto. Ohranili smo samo tista zaporedja, ki imajo povprečno manj kot 1 pričakovano napako. Prav tako smo odstranili zaporedja, ki so se pojavila le enkrat (ang. singleton). V naslednjem koraku smo z orodjem VSEARCH izvedli gručenje (ang. clustering) podobnih sekvenc v operativne taksonomske enote (OTUs). V isti OTU smo združili zaporedja z vsaj 98 % ujemanjem. Z orodjem BLASTn (Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool) smo nato primerjali zaporedja dobljenih operativnih taksonomskih enot z zaporedji iz podatkovne zbirke GenBank. Imena taksonov smo dobljenim rezultatom pripisali s pomočjo orodja taxonomizr (<https://cran.r-project.org/web/packages/taxonomizr/vignettes/usage.html>).

2.9 OCENA GOSTOTE IN KONKURENČNOSTI MED ČEBELJIMI DRUŽINAMI, KI TEKMUJEJO ZA ISTI VIR

Na lokaciji Grobeljsko polje v čebelnjaku SI340788 (slika 9) smo deset družin opremili s tehnicami ter vremensko postajo. Spremljali smo jakost družin po standardnih metodah (količina zalege, živalnost). Teže panjev smo tarirali prvi dan poskusa. Pri vsakem posegu v panj (dodajanje medišča ipd...) smo upoštevali razliko v teži in ustrezno korigirali meritve. Gledali smo spremembo teže družine tekom poskusa.

Število čebeljih družin v 3 km krogu smo pridobili iz registra čebeljih družin, število družin v 1 km krogu pa smo pridobili z navzkrižno referenco z uporabo MKGP GRK in registra čebeljih družin.



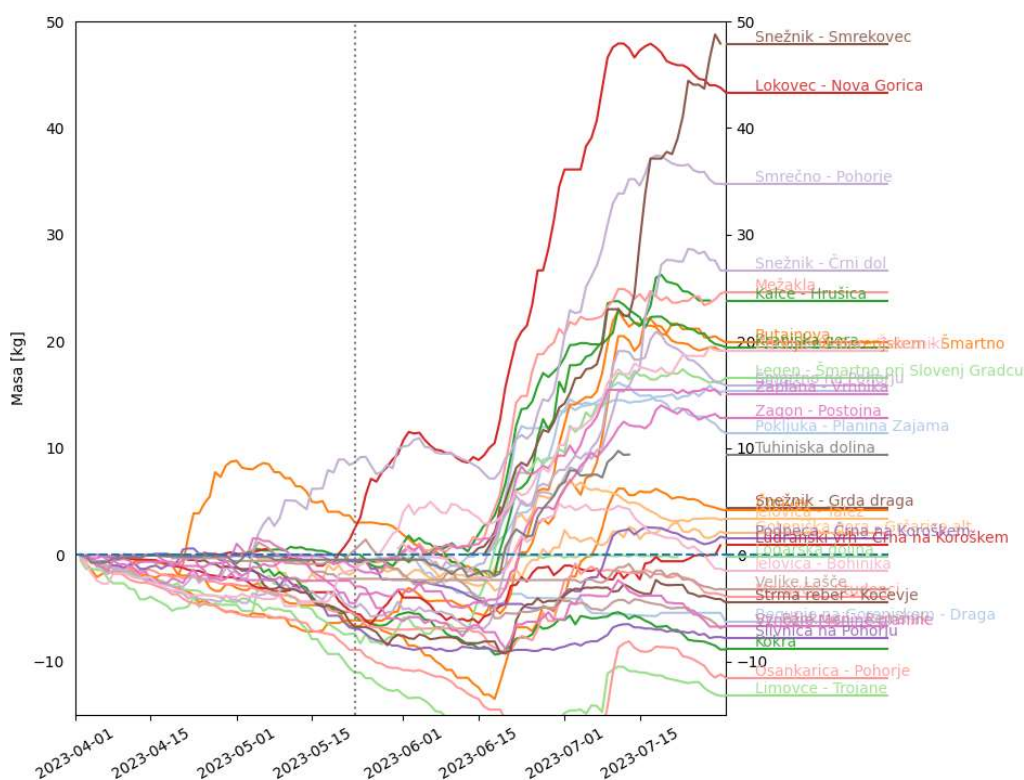
Slika 9. Grobeljsko polje. Z rdečim krogom je označena lokacija čebelnjaka v poskusu SI340788. Posevki, zanimivi za čebele, so označeni z barvami, od tega je bilo v letu 2023 4,42 ha ajde (vijolično) in 1 ha sončnice (oranžno).

3 REZULTATI

3.1 UGOTAVLJANJE MEDENJA NA OBMOČJIH Z VIŠJO NADMORSKO VIŠINO NA NOVIH OPAZOVALNIH POSTAJAH

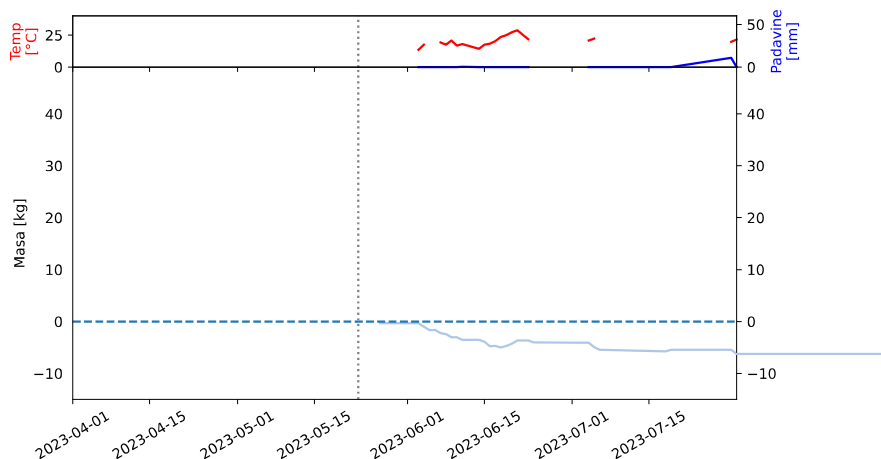
3.1.1 Donos medu, temperatura, vlaga, veter in padavine

Z nekaj redkimi izjemami je bilo večina lokacij v prvem mesecu izvajanja raziskave globoko v rdečih številkah (23. 5. 2023). Izjemi sta bili Lokovec - Nova Gorica in Smrečno Pohorje, ki sta na koncu zaključili kot druga in tretja najbolj donosna lokacija. Podatke smo obdelali sicer za daljše obdobje - od 1. 4. 2023, vendar je slika podobna. Merjenje je končalo s pozitivno bilanco 30 od 35 postaj; Znotraj obdobja izvajanja raziskave je imelo negativne donose 10 od 35 postaj. Največ je pridobila lokacija Snežnik - Smrekovec, ki je bila vklopljena v sredini junija, ko se so se vremenske razmere stabilizirale, in pri kateri je bil končni prirastek h teži panja 47.9 kg. Največja izguba je bila zabeležena na lokacijah Limovce - Trojane (-17.4 kg) in Osankarica - Pohorje (-17.8 kg). Pri štirih postajah lahko v grobem ločimo dve paši: Smrečno - Pohorje, Lokovec - Nova Gorica, Cerklje na Gorenjskem in pogojno Zgornje Danje - Železniki. Pregled donosov skupaj je predstavljen na sliki 10.



Slika 10. Pregled donosov preko relevantnega obdobja (1. 4. 2023 - 31. 7. 2023). Siva črta označuje formalni začetek naloge (23. 5. 2023).

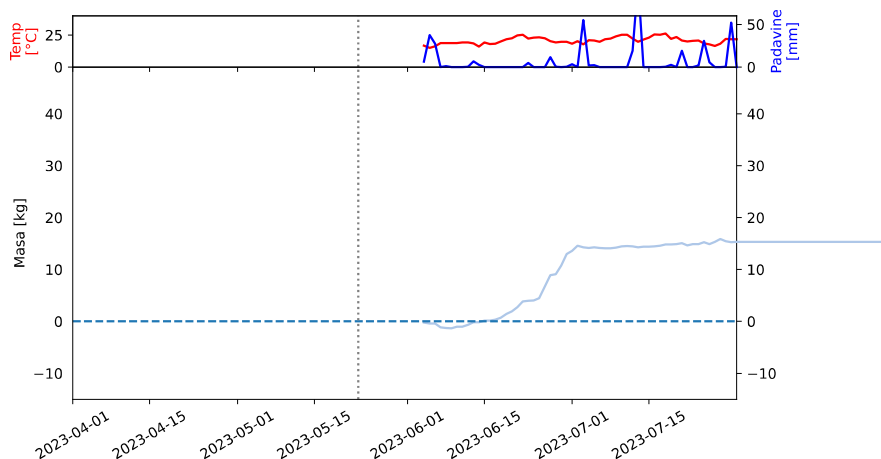
3.1.1.1 Begunje na Gorenjskem - Draga



Slika 11. Donosi na lokaciji Begunje na Gorenjskem - Draga (847 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija je letošnje merjenje zaključila s negativno bilanco. Vremenske razmere s pogostim dežjem in vetrom so povzročile slabo medenje in izkoriščanje rastlin. Povzročiteljev medenja na smreki tudi v letošnjem letu tu nismo beležili.

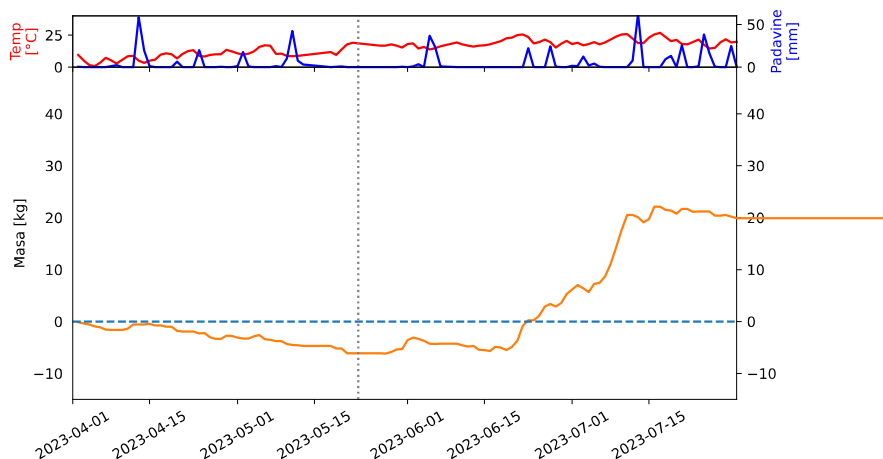
3.1.1.2 Bovec



Slika 12. Donosi na lokaciji Bovec (488 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Bovec je v drugem letu spremljanja donosov prikazala pričakovano sliko. Graf lepo prikazuje donose v času lipov paše. Glede na zelo razgiban teren je lipa cvetela daljši čas skoraj mesec dni. Poleg tega, da je padavin v tem času bilo veliko. Ob posameznem merjenju tudi preko 50 mm.

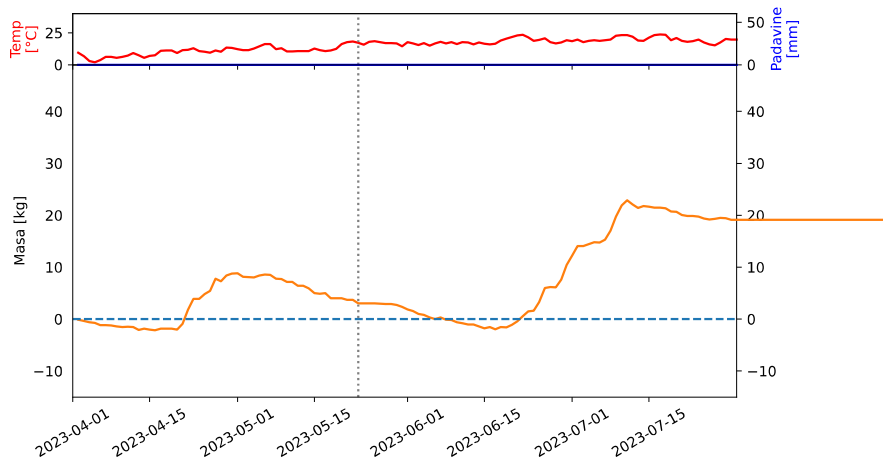
3.1.1.3 Butajnova - Planina nad Horjulom



Slika 13. Donosi na lokaciji Butajnova - Planina nad Horjulom (762 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Butajnova je tudi drugo leto delovanja pokazala, da kljub neugodnemu vremenu s pogostimi padavinami lahko omogoči pašo. Tokrat je bil pozitiven donos predvsem na račun kostanja, ki je na tem območju zastopan v veliki meri. Poleg kostanja je tu v manjši meri prisotna tudi hoja, ki je gostila uši, katere so izločale mano.

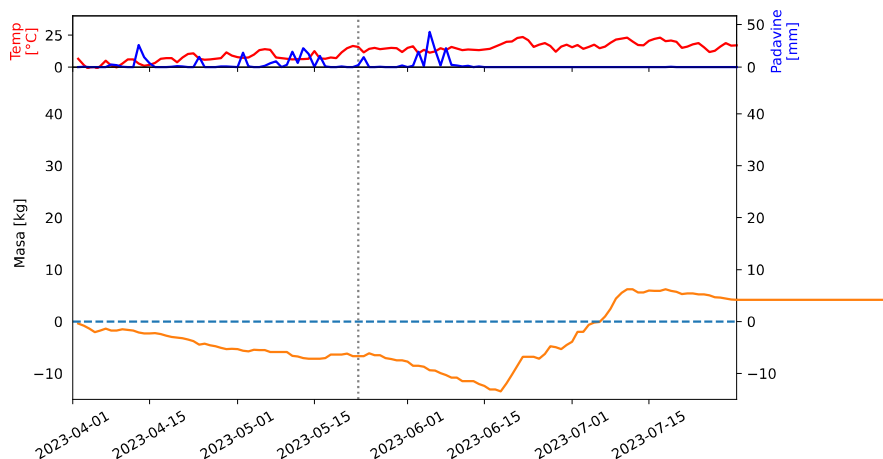
3.1.1.4 Cerklje na Gorenjskem - Šmartno



Slika 14. Donosi na lokaciji Cerklje na Gorenjskem - Šmartno (442 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Graf prikazuje dva vrhova, prvi vrh je bil v času cvetenja javorja. Kljub temu, da je letos javor imel manj cvetja je na tej lokaciji omogočil pozitiven donos in se je tehnica dvignila za 10 kg. Drugi vrh je bil zabeležen v času cvetenja lipe, ki je imela veliko cvetja in omogočila dvig teže panja za 22 kg.

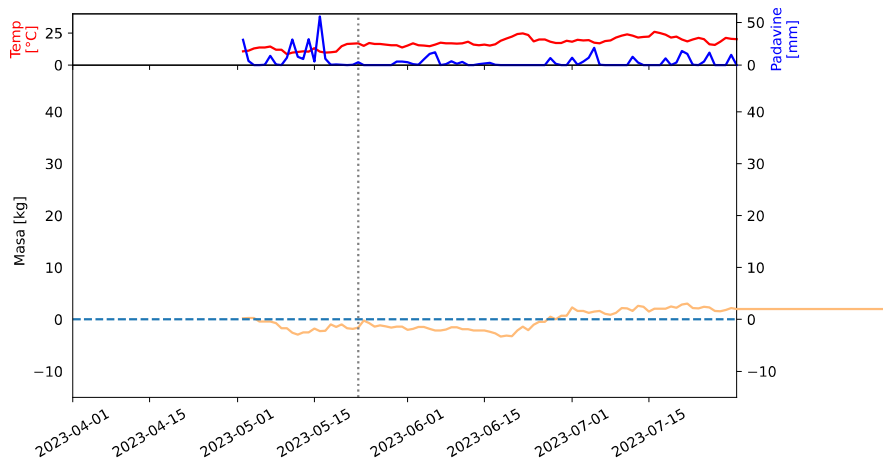
3.1.1.5 Črnivec



Slika 15. Donosi na lokaciji Črnivec (1115 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Črnivec je letos večji del sezone beležila negativne donose. Prve pozitivne donose smo beležili v prvem tednu julija, ko je zacvetela robida, ki se je razrasla po vetrolomu leta 2014 in je še vedno dobro prisotna.

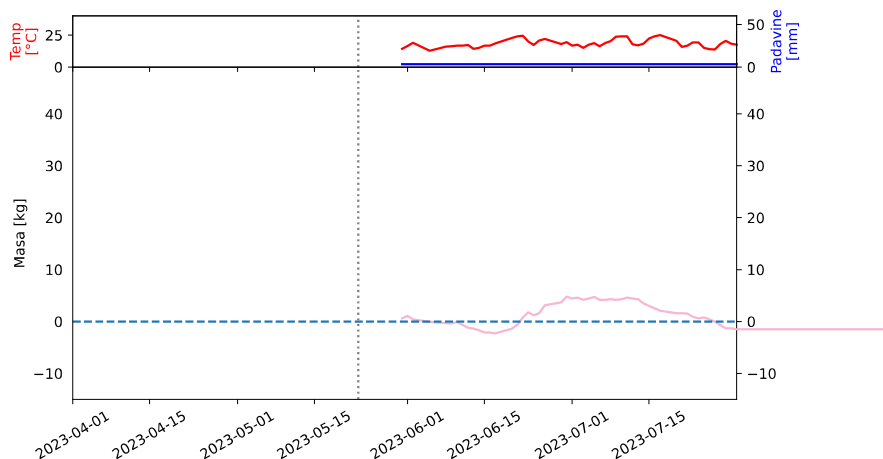
3.1.1.6 Grčarice - Goteniška gora



Slika 16. Donosi na lokaciji Grčarice - Goteniška gora (567 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Slabe vremenske razmere so se odražale tudi na lokacije Grčarice - Goteniška gora. Donosov vse do lipove paše nismo beležili. Šele lipa je omogočila rahlo pašo in dvig teže panja za 3 kg.

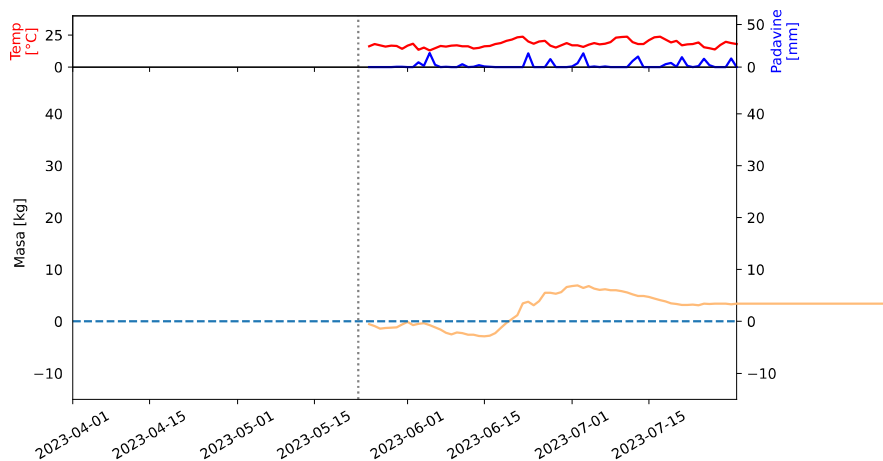
3.1.1.7 Jelovica - Bohinjka



Slika 17. Donosi na lokaciji Jelovica - Bohinjka (1351 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Jelovica - Bohinjka je ena zanimivejših, saj je nameščena najvišje izmed vseh postaj. Donose na tej lokaciji je ponudil le gozdna podrast predvsem maline in robide. Kljub temu je sezono zaključila z negativno bilanco.

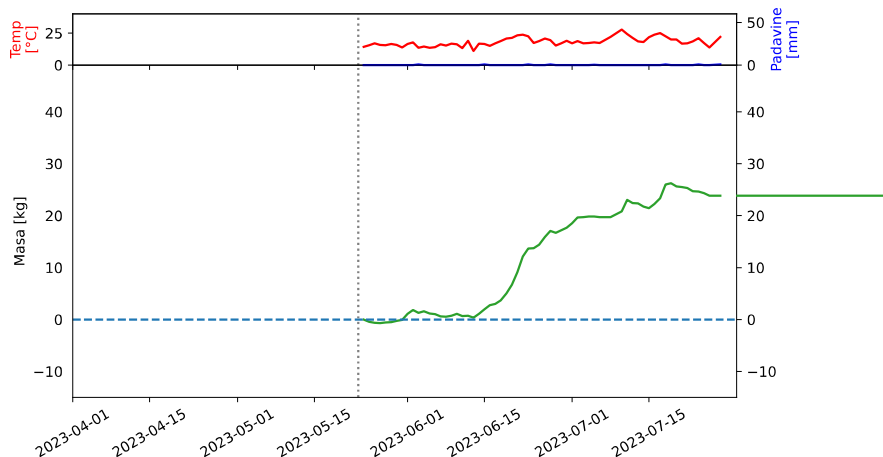
3.1.1.8 Jelovica - Talež



Slika 18. Donosi na lokaciji Jelovica - Talež (786 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Boljše donose smo letošnje leto beležili na lokaciji Jelovica - Talež, ki je nameščena nižje kot lokacija Jelovica – Bohinjka. Čebele so uspel nekoliko bolje izkoristi javor ter gozdno podrast. Zaključek sezone je zaključila s pozitivnim donosom in sicer 3,38 kg.

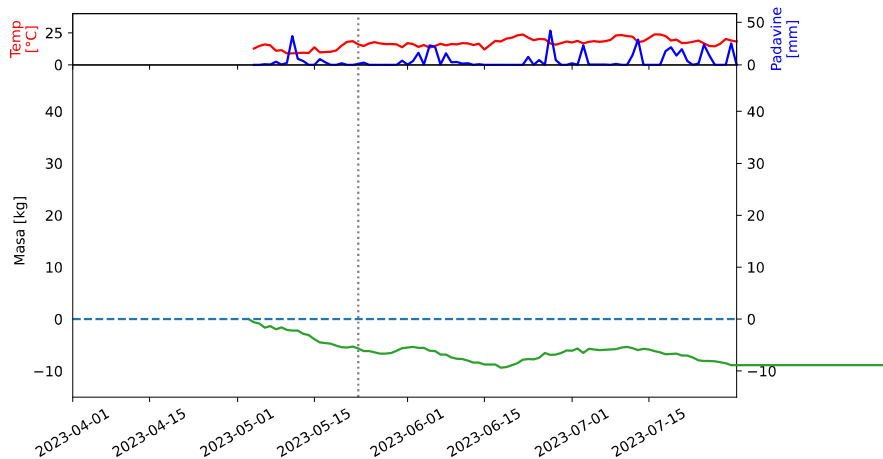
3.1.1.9 Kalce - Hrušica



Slika 19. Donosi na lokaciji Kalce - Hrušica (794 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Kalce - Hrušica je lokacija, ki je tudi v letošnjem letu beležila dobre donose. Tudi na tem območju je lipa dobro zastopana. Začetek njenega cvetenja sovpada s pozitivnimi donosi. Poleg lipe je na tem območju izločala tudi hoja, predvsem zaradi zelena hojeva ušica, ki se je uspela zadovoljivo razviti. Njeno izločanje je prekinilo močno deževje v drugi polovici julija, ko je tehtnica začela stagnirati.

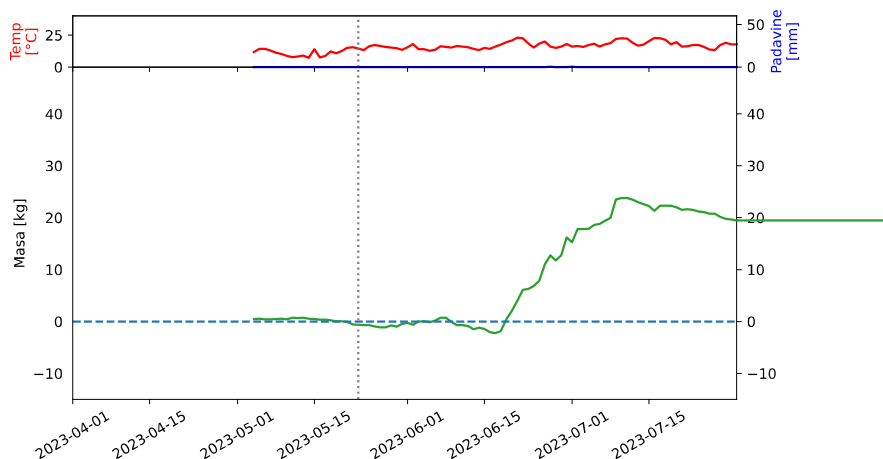
3.1.1.10 Kokra - Preddvor



Slika 20. Donosi na lokaciji Kokra - Preddvor (720 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Kokra – Preddvor je lokacija, ki je lani beležila dobre donose preko 16 kg. Letos ob slabem cvetenju javorja in pogostih padavin pa pozitivnega donosa ni beležila. Teža panja na tehtnici je med spremljanjem padla za – 8,85 kg.

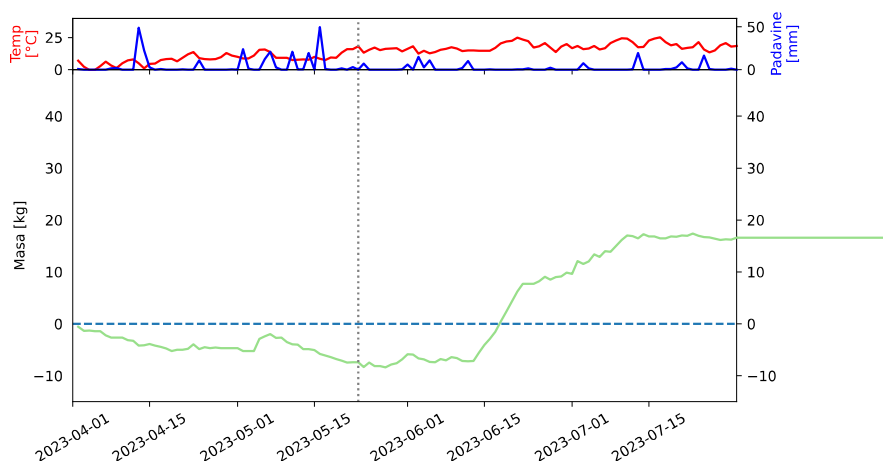
3.1.1.11 Kranjska gora



Slika 21. Donosi na lokaciji Kranjska Gora (893 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacije Kranjska Gora je lokacija, ki je že drugo leto po spremljanju donosov presenetila. Pozitivne donose smo beležili vse od 18. junija naprej. Tudi tu je za donose predvsem zaslužena lipa. Tehnica se je v času njenega cvetenja dvignila preko 20 kg. Poleg same lipe smo beležili povzročitelje medenja tudi na smreki. Predvsem so bile prisotne sivozelene smrekov uši, katerim za enkrat ne pripisujemo večjega učinka na donose medu v panj, saj jih čebele ne obiskujejo in koristijo njihove mane.

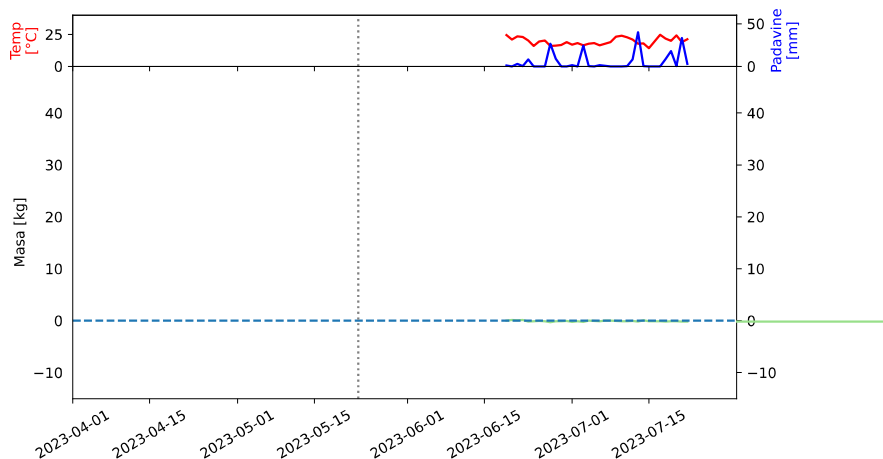
3.1.1.12 Legen - Šmartno pri Slovenj Gradcu



Slika 22. Donosi na lokaciji Legen - Šmartno pri Slovenj Gradcu (920 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Legen - Šmartno pri Slovenj Gradcu je letos v primerjavi z lanskim letom beležila pozitivno stanje. Tudi pri tej lokacije predvsem zaradi medenja lipe. Zagotovo bo potrebno spremljati stanja v daljšem obdobju, ko bo tudi razvoj povzročiteljev medenja na smreki boljši.

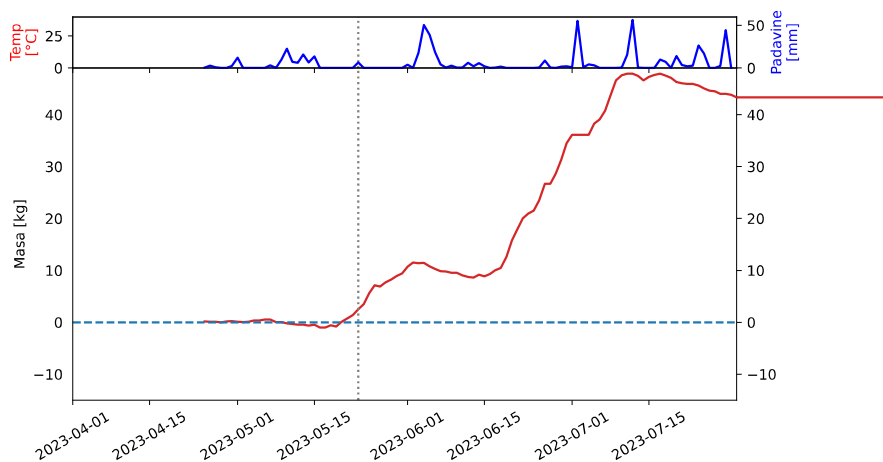
3.1.1.13 Logarska dolina



Slika 23. Donosi na lokaciji Logarska dolina (804 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Logarska dolina je ena izmed lokacij, ki ji nikoli nismo posvečali večje pozornosti, je pa zaradi svoje lege in vegetacije lahko zelo zanimiva. Kljub neugodnemu vremenu so čebele uspele nabrati dovolj za pokrivanje dnevnih potreb. Teža panja je bila v času merjenja vseskozi izravnana. Največji pašni vir predstavlja smreka, zato bomo na boljše donose morali še počakati.

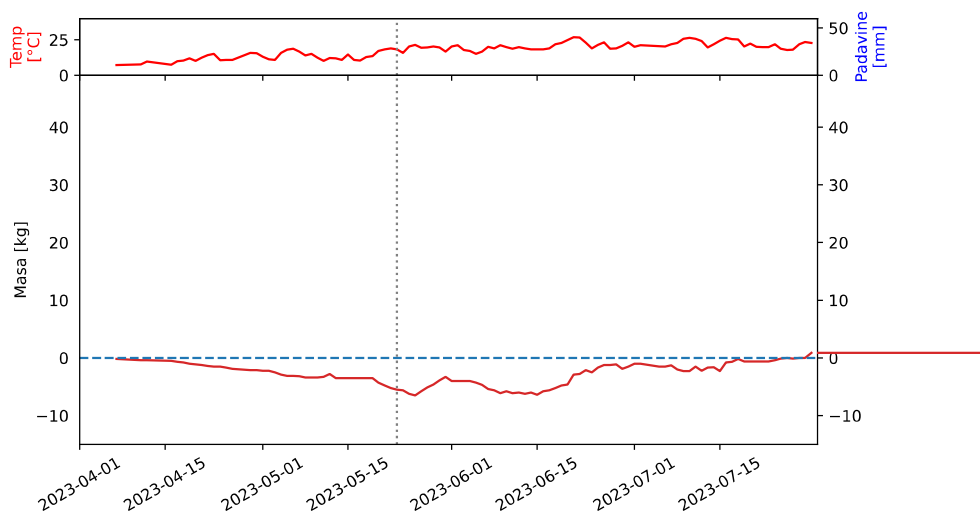
3.1.1.14 Lokovec - Nova Gorica



Slika 24. Donosi na lokaciji Lokovec - Nova Gorica (958 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Lokovec – Nova Gorica je lokacija, kjer smo že drugo leto zapored beležili zelo dobre donose. Prvi vrh je dosegla v začetku junija v času cvetenja javorja, ki je kljub manjšemu številu cvetov dobro medil. Drugi podaljšan vrh je bil v času cvetenja lipe, katera je zaradi razgibanosti terena omogočala pašo, ki je potekal 25 dni. Končni donos na tej lokaciji je bil 39,76 kg.

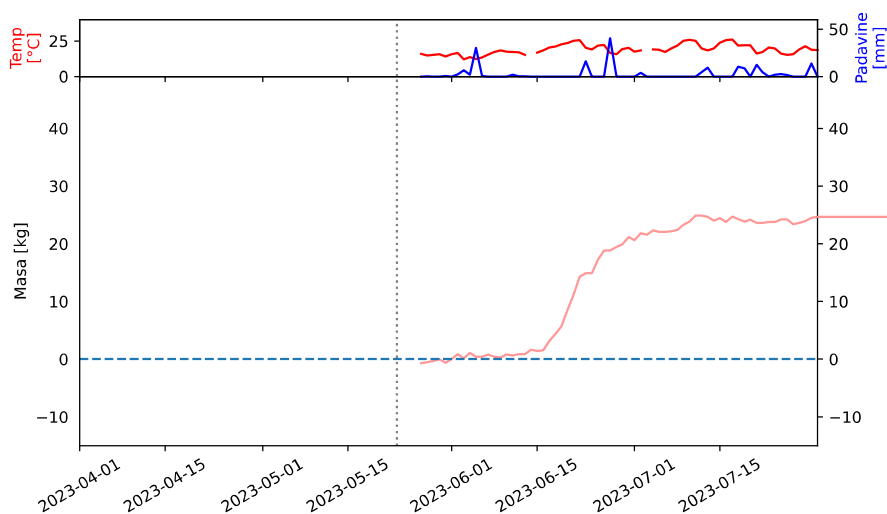
3.1.1.15 Ludranski vrh - Črna na Koroškem



Slika 25. Donosi na lokaciji Ludranski vrh - Črna na Koroškem (1087 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Ludranski vrh - Črna na Koroškem je ena najhladnejših leg izmed 35 opazovalnih postaj. Glede na letošnje vremensko stanje je bilo pričakovano, da bo medenje rastlin zelo slabo, kar se sedaj tudi vidi na grafu. Na tem območju prevladuje smreka, zato si dobrih donosov ometamo v času, ko se bodo uspeli razviti povzročitelji medenja na njej.

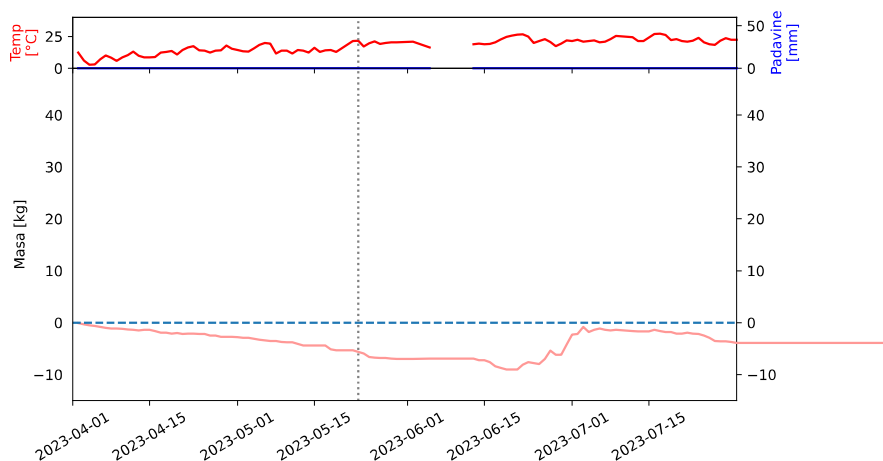
3.1.1.16 Mežakla



Slika 26. Donosi na lokaciji Mežakla (1087 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Tudi lokacija Mežakla je ena izmed tistih, ki je letos pozitivno presenetila. Nismo pričakovali tako konstantnega pozitivnega donosa. Kot prvi je bil za donose zaslužen javor. Kasneje so prispevale donose tudi ušice na smreki, kjer smo jih beležili več kot na ostalih lokacijah. V času prve polovice julija je bila za donose bila zaslužna gozdna podrast, predvsem malina in robida, ki na območjih kjer so bili izvedeni goloseki prevladuje v podrasti.

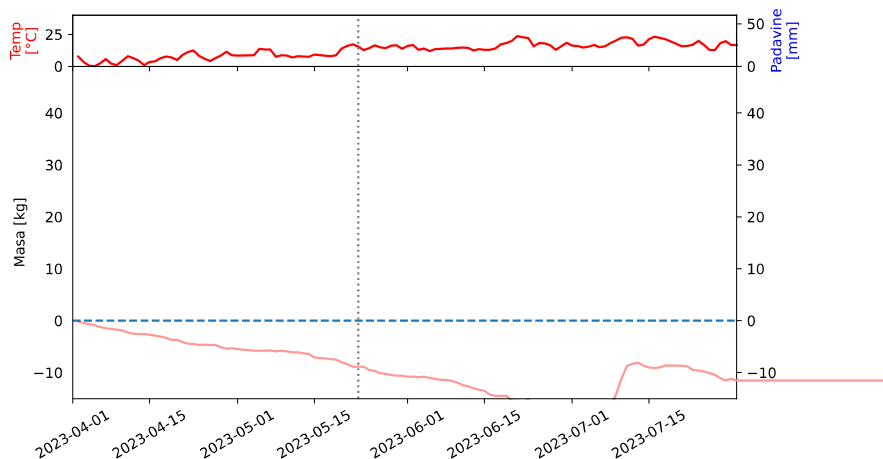
3.1.1.17 Moravče - Studenci



Slika 27. Donosi na lokaciji Moravče - Studenci (613 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Moravče - Studenci spada med nižje ležeče lokacije. Poleg javorja je v največji meri tu prisoten kostanj. Za čas njegovega cvetnja se je teža panja dvignila, vendar zaradi pogostih padavin ne dovolj, da bi krivuljo donosov premaknil nad pozitivno stanje. Tehnica je ob koncu merjenja pokazala – 6,50 kg.

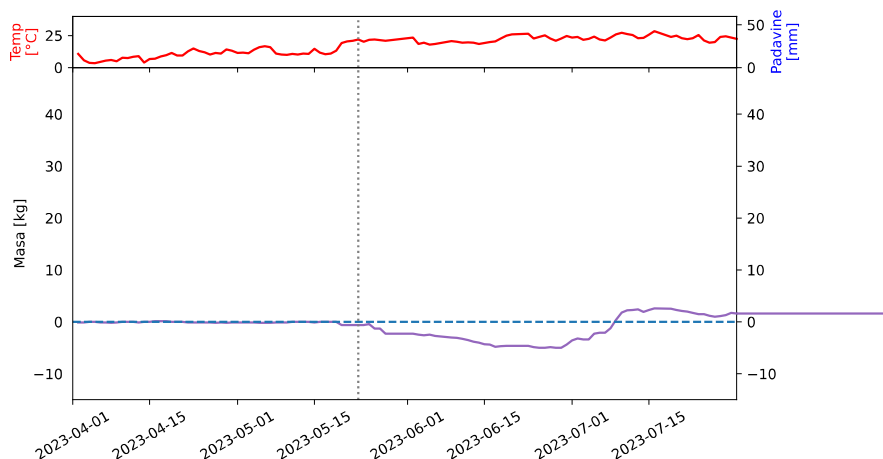
3.1.1.18 Osankarica - Pohorje



Slika 28. Donosi na lokaciji Osankarica - Pohorje (1243 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Osankarica – Pohorje nam je največ težav povzročala zaradi slabega omrežja in podatkov ni pošiljala, zato smo stanje preverjali ročno. Vendar je teža panja na tehnici skozi celoten čas merjenja padala.

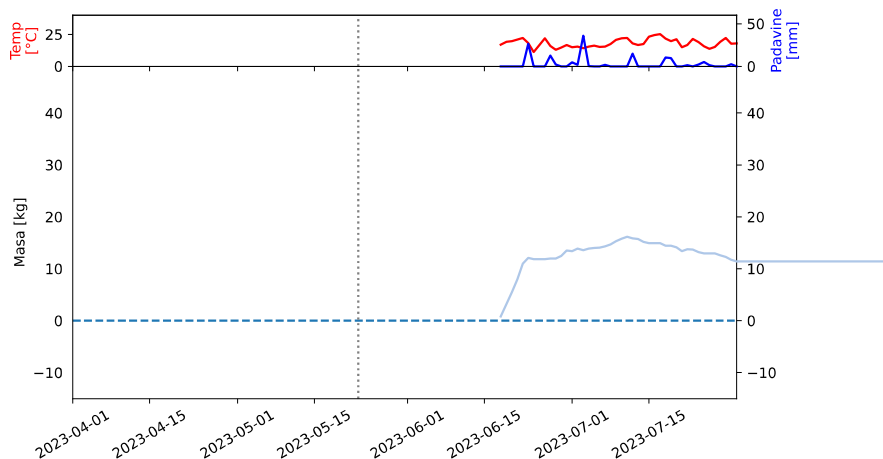
3.1.1.19 Podpeca - Črna na Koroškem



Slika 29. Donosi na lokaciji Podpeca - Črna na Koroškem (929 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Podpeca - Črna na Koroškem je lokacija kjer prevladuje smreka. Zaradi slabega števila cvetov na javorju donosov iz tega vira nismo beležili. Iz grafa je razvidno, da je nekaj malih donosov ponudila lipa, kar je bilo dovolj za pozitiven zaključek merjenja.

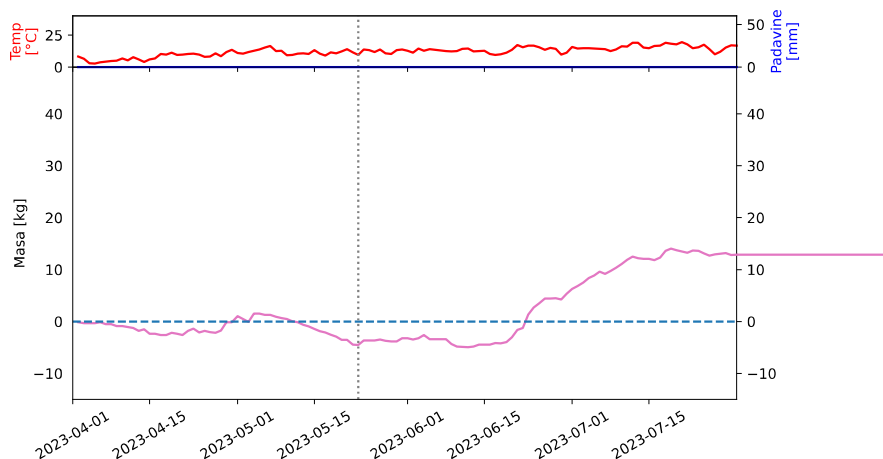
3.1.1.20 Pokljuka - Planina Zajama



Slika 30. Donosi na lokaciji Pokljuka - Planina Zajama (1100 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Pokljuka – Planina Zajama je lokacija, ki je letos pozitivno presenetila. Zaradi velike količine dežja je gozdna podrast tudi tu izredno dobro medila. Zaradi izredno hladne doline, kjer se je sneg obdržal vse do začetka junija je tudi razvoj rastlin temu primerno kasnil in smo prve donose beležili šele od 15. junija dalje. Na tem območju je v največjem deležu prisotna smreka, ki je letos gostila posameznega velikega in malega kaparja, kar je obetajoča napoved za prihodnje leto.

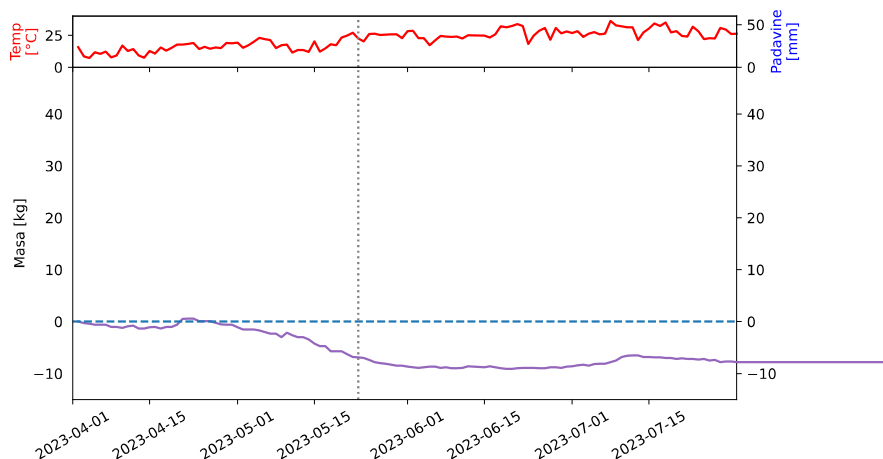
3.1.1.21 Postojna - Zagon



Slika 31. Donosi na lokaciji Postojna - Zagon (1027 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Glede na letošnje razmere smo solidne donose beležili tudi lokacija Postojna – Zagon. Predvsem je bila za odnose zaslužna lipa. Lokacija je zaključila sezono s pozitivnim donosom 9,27 kg.

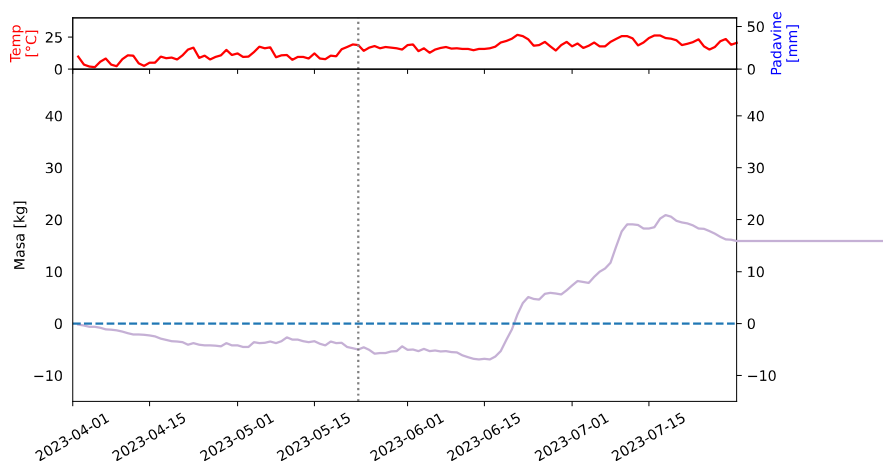
3.1.1.22 Slivnica na Pohorju



Slika 32. Donosi na lokaciji Slivnica na Pohorju. (475 m.n.m) Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Slivnica na Pohorju letos ni beležila donosov. To je ena izmed lokacij, kjer prevladuje kostanjeva paša kateri je letos na tem območju izredno slabo medili. Je pa poleg kostanja tu še vedno dobro zastopana tudi smreka, zato bo zanimivo lokacijo spremljati tudi v prihodnje.

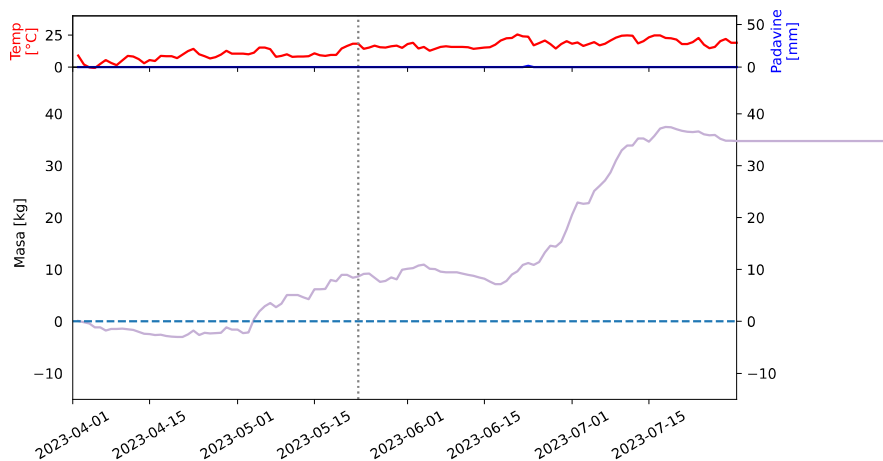
3.1.1.23 Šmartno - Pohorje



Slika 33. Donosi na lokaciji Šmartno - Pohorje (807 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Šmartno - Pohorje je pa lokacije kjer tudi prevladuje kostanjeva paša. Ob primerjavi s Slivnico na Pohorju so bili donosi v času cvetenja kostanja boljši. Vrh medenja je bil 18. Julija, ko je teža panja presegla 20 kg.

3.1.1.24 Smrečno - Pohorje

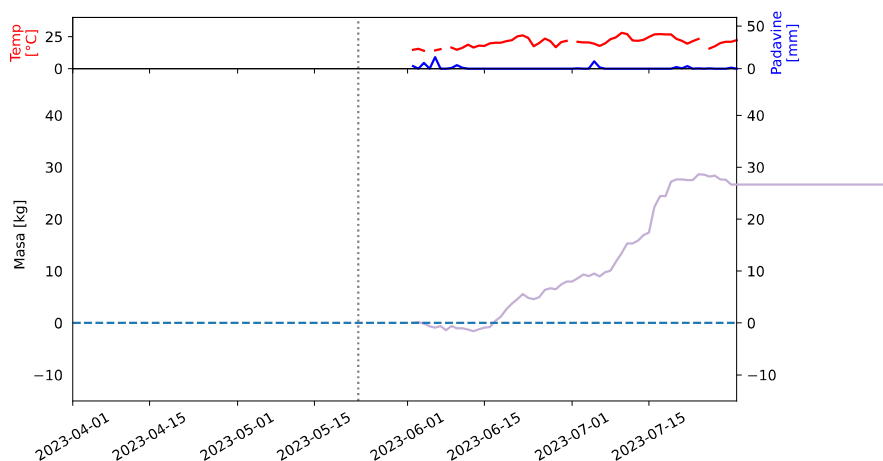


Slika 34. Donosi na lokaciji Smrečno - Pohorje (1054 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Smrečno - Pohorje je lokacija, ki je letos pozitivno presenetila. Prve donose je ponudil javor kasneje za drugi vrh pa sta bil zaslužena lipa in kostanj. Ocenjujemo, da je donose omogočala tudi gozdna podrast in travniki, ki so na tem območju še zelo ekstenzivni. Poleg teh rastlin smo na tem območju beležili tudi uši na

smreki in jelki. Uši na jelki so z izločanjem začele ravno po koncu cvetenja lipe, vendar je močno deževje uničilo uši na hoji.

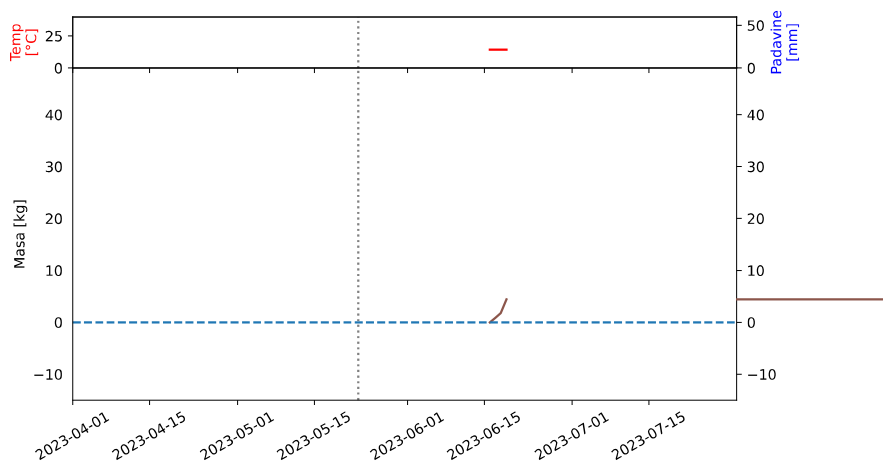
3.1.1.25 Snežnik - Črni dol



Slika 35. Donosi na lokaciji Snežnik - Črni dol (1116 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Črni dol je ena iz med treh tehtnic na območju Snežnika. Letošnje leto je Snežniško območje beležilo dobre donose medu. Poleg javorjeve paše smo beležili uši na smreki in jelki. Na smreki se je dobro razvila rdečerjava smrekova ušica, ki lahko povzroča kristalizacijo medu. Tudi tokrat smo beležili rahlo kristalizacijo, ki pa ni bila tako izrazita, da bi med zastajal v satju. V drugi polovici julija, ko smo beležili pozitivno stanje tehtnic pa je začela izločati zelena hojeva ušica. Lokacija je zaključila sezono s pozitivnim donosom 24,17 kg.

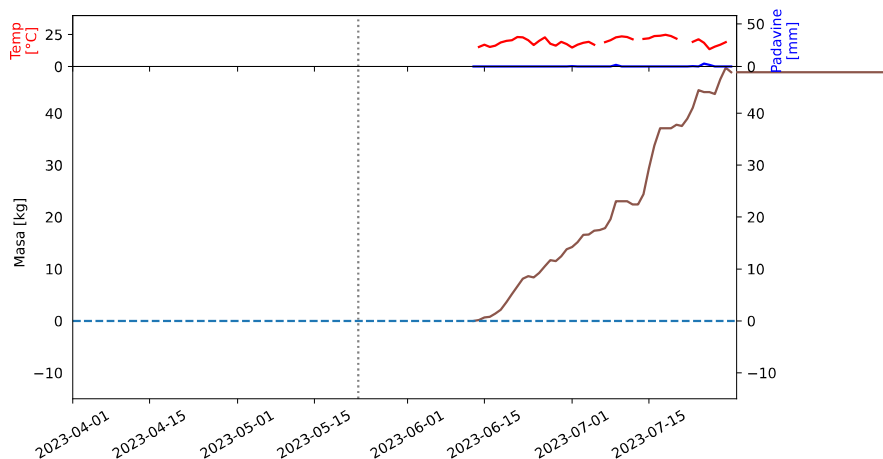
3.1.1.26 Snežnik - Grda draga



Slika 36. Donosi na lokaciji Snežnik - Grda draga (1224 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Snežnik - Grda draga v letošnjem letu skoraj ni poročala. Razlog je bil napad medveda, ki je kar dvakrat dodobra poškodoval tehtnico, panj in čebeljo družino. Glede na to, da sta preostali dve tehtnici na območju Snežnika kazali lepe donose lahko sklepamo, da bi enako stanje imela tudi ta lokacija. V prihodnji sezoni bomo tehtnico in panj ponovno namestili v upanju, da jo medved pozabi. Izkazalo se je, da je letos smreka gostila različne povzročitelje medenja na smreki (veliki, mali kapar, sivozelena smrekova ušica), ki se lahko pojavijo tudi prihodnje leto.

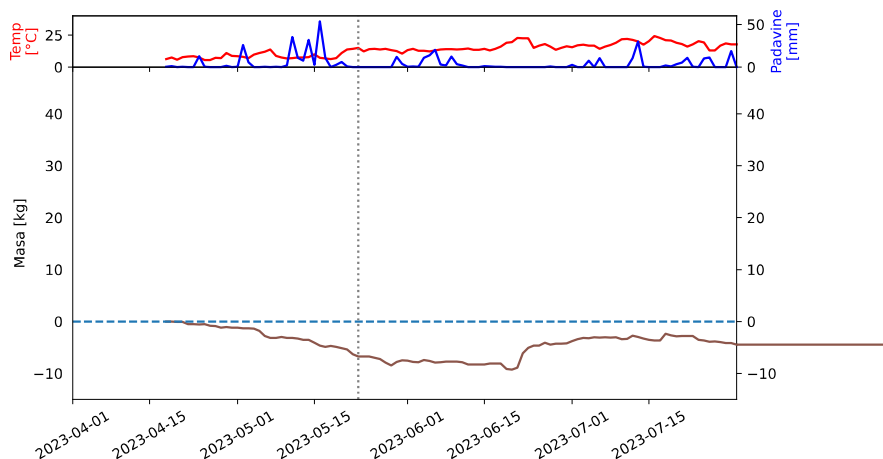
3.1.1.27 Snežnik - Smrekovec



Slika 37. Donosi na lokaciji Snežnik - Smrekovec (1204 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Smrekovec je letos lokacija, na kateri smo beležili rekorden donos. Kot prvi je dobro medil javor, skoraj sočasno z njim pa je medila tudi smreka. Smo ob prvem točenju beležili rahlo kristalizacijo medu že v satju, tako je nekaj medu ostalo v satju in ga nismo mogli iztočiti. Med, ki je ostal se je lahko iztočil ob naslednjem točenju, ko je izločala zelena hojeva uš, katera je vztrajala vse do prvih dni avgusta in takratnih hudih neviht. Lokacija je zaključila sezono s rekordnim donosom 46,44 kg.

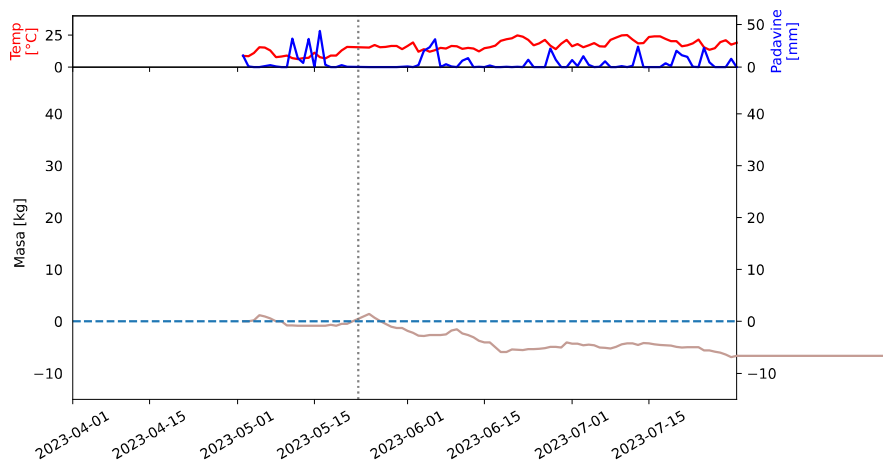
3.1.1.28 Strma reber - Kočevje



Slika 38. Donosi na lokaciji Strma reber - Kočevje (1050 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Strma reber - Kočevje je postavljena na meji med Kočevjem in Osilnico. Na tem območju predvsem prevladuje hojeva in smrekova paša. Glede na letošnje vreme donosov nismo beležili in je sezono zaključila v negativnem stanju - 7,43 kg.

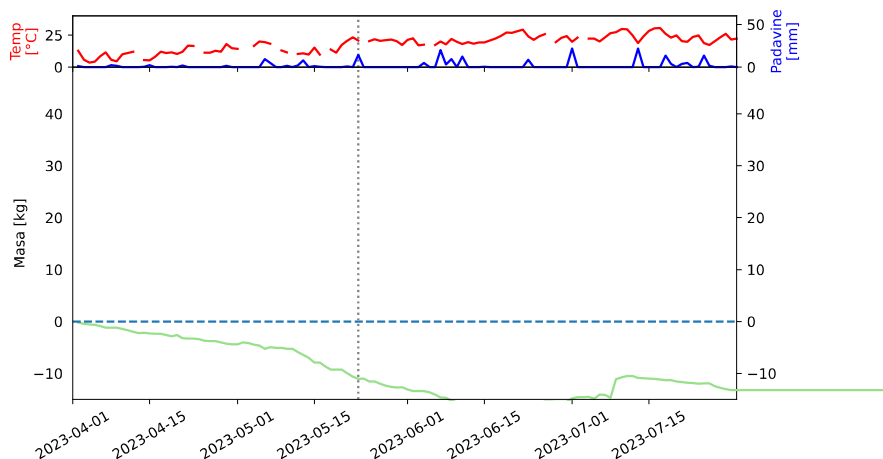
3.1.1.29 Sv. Pankracij - Remšnik



Slika 39. Donosi na lokaciji Sv. Pankracij - Remšnik (900 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija je blizu avstrijski meji. Na območju, ki ga pokriva raste več vrst medovitih rastlin poleg javorja in smreke je prisoten tudi kostanj in hoja. Letošnje leto donosov na tej lokaciji nismo beležili.

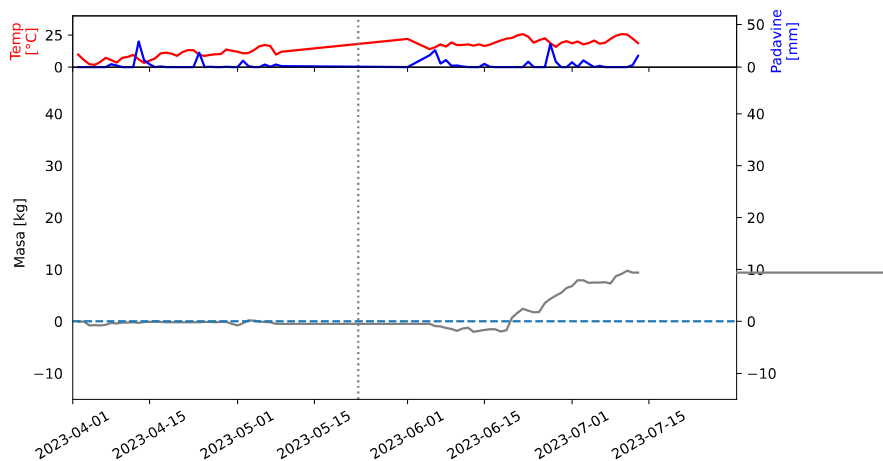
3.1.1.30 Trojane - Limovce



Slika 40. Donosi na lokaciji Trojane - Limovce (710 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija je v lanskem letu pokazala velik potencial, ko je dobro cvetel javor in tudi obilo medil. V letošnji sezoni je bila slika popolnoma drugačna, javor cvetov skoraj ni imel. Prav tako je zelo slabo medil kostanj in je tehcnica zaključila sezono krepko v negativnih številkah. To je bila lokacija z najslabšim donosom kar – 16,44 kg.

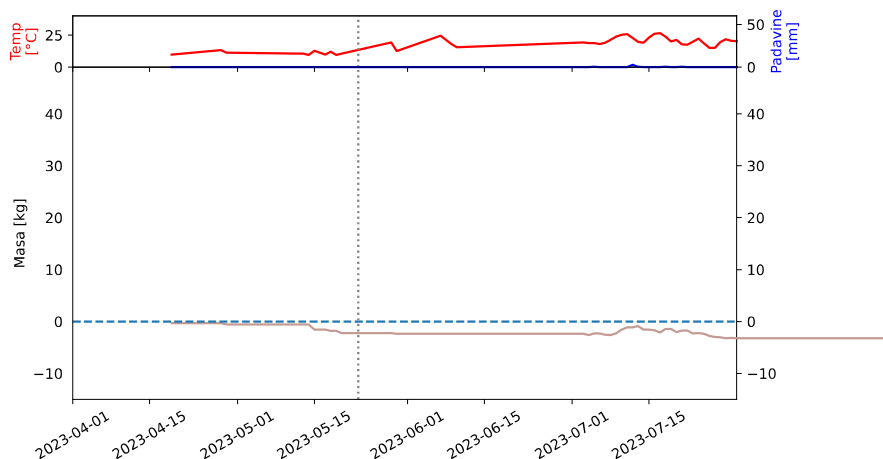
3.1.1.31 Tuhinjska dolina



Slika 41. Donosi na lokaciji Tuhinjska dolina (435 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija Tuhinjska dolina se nahaja na zahodni strani pod Menino planino. Zaradi napada podlubnika so veliko smreke izsekali in je njen delež sedaj majhen; predvsem prevladujeta paša na javorju in lipi, ki sta letos omogočila pašo in tudi donose do 10 kg.

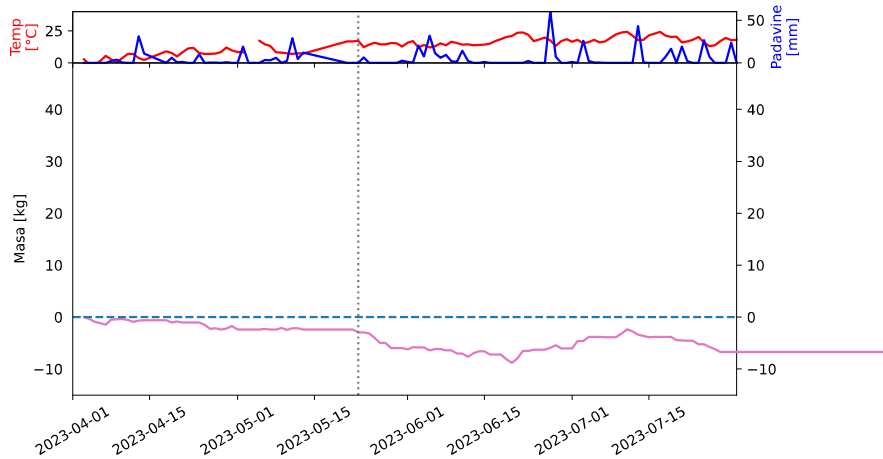
3.1.1.32 Velike Lašče



Slika 42. Donosi na lokaciji Velike Lašče 635 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Na lokacija Velike Lašče smo v letošnjem letu pričakovali boljše donose predvsem v času javorjeve paše, ki je na tem območju dobro zastopan. Nekoliko boljši donosi smo beležili v času cvetenja kostanja, vendar je vztrajni dež spiral že tako občutljive cvetove. Znake prisotnosti povzročiteljev medenja je izkazovala tudi hoja vendar je pogosto močno deževje razvoj uši prekinilo in paše ni tem viru ni bilo.

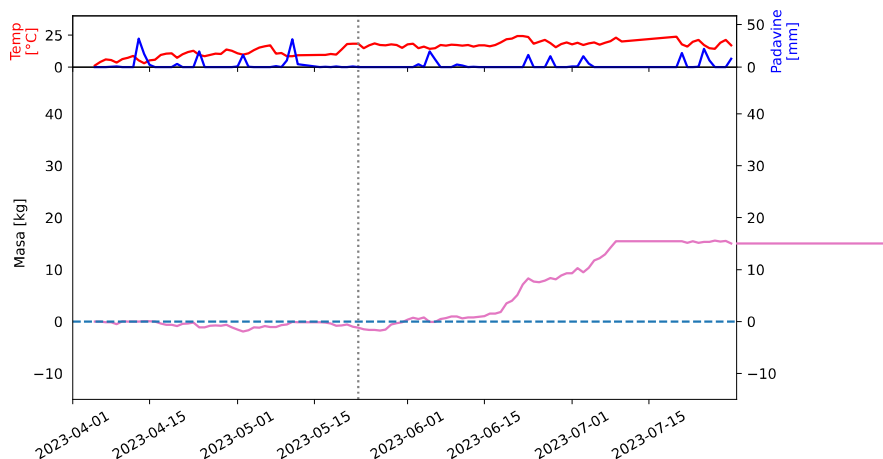
3.1.1.33 Vznožje Menine planine



Slika 43. Donosi na lokaciji Vznožje Menine planine (635 m.n.m). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Ta lokacija se nahaja v vzhodnem delu vznožja Menine planine, kjer v lesnem sestoju še vedno prevladuje smreka. Letošnje leto drugih virov nismo beležili in je lokacija končala močno v negativnem stanju.

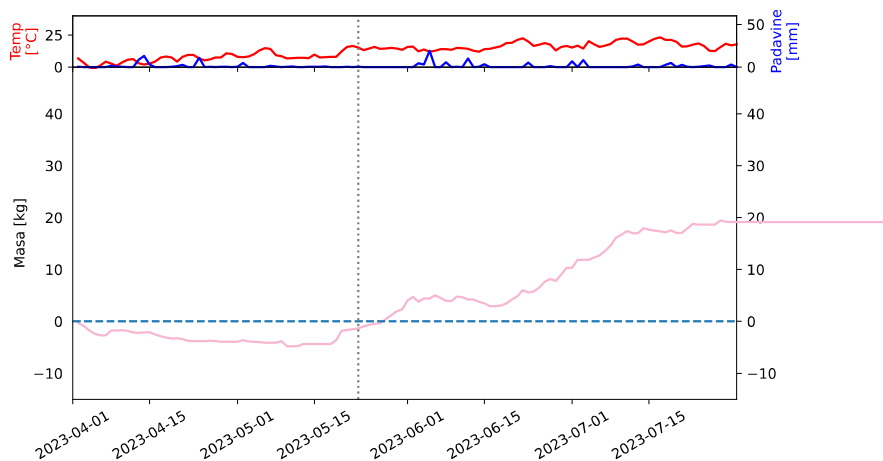
3.1.1.34 Zaplana - Vrhnika



Slika 44. Donosi na lokaciji Zaplana - Vrhnika (671 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Zaplana - Vrhnika je lokacija, ki je najbližja Ljubljanski kotlini in ima v lesnem sestoju različne drevesne vrste, kar predstavlja večjo pestrost in boljše pogoje za čebeljo pašo, kar se je letos pokazalo tudi na donosu. Končni donos je kljub slabemu vremenu znašal skoraj 15 kg.

3.1.1.35 Zgornje Danje - Železniki



Slika 45. Donosi na lokaciji Zgornje Danje - Železniki (1126 m.n.m.). Z rdečo črto so prikazane temperature, z modro količina padavin. Siva črta označuje formalni začetek naloge.

Lokacija se nahaja na zahodni strani Ratitovca nad Železniki. Tudi tu v gozdu prevladuje smreka. Poleg nje je iz vidika čebelarstva dobro zastopan javor. Lokacija je zanimiva tudi zaradi travnih površin, ki se pozno kosijo in visokodebelnih sadnih drevesnih vrst, ki so se v tej osamljeni vasici dobro ohranili. Letošnje leto je lokacija

zaključila v boljšem stanju kot lani. Predvsem na račun lipe in gozdne podrasti. Na posameznih mestih smo tudi opazili obe vrsti kaparja, ki sta zagotovo pripomogla k celokupnemu donosu.

3.1.2 Vizualno spremljanje povzročiteljev medenja v okolici opazovalnih postaj glede na razpoložljivost medenja

V okviru vizualnega spremljanja povzročiteljev medenja se je izvajal pregled terena, kjer smo opazovali prisotnost ušic in kaparjev. Opazovali smo tudi znake pokapanosti podrasti, kar nakazuje na prisotnost povzročiteljev medenja na drevesih. Tekom vizualnega spremljanja se je opravljala tudi fotodokumentacija pokapanih delov rastlin in samih povzročiteljev medenja (primer slika 46). V letošnjem letu smo v času raziskave prisotnost povzročiteljev medenja beležili le na nekaterih lokacijah. Prevladovali so predvsem povzročitelji medenja na jelki – hoji, predvsem zelena hojeva ušica. Opažena pa je bila prisotnost tudi ušic na drugih rastlinski vrstah na nekaterih območjih pa tudi manjša prisotnost kaparja na smreki. Predvsem v mesecu juliju pa je bilo na območjih medenja hoje poleg zelene hojeve ušice mogoče opaziti tudi večje število naravnih sovražnikov ušic.



Slika 46. Zelena hojeva ušica pri vzorčenju na foliji.

3.1.3 Vzorčenje povzročiteljev medenja za molekularne analize glede na razpoložljivost medenja

Skupno smo nabrali 67 vzorcev povzročiteljev medenja. Nabirali smo žive osebkke in jih shranili v za to pripravljene mikrocetrifugirke, napolnjene z absolutnim etanolom. Glede na dejstvo da so bili v letošnjem letu povzročitelji medenja opaženi le na nekaterih lokacijah, smo tudi vzorčenje izvajali na tistih lokacijah kjer so bili le ti prisotni in opaženi. Pri vzorčenju prevladujejo povzročitelji medenja na jelki / hoji, vzorčili pa smo

tudi povzročitelje medenja na drugih rastlinskih vrstah. V tabeli 4 so prikazani osnovni podatki zbranih vzorcev povzročiteljev medenja.

Tabela 4. Seznam vzorcev povzročiteljev medenja, ki so bili izhodišče za molekularne analize.

	oznaka vzorca	številka vzorca	lokacija	naziv/oznaka opazovalne postaje	datum vzorčenja	vir medenja (rastlinska vrsta)	prepoznavna povročitelja medenja
1	VP23-1-	34	Mežakla	Mežakla	09.06.2023	smreka -vejice	črna smrekova ušica
2	VP23-1-	35	Mežakla	Mežakla	09.06.2023	smreka -vejice	črna smrekova ušica
3	VP23-1-	27	Mežakla	Mežakla	09.06.2023	Smreka-majski poganjki	rdečerjava smrekova ušica
4	VP23-1-	33	Mežakla	Mežakla	09.06.2023	Ostrolistni javor	ušice-zelene barve
5	VP23-1-	26	Mežakla	Mežakla	09.06.2023	Gorski/beli javor--spodnja stran listov	ušice-krilati osebki
6	VP23-1-	36	Mežakla	Mežakla	09.06.2023	Ostrolistni javor- spodnja stran listov	ušice
7	VP23-1-	31	Mežakla	Mežakla	09.06.2023	Ostrolistni javor- na pecljih listov	ušice
8	VP23-1-	25	Mežakla	Mežakla	09.06.2023	vrba-na pecljih listov	ušice
9	VP23-1-	28	Mežakla	Mežakla	09.06.2023	(naznana vrsta zelišča iz travnika)-na stebalu	ušice
10	VP23-1-	29	Mežakla	Mežakla	09.06.2023	smreka-vejice	črna smrekova ušica
11	VP23-1-	32	Mežakla	Mežakla	09.06.2023	smreka	veliki smrekov kapar
12	VP23-1-	41	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
13	VP23-1-	38	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
14	VP23-1-	44	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica- osebek rjave barve(mutacija)
15	VP23-1-	40	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
16	VP23-1-	42	Krim	Velike Lašče, Ulaka	13.06.2023	Hoja-veje	Velika rjava hojeva ušica
17	VP23-1-	21	Loška dolina- Leskova dolina	Snežnik - Grda draga	13.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
18	VP23-1-	19	Zg. Slemen - Selnica ob Dravi	Slivniško Pohorje	14.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica- osebek rjave barve(mutacija)
19	VP23-1-	20	Zg. Slemen - Selnica ob Dravi	Slivniško Pohorje	14.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
20	VP23-1-	58	Ludranski vrh	Ludranski vrh	15.06.2023	Gorski Javor	ušice-krilati osebki
21	VP23-1-	56	Gornji Grad- Bočna	Vznožje Manine planine	19.06.2023	Hoja-veje	
22	VP23-1-	46	Kočevje	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja-veje	zelena hojeva ušica
23	VP23-1-	48	Kočevje	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja-veje	zelena hojeva ušica
24	VP23-1-	57	Kočevje	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja-veje	zelena hojeva ušica
25	VP23-1-	8 falkonka	Krim	Velike Lašče, Ulaka	21.06.2023	Hoja-veje	ušice zelene barve
26	VP23-1-	40 falkonka	Krim	Velike Lašče, Ulaka	21.06.2023	Hoja-veje	ušice zelene barve
27	VP23-1-	26 falkonka	Krim	Velike Lašče, Ulaka	21.06.2023	Hoja-veje	ušice zelene barve
28	VP23-1-	34 falkonka	Krim	Velike Lašče, Ulaka	21.06.2023	Hoja-veje	ušice zelene barve
29	VP23-1-	43	Kočevje	Strma reber, Kočevje	21.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
30	VP23-1-	13	Pokljuka- planina Zajamniki	Bohinjska bela - Pokljuka	21.06.2023	Smreka	veliki smrekov kapar
31	VP23-1-	14	Pokljuka- planina Zajamniki	Bohinjska bela - Pokljuka	21.06.2023	Smreka	veliki smrekov kapar
32	VP23-1-	16	Pokljuka- planina Zajamniki	Bohinjska bela - Pokljuka	21.06.2023	Smreka	mali smrekov kapar
33	VP23-1-	22	Pokljuka- planina Zajamniki	Bohinjska bela - Pokljuka	21.06.2023	Smreka	mali smrekov kapar
34	VP23-1-	09 falkonka	Krnica	Bohinjska bela - Pokljuka	27.06.2023	Smreka, drugoletni poganjki	kapar
35	VP23-1-	24 falkonka	Krnica	Bohinjska bela - Pokljuka	27.06.2023	javor, vršiček	ušice
36	VP23-1-	31 falkonka	Hotel Jelka	Bohinjska bela - Pokljuka	27.06.2023	smreka	kapar
37	VP23-1-	33 falkonka	Hotel Jelka	Bohinjska bela - Pokljuka	27.06.2023	smreka	ušice

	oznaka vzorca	številka vzorca	lokacija	naziv/oznaka opazovalne postaje	datum vzorčenja	vir medenja (rastlinska vrsta)	prepoznavna povročitelja medenja
38	VP23-1-	18	Cerkniško jezero- vznožje javornikov	Zagon, Postojna	28.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
39	VP23-1-	54	Trnovski Gozd	Trnovski Gozd-Loče	29.06.2023	Hoja-veje	rjava hojeva ušica
40	VP23-1-	49	Trnovski Gozd	Trnovski Gozd-Loče	29.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
41	VP23-1-	53	Trnovski Gozd	Trnovski Gozd-Loče	29.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
42	VP23-1-	50	Trnovski Gozd	Trnovski Gozd-Loče	29.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
43	VP23-1-	39	Hrušica	Hrušica-Kalce	29.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
44	VP23-1-	70	Hrušica	Hrušica-Kalce	29.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
45	VP23-1-	17	sv. Duh na Ostrem vrhu	Sv. Pankracij - Remšnik	29.06.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
46	VP23-1-	69	Cerkniško jezero- Otok	Zagon, Postojna	03.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
47	VP23-1-	68	Cerkniško jezero- Otok	Zagon, Postojna	03.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
48	VP23-1-	72	Cerkniško jezero- Otok	Zagon, Postojna	03.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
49	VP23-1-	66	Cerkniško jezero- Otok	Zagon, Postojna	03.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
50	VP23-1-	65	Cerkniško jezero- začetek	Zagon, Postojna	03.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
51	VP23-1-	62	Cerkniško jezero- začetek	Zagon, Postojna	03.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
52	VP23-1-	71	Cerkniško jezero- začetek	Zagon, Postojna	03.07.2023	Hoja-veje	ušica rjave barve
53	VP23-1-	64	Cerkniško jezero- začetek	Zagon, Postojna	03.07.2023	Hoja-veje	ušica rjave barve
54	VP23-1-	110	Rakitnica	Grčarice, Kočevje	11.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
55	VP23-1-	52	Ulaka	Velike Lašče, Ulaka	18.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
56	VP23-1-	47	Ulaka	Velike Lašče, Ulaka	18.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
57	VP23-1-	63	Ulaka	Velike Lašče, Ulaka	18.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
58	VP23-1-	61	Ulaka	Velike Lašče, Ulaka	18.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
59	VP23-1-	59	Kočevje	Strma reber, Kočevje	18.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
60	VP23-1-	67	Kočevje	Strma reber, Kočevje	18.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
61	VP23-1-	60	Snežnik - Smrekovec	Snežnik - Smrekovec	19.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
62	VP23-1-	48	Snežnik - Grda draga	Snežnik - Grda draga	19.07.2023	Smreka	kapar
63	VP23-1-	24	Snežnik - Grda draga	Snežnik - Grda draga	19.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
64	VP23-1-	45	Mašun	Snežnik - Grda draga	19.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
65	VP23-1-	51	Mašun	Snežnik - Grda draga	19.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
66	VP23-1-	77	Mašun	Snežnik - Grda draga	19.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica
67	VP23-1-	55	Snežnik- Črni dol	Snežnik- Črni dol	19.07.2023	Hoja-veje	Zelena hojeva ušica

3.1.4 Vzorčenje mane glede na razpoložljivost medenja

Kljub dobremu izločanju ušic je neposredno vzorčenje mane izredno težavno, saj zaradi nahajanja ušic v višjih legah dreves le teh ne dosežemo. Zato moramo za vzorčenje mane nameščati lovilne plošče in folije pod drevesa in čakati, da manina kapljica pade na površino. V letu 2023 je bilo izločanje mane prisotno le na nekaterih izmed opazovanih lokacij, zato smo tudi vzorčenje izvajali na tistih lokacijah. Pri pobranih vzorcih prevladujejo vzorci mane povzročiteljev medenja na jelki (hoji). Druga možnost vzorčenja mane je potekala iz mednega želodčka čebel pri čemer smo morali čakati in loviti čebele pred vhodom v panj in z nežnim stiskom iztisniti vsebino iz mednega želodčka. Skupno smo nabrali 70 vzorcev, od tega je bilo 57 vzorcev mane in 13 vzorcev vsebine medenega želodčka čebele (Tabela 3).

3.2 MOLEKULARNE ANALIZE POVZROČITELJEV MEDENJA

Žuželke smo vzeli iz mikrocentrifugirk z etanolom in jih fotografirali pod stereomikroskopom. Iz vsake mikrocentrifugirke smo vzeli po en do dva osebkov za izolacijo DNA. Ponekod so bili prisotni osebki v različnih razvojnih stopnjah. Skupno smo DNK izolirali iz 81 vzorcev.

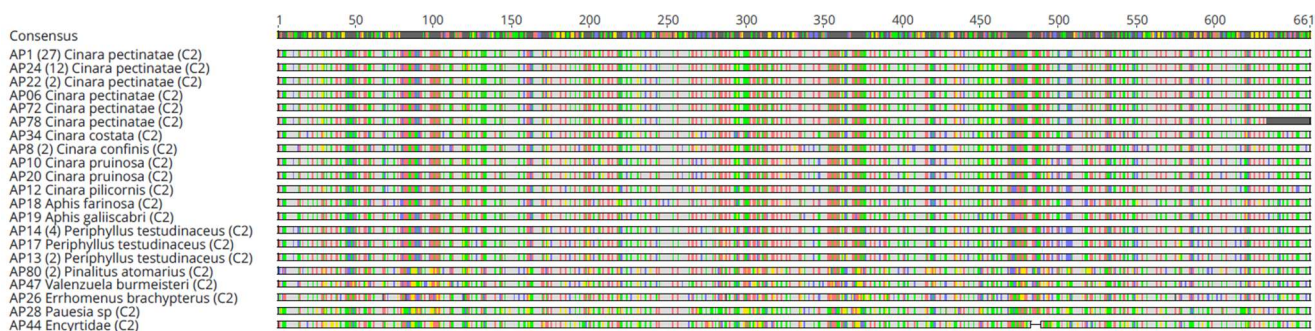
Od 81 vzorcev smo uspešno pomnožili nukleotidno zaporedje za označevalec COI pri 67 osebkih. S sekvenciranjem po Sangerju smo uspešno prebrali nukleotidna zaporedja in jih primerjali z zaporedji v bazah BOLD in BLAST (v primeru, da zadetka nismo našli v bazi BOLD). V dveh vzorcih smo namesto povzročitelja medenja s pomnoževanjem zaznali nukleotidno zaporedje njegovega parazita (vzorca z oznakama AP28 in AP44). Štirje vzorci so pripadajo polkrilcem, ki se hranijo na rastlinah, a niso znani kot povzročitelji medenja.

Tabela 5. Molekularna identifikacija žuželk v okolici opazovalnih postaj. Od leve proti desni si sledijo stolpci z: zaporedno številko, oznako vzorca s terena, oznako DNA izolata, lokacijo, rastlino, na kateri je bila žuželka najdena, taksonomsko skupino, določeno na terenu in z zadetkom za DNA sekvenco v BOLD bazi.

ŠT	Koda vzorca s terena	Koda DNA izolata	Lokacija	Rastlina	Določitev na terenu	Zadelek v BOLD bazi
1	VP23-1-41	AP1	Krim	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
2	VP23-1-41	AP2	Krim	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
3	VP23-1-38	AP3	Krim	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
4	VP23-1-38	AP4	Krim	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
5	VP23-1-44	AP5	Krim	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
6	VP23-1-40	AP6	Krim	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
7	VP23-1-40	AP7	Krim	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
8	VP23-1-42	AP8	Krim	Hoja	Velika rjava hojeva ušica	<i>Cinara confinis</i>
9	VP23-1-42	AP9	Krim	Hoja	Velika rjava hojeva ušica	<i>Cinara confinis</i>
10	VP23-1-34	AP10	Mežakla	Smreka	Črna smrekova ušica	<i>Cinara pruinos</i>
11	VP23-1-35	AP11	Mežakla	Smreka	Črna smrekova ušica	<i>Cinara pruinos</i>
12	VP23-1-27	AP12	Mežakla	Smreka	Rdečerjava smrekova ušica	<i>Cinara pilicornis</i>
13	VP23-1-33	AP13	Mežakla	Ostrolistni javor	Ušice	<i>Periphyllus testudinaceus</i>
14	VP23-1-26	AP14	Mežakla	Beli javor	Ušice	<i>Periphyllus testudinaceus</i>
15	VP23-1-36	AP15	Mežakla	Ostrolistni javor	Ušice	<i>Periphyllus testudinaceus</i>
16	VP23-1-31	AP16	Mežakla	Ostrolistni javor	Ušice	<i>Periphyllus testudinaceus</i>
17	VP23-1-31	AP17	Mežakla	Ostrolistni javor	Ušice	<i>Periphyllus testudinaceus</i>
18	VP23-1-25	AP18	Mežakla	Vrba	Ušice	<i>Aphis farinosa</i>
19	VP23-1-28	AP19	Mežakla	Zelnata rastlina na travniku	Ušice	<i>Aphis galiiscabri</i>
20	VP23-1-29	AP20	Mežakla	Smreka	Črna smrekova ušica	<i>Cinara pruinos</i>
21	VP23-1-32	AP21	Mežakla	Smreka	Veliki smrekov kapar	neuspešen PCR
22	VP23-1-46	AP22	Kočevje	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
23	VP23-1-48	AP23	Kočevje	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
24	VP23-1-57	AP24	Kočevje	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
25	VP23-1-58	AP25	Ludranski vrh	Beli javor	Ušice	<i>Periphyllus testudinaceus</i>

ŠT	Koda vzorca s terena	Koda DNA izolata	Lokacija	Rastlina	Določitev na terenu	Zadetek v BOLD bazi
26	VP23-1-56	AP26	Pod Menino planino	Hoja	nedoločen	<i>Errhomenus brachypterus</i>
27	VP23-1-8 F	AP27	Krim	Hoja	Ušice	neberljiva sekvenca
28	VP23-1-8 F	AP28	Krim	Hoja	Ušice	<i>Pauesia</i> sp.
29	VP23-1-8 F	AP29	Krim	Hoja	Ušice	<i>Cinara pectinatae</i>
30	VP23-1-40 F	AP30	Krim	Hoja	Ušice	<i>Cinara pectinatae</i>
31	VP23-1-40 F	AP31	Krim	Hoja	Ušice	neuspešen PCR
32	VP23-1-26 F	AP32	Krim	Hoja	Ušice	<i>Cinara pectinatae</i>
33	VP23-1-26 F	AP33	Krim	Hoja	Ušice	neuspešen PCR
34	VP23-1-34 F	AP34	Krim	Hoja	Ušice	<i>Cinara costata</i>
35	VP23-1-43	AP35	Kočevje	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
36	VP23-1-21	AP36	Loška dolina	Hoja	Zelena hojeva ušica	neuspešen PCR
37	VP23-1-19	AP37	Zgornji Slemen	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
38	VP23-1-20	AP38	Zgornji Slemen	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
39	VP23-1-13	AP39	Pokljuka	Smreka	Veliki smrekov kapar	neberljiva sekvenca
40	VP23-1-14	AP40	Pokljuka	Smreka	Veliki smrekov kapar	neberljiva sekvenca
41	VP23-1-16	AP41	Pokljuka	Smreka	Mali smrekov kapar	neberljiva sekvenca
42	VP23-1-22	AP42	Pokljuka	Smreka	Mali smrekov kapar	neberljiva sekvenca
43	VP23-1-9 F	AP43	Pokljuka	Smreka	Kapar	neuspešen PCR
44	VP23-1-9 F	AP44	Pokljuka	Smreka	Kapar	Encyrtidae
45	VP23-1-24 F	AP45	Pokljuka	Javor	Uši	<i>Periphyllus testudinaceus</i>
46	VP23-1-31 F	AP46	Pokljuka	Smreka	Kapar	neberljiva sekvenca
47	VP23-1-33 F	AP47	Pokljuka	Smreka	Uši	<i>Valenzuela burmeisteri</i>
48	VP23-1-54	AP48	Trnovski gozd	Hoja	Rjava hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
49	VP23-1-49	AP49	Trnovski gozd	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
50	VP23-1-53	AP50	Trnovski gozd	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
51	VP23-1-50	AP51	Trnovski gozd	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
52	VP23-1-39	AP52	Hrušica - Kalce	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
53	VP23-1-39	AP53	Hrušica - Kalce	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
54	VP23-1-70	AP54	Hrušica - Kalce	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
55	VP23-1-69	AP55	Cerkniško jezero	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
56	VP23-1-68	AP56	Cerkniško jezero	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
57	VP23-1-72	AP57	Cerkniško jezero	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
58	VP23-1-66	AP58	Cerkniško jezero	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
59	VP23-1-65	AP59	Cerkniško jezero	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
60	VP23-1-62	AP60	Cerkniško jezero	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
61	VP23-1-71	AP61	Cerkniško jezero	Hoja	ušice	<i>Cinara pectinatae</i>
62	VP23-16-64	AP62	Cerkniško jezero	Hoja	ušice	<i>Cinara pectinatae</i>
63	VP23-1-18	AP63	Cerkniško jezero	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
64	VP23-1-17	AP64	Sv. Duh na Ostrem Vrh	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
65	VP23-1-52	AP65	Velike Lašče	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
66	VP23-1-47	AP66	Velike Lašče	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
67	VP23-1-63	AP67	Velike Lašče	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
68	VP23-1-61	AP68	Velike Lašče	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
69	VP23-1-61	AP69	Velike Lašče	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>

ŠT	Koda vzorca s terena	Koda DNA izolata	Lokacija	Rastlina	Določitev na terenu	Zadetek v BOLD bazi
70	VP23-1-59	AP70	Kočevje	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
71	VP23-1-67	AP71	Kočevje	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
72	VP23-1-60	AP72	Snežnik	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
73	VP23-1-84	AP73	Snežnik	Smreka	kapar	neberljiva sekvenca
74	VP23-1-24	AP74	Snežnik	Hoja	Zelena hojeva ušica	neberljiva sekvenca
75	VP23-1-45	AP75	Mašun	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
76	VP23-1-51	AP76	Mašun	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
77	VP23-1-77	AP77	Mašun	Hoja	Zelena hojeva ušica	neuspešen PCR
78	VP23-1-55	AP78	Snežnik	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
79	VP23-1-110	AP79	Rakitnica	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Cinara pectinatae</i>
80	VP23-1-110	AP80	Rakitnica	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Pinalitus atomarius</i>
81	VP23-1-110	AP81	Rakitnica	Hoja	Zelena hojeva ušica	<i>Pinalitus atomarius</i>



Slika 47. Poravnava unikatnih nukleotidnih zaporedij, s podatkom o številu vsakega zaporedja, ki se pojavlja med vzorci, in s podatkom o identifikaciji zaporedja

Poravnava vseh unikatnih zaporedij je prikazana na sliki 47. Zaporedja so imela ujemanja z naslednjimi taksonomskimi skupinami v bazi BOLD. Pod zaporedjem v formatu FASTA je fotografija osebk, slikanega pod sterolupo.

- *Aphis farinosa* – DNA izolat AP18

>AP18 *Aphis farinosa*

```
GAACCTTTATATTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAATTGGATCTTCACTAGAACTTAATTCGACTAGAACTAAGCCAAATTAATTCAATTATTAATAACAATCAAT
TATATAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTCATAACTATACCAATCGTAATTGGAGGGTTTGAAATTTGATTAATCCCTATAATAATAGGGTGTC
CAGACATATCTTTCCACGATTAAACAACATTAGATTTTGATTACTCCACCATCATTAAATAATAATATCTAGATTTATAATTAATAATGGAACAGGGACAGGATGA
ACTATTTATCCCACTATCAAATAATATTGCTCATAATAATTTTCAGTTGACTTAACATTTTTCTCTTCATTAGCAGGAATCTCTCAATTTAGGAGCAATTAATTT
TATTTGCACAATTATAAATAATAACAAATAATAAACTAAATCAAATTCCTTTATCCCATGATCAATCCTAATCACAGCTATATTATTAATTTTATCTTTGCCAGTA
TTAGCCGGTGCTATTACTATATTATTAATGATCGAAATTTAAATACATCATTCTTTGATCCAGCAGGAGGGGAGATCCTATTCTTTATCAACATTTATTTTG
```



Slika 48. AP18

- *Aphis galiiscabri* – DNA izolat AP19

>AP19 Aphis galiiscabri

```
GAACCTTTATATTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAATTGGTTCTTCACTTAGAATTTTAATTCGATTAGAATTAAGCCAAATTAACCAATTATTAATAATAATCAATT  
ATATAATGTAATTGTTACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTATAACTATACCAATTGTAATTGGAGGTTTTGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGCCCA  
GACATATCATTTCACGATTAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAAATAATAAATTTGTAGATTATAATTAATAACGGAACAGGAACAGGATGAAC  
TATCTATCCACCTTTATCAAATAATATTGCTCATAACAATATTTCAAGTTGATTAACTATTTTTCTCTGCATTTAGCAGGTATTTCAATTTTAGGAGCAATTAATTTTA  
TCTGCACTATTCTAAATATAATACCAAACAATATAAAATTAATCAAATTCCTTTATTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATACTATTAATTTTATCTTTACCAGTATTA  
GCTGGTGCTATTACTATATTATTAACATGATCGAAATTTAAATACATCATTTTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGACCCTATTCCTTTATCAACATTTATTTTG
```



Slika 49. AP19

- *Cinara confinis* (velika rjava hojeva ušica) – DNA izolata AP8 in AP9

>AP8 (2) Cinara confinis

```
GAACCTTTATATTTTATTTTGGAAATTTGGGCTGGTATAATAGGTTCTTCATTAAGAATTCTAATTCGTCTTGAACCTAGTCAAATTAATTCAATTATTAATAATAACCAAC  
TATATAATGTAATTGTTACTATTCATGCATTTATTATAATTTTCTTTATAACTATACCTATTGTAATTGGAGGATTTGGAACTGATTAATTCCTTTAATAATAGGATCTCC  
TGATATAGCCTTCCCACGCTTAATAATATTAGATTCTGATTATTGCCACCATCATTAAATAATAAATTTGTAGATTATTATTAATAACGGAACAGGTACAGGATGGA  
CAATCTACCCCCCTATCTAATAATATTGCTCATAATAATATTTCAAGTAGACTTAACATTTTTTCATTACACCTAGCAGGAATTTCTTCAATCTTAGGGGCAATTAATTT  
TATTTGTACAATTTTAAATATAATACCTAACAAATTTAAATTAATCAAATTCACCTTTTCCCATGATCAATTATTATTACAGCTACACTTTTAATTCCTTCACTCCCGATAC  
TAGCTGGAGCTATTACAATATTATTGACAGATCGAAATTTAAATACTTCATTTTTTGACCCATCAGGGGGAGGAGATCCAATTTTATATCAACATTTATTCTG
```



Slika 50. AP9

- *Cinara costata* – DNA izolat AP34

>AP34 *Cinara costata*

GAACCTTTATATTTTATTTTCGGAATTTGAGCTGGTATAATAGGATCTTCTTAAGAATCTTAATTCGACTTGAATTAAGACAAATTAATCTATTATTAATAATAAC
CAATTATATAATGTAATTGTTACAATTCATGCATTTATTATAATTTTTTATAACTATACCTATTGTCATTGGAGGATTGGAAATTGATTAAATCCATTAAATAA
GGGTCTCCTGATATAGCATTTCCACGATTAATAATATTAGATTTTGATTATTGCCCCCTCATTAAATAATAATCTCAAGATTCAATTAATAATGGAACAG
GAACAGGATGAACAATTTATCCACCTTTATCTAATAATATTGCCATAATAATTTTCAGTAGATTTAACTATTTTTCTTTACATTTAGCAGGAATCTCATCAATCT
TAGGAGCAATTAATTTTCATTGTACAATCTTAAATATAATACCTAATAATTTAAATTAATCAAAATTCCTTTATTTCCATGATCAATTATTATTACTGCTACATTAT
TAATCTTATCACTTCCAGTATTAGCTGGAGCAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCTTTTTTGATCCAGCAGGAGGAGATCTATTTT
ATACCAACATTTATTTTG



Slika 51. AP34

- *Cinara pectinatae* (zelena hojeva ušica/zelena jelova uš) – DNA izolati AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, AP6, AP7, AP22, AP23, AP24, AP29, AP30, AP32, AP35, AP37, AP38, AP48, AP49, AP50, AP51, AP52, AP53, AP54, AP55, AP56, AP57, AP58, AP59, AP60, AP61, AP62, AP63, AP64, AP65, AP66, AP67, AP68, AP69, AP70, AP71, AP72, AP75, AP76, AP78 in AP79

>AP1 (27) *Cinara pectinatae*

GAACCTTTATACTTTATTTTGGGAATTTGGTCTGGTATAATAGGATCTTCATTAAGAATTTAATTCGTCTTGAATTAAGACAAATTAACCTCAATTATTAATAATAATCAAT
TATATAACGTAAGTTGTTACTATTTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTCATAACTATACCTATCGTAATTGGAGGATTGGTAATTGATTAAATCCGTTAATAATAGGATCTCC
TGATATAGCTTTCCACGACTTAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCTTCATTAATAATAATAATTTGTAGTTTATAATTAATAATGGTACAGGTACAGGATGAAC
AATTTATCCACCATTTATCTAATAATATTGCTCATAATAATTTTCAGTAGATTTAACTATTTTTCTTTACATTTAGCAGGAATTTTCATCAATTTTAGGAGCAATCAATTTT
ATTTGTAATTTTGAATATAATACTAATAATTTAAATTAATCAAAATTCCTCTTTTCTTGATCAATTATTATTACTGCTATACTTTAATTTTATCTCTCCAGTTTGA
GCAGGAGCAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCATTTTTTGATCCATCAGGTGGAGGAGATCCAATTTTATATCAACATTTATTTTG

>AP24 (12) *Cinara pectinatae*

GAACCTTTATACTTTATTTTGGGAATTTGGTCTGGTATAATAGGATCTTCATTAAGAATTTAATTCGTCTTGAATTAAGACAAATTAACCTCAATTATTAATAATAATCAAT
TATATAACGTAAGTTGTTACTATTTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTCATAACTATACCTATCGTAATTGGAGGATTGGTAATTGATTAAATCCGTTAATAATAGGATCTCC
TGATATAGCTTTCCACGACTTAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCTTCATTAATAATAATAATTTGTAGTTTATAATTAATAATGGTACAGGTACAGGATGAAC
AATTTATCCACCATTTATCTAATAATATTGCTCATAATAATTTTCAGTAGATTTAACTATTTTTCTTTACATTTAGCAGGAATTTTCATCAATTTTAGGAGCAATCAATTTT
ATTTGTAATTTTGAATATAATACTAATAATTTAAATTAATCAAAATTCCTCTTTTCTTGATCAATTATTATTACTGCTATACTTTAATTTTATCTCTCCAGTTTGA
GCAGGAGCAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCATTTTTTGATCCATCAGGTGGAGGAGATCCAATTTTATATCAACATTTATTTTG

>AP22 (2) *Cinara pectinatae*

GAACCTTTATACTTTATTTTGGGAATTTGGTCTGGTATAATAGGATCTTCATTAAGAATTTAATTCGTCTTGAATTAAGACAAATTAACCTCAATTATTAATAATAATCAAT
TATATAACGTAAGTTGTTACTATTTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTCATAACTATACCTATCGTAATTGGAGGATTGGTAATTGATTAAATCCGTTAATAATAGGATCTCC
TGATATAGCTTTCCACGACTTAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCTTCATTAATAATAATAATTTGTAGTTTATAATTAATAATGGTACAGGTACAGGATGAAC
AATTTATCCACCATTTATCTAATAATATTGCTCATAATAATTTTCAGTAGATTTAACTATTTTTCTTTACATTTAGCAGGAATTTTCATCAATTTTAGGAGCAATCAATTTT
ATTTGTAATTTTGAATATAATACTAATAATTTAAATTAATCAAAATTCCTCTTTTCTTGATCAATTATTATTACTGCTATACTTTAATTTTATCTCTCCAGTTTGA
GCAGGAGCAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCATTTTTTGATCCATCAGGTGGAGGAGATCCAATTTTATATCAACATTTATTTTG

>AP06 *Cinara pectinatae*

GAACCTTTATACTTTATTTTGGGAATTTGGTCTGGTATAATAGGATCTTCATTAAGAATTTAATTCGTCTTGAATTAAGACAAATTAACCTCAATTATTAATAATAATCAAT
TATATAACGTAAGTTGTTACTATTTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTCATAACTATACCTATCGTAATTGGAGGATTGGTAATTGATTAAATCCGTTAATAATAGGATCTCC
TGATATAGCTTTCCACGACTTAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCTTCATTAATAATAATAATTTGTAGTTTATAATTAATAATGGTACAGGTACAGGATGAAC
AATTTATCCACCATTTATCTAATAATATTGCTCATAATAATTTTCAGTAGATTTAACTATTTTTCTTTACATTTAGCAGGAATTTTCATCAATTTTAGGAGCAATCAATTTT
ATTTGTAATTTTGAATATAATACTAATAATTTAAATTAATCAAAATTCCTCTTTTCTTGATCAATTATTATTACTGCTATACTTTAATTTTATCTCTCCAGTTTGA
GCAGGAGCAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCATTTTTTGATCCATCAGGTGGAGGAGATCCAATTTTATATCAACATTTATTTTG

>AP72 *Cinara pectinatae*

GAACCTTTATACTTTATTTTGGGAATTTGGTCTGGTATAATAGGATCTTCATTAAGAATTTAATTCGTCTTGAATTAAGACAAATTAACCTCAATTATTAATAATAATCAAT
TATATAACGTAAGTTGTTACTATTTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTCATAACTATACCTATCGTAATTGGAGGATTGGTAATTGATTAAATCCGTTAATAATAGGATCTCC
TGATATAGCTTTCCACGACTTAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCTTCATTAATAATAATAATTTGTAGTTTATAATTAATAATGGTACAGGTACAGGATGAAC
AATTTATCCACCATTTATCTAATAATATTGCTCATAATAATTTTCAGTAGATTTAACTATTTTTCTTTACATTTAGCAGGAATTTTCATCAATTTTAGGAGCAATCAATTTT
ATTTGTAATTTTGAATATAATACTAATAATTTAAATTAATCAAAATTCCTCTTTTCTTGATCAATTATTATTACTGCTATACTTTAATTTTATCTCTCCAGTTTGA
GCAGGAGCAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCATTTTTTGATCCATCAGGTGGAGGAGATCCAATTTTATATCAACATTTATTTTG

>AP78 *Cinara pectinatae*

GAACTTTATACTTTATTTTGGAAATTTGGTCTGGTATAATAGGATCTTCATTAAGAATTTAATTCGTCTTGAATTAAGACAAATTAACCAATTATTAATAATAATCAAT
TATATAACGTAAGTTGTTACTATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTCATAACTATACCTATTGAATTTGGAGGATTTGGTAATTTGATTAAATCCGTTAATAATAGGATCTCC
TGATATAGCTTTCCACGACTTAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCTTCATTAATAATAATAATTTGATGTTTTATAATTAATAATGGTACAGGTACAGGATGAAC
AATTTATCCACCAATTATCTAATAATATTGCTCATAATAATTTTCAGTAGATTTAACTATTTTTCTTTACATTTAGCAGGAATTTTCATCAATTTTAGGAGCAATCAATTTT
ATTTGACTATTTTGAATATAATACCTAATAATTTAAATTAATCAAATTCCTCTTTTCTTGATCAATTATTACTGCTATACTTTAATTTTATCTCTCCAGTTTGA
GCAGGAGCAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCATTCTTTGATCCATCAGGTGGAGGAG



Slika 52. AP38

- *Cinara pilicornis* (rdečerjava smrekova ušica) – DNA izolat AP12

>AP12 *Cinara pilicornis*

GAACTTTATATTTTATTTTGGAAATTTGAGCTGGTATAATGGATCTTCGCTTAGAATATTAATTCGTCTCGAATTAAGTCAAATTAATTCATTTAATAATAATCAATT
ATATAATGTAATTTGTTACAATTCATGCATTTATTATAATTTTTTATAACTATACCTATTGAATTTGGAGGCTTTGGAAATTTGATTAAATCCATTAAATAAGGGTCCCCA
GATATATCATTTCACGATTAAATAATATTAGATTCTGATTACTGCCTCCATCATTAAATAATAATTTCTAGATTATAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAAC
AATTTATCCCCCTCTATCTAATAACATTGCACATAATAATATCTCAGTAGATTTAACTATTTTCTCTTACATTTAGCAGGAATTTTCATCAATTTAGGAGCAATTAATTTT
ATCTGTACAATTTTAAATATAATACCAATAACTTAAACTTAATCAAATCCCATTATTCATGATCAATTTAATTACAGCTATCCTTTAATTTTATCATTACCAGTTT
AGCAGGAGCAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCATTTTTGGACCTTCAGGAGGAGGAGACCAATTTTATATCAACACCTATTTTG



Slika 53. AP12

- *Cinara pruinosa* (sivozelena lisata smrekova ušica) – DNA izolati AP10, AP11 in AP20

>AP10 *Cinara pruinosa*

GAACTTTATACTTTATTTTGGAAATTTGATCTGGTATAATGGATCTTCACCTAGAAATATTAATTCGTCTTGAATTAAGACAAATTAATTCATTTATCAATAATAATCAATT
ATATAATGTAATTTGTTACAATTCATGCATTTATTATAATTTTTTATAACAATACCTATTGAATTTGGAGGGTTTGGAAATTTGATTAAATCCATTGATAATAGGATCTCC
CGATATATCATTTCACGATTAAATAATATTAGATTCTGATTACTCCCCCATCATTAAATAATAATTTGTAGATTCTAATTAATAATGGAACAGGGACAGGATGAAC
CAATTTACCTCCCTTATCAATAATATTGCTCATAATAATTTTCAGTAGATTTAACTATTTTCTCTTTGCAATTTAGCAGGAATCTCATCAATCTTAGGTGCAATTAATTT
TATTTGTACAATTTTAAATATAATACCTAATAATTTAAACTTAATCAGATCCCACTATTTCCATGATCAATTTAATTACAGCTATCTTTAATTTTATCTCTCCAGTTT
TAGCAGGAGCAATTACTATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACCTATTTTTTGACCTTCAGGAGGAGGAGACCAATTTTATATCAACATTTATTTTG

>AP20 *Cinara pruinosa*

GAACTTTATACTTTATTTTGGAAATTTGATCTGGTATAATGGATCTTCACCTAGAAATATTAATTCGTCTTGAATTAAGACAAATTAATTCATTTATCAATAATAATCAATT
ATATAATGTAATTTGTTACAATTCATGCATTTATTATAATTTTTTATAACAATACCTATTGAATTTGGAGGGTTTGGAAATTTGATTAAATCCATTGATAATAGGATCTCC
CGATATATCATTTCACGATTAAATAATATTAGATTCTGATTACTCCCCCATCATTAAATAATAATTTGTAGATTCTAATTAATAATGGAACAGGGACAGGATGAAC
CAATTTACCTCCCTTATCAATAATATTGCTCATAATAATTTTCAGTAGATTTAACTATTTTCTCTTTGCAATTTAGCAGGAATCTCATCAATCTTAGGTGCAATTAATTT
TATTTGTACAATTTTAAATATAATACCTAATAATTTAAACTTAATCAGATCCCACTATTTCCATGATCAATTTAATTACAGCTATCTTTAATTTTATCTCTCCAGTTT
TAGCAGGAGCAATTACTATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACCTATTTTTTGACCTTCAGGAGGAGGAGACCAATTTTATATCAACATTTATTTTG



Slika 54. AP10

- Encyrtidae – DNA izolat AP44

>AP44 Encyrtidae

```
GAATTTTATATTTTATTTTCGGTATATGAGCGGGGGTGGTTGGTTTATCTTTAAGAATTTTAATTCGATTGGAATTAGGTAATCCTGGTCTTTAATTGGAAATGATCAA  
ATTTATAATTCTGTAGTTACTGCTCATGCATTTATTATAATTTTTTTTTTTGTTATACAGTAATAATAGGAGGGTTGGGAATTTCTTATTCCTTTGATTATAGGAATTC  
CTGATATAGTTTTTCTCGAATAAATAATATAAGATTTTGACTTTTACCTCCAAGAATTATACTTTAATTTCTAGGATATTTGTAGGTACAGGCACTGGTACTGGTTGAA  
CAGTCTATCCTCTTTATCATCAAATTTATCTCATATGGGCCCTTCAGTAGATTTATCTATTTTTCTTTACATATTGCAGGTGTTTCTCAATTATGGGTTCAATTAATTTT  
ATTACAACAATTTTAAATATAAAATTATATAAGTTAGAATTATTGCCTTTATTTGCTTGAGCAATACTTCTTACAGCAATTTTATTATTGTTGTCTCTCCAGTTTTAGCTG  
GGGCTATTACTATACTTTTATTTGATCGGAATTTAAATACTTCTTTTTTATCCTGTAGGAGGAGGGGATCCTATTTTATACCAGCATTATTTTG
```



Slika 55. AP44

OPOMBA: Namesto DNA kaparja (na sliki 55), se je pomnožil odsek DNA parazitske ose iz družine Encyrtidae.

- *Errhomenus brachypterus* – DNA izolat AP26

>AP26 Errhomenus brachypterus

```
GTACAATATATTTTATTTTGGTATTTGATCAGGAATTATCGGAATAATAAAGATTAAATTATTCGYATCGAAYTAGGATAYCCAGGACCATTAAATRAACAGAGATCAA  
ATTTATAACRTAATTGTTACATCAGATTCATTATAATCTTCTCATAGTTATACCTATTATAATTGGAGGATTCGGTAATTGATTATTACCATTAATAATTGGAGCTC  
CTGACATAGCATTTCCAGGATTAATAATATAAGATTTTGACTACTTCTCCCTCATTAAACAATAMTTATATCAAGATCAATAATCGAAATAGGAGCAGGAACCTGGTTG  
AACAGTTTACCCACCCCTATCAAGAAATATTGCTCAGCAAGAGTGTGTGTAGATTTAGTAATCTTTTCACTTCATTTAGCTGGAATCTCATCAATCCTAGGAGCAATTA  
ATTTATCACTACCGTATTCAACATACGAATTATGGGAATAACAATAGACCGAACCCCTTTATTTGCTTGATCAGTATTAATTACTGCAATCTTATTATTAATTTCTCTGCC  
AGTTTTAGCTGGAGCTATTACRATACTATTAACAGACCGAACTTTAACACCTCATTTTTTACCCATCAGGAGGWGGTGACCCTATCTTGTATCAACATTTATTCTG
```



Slika 56. AP26

OPOMBA: Vrsta se prehranjuje z rastlinami, ni znano, da bi povzročala medenje.

- *Pauesia* sp. – DNA izolat AP28

>AP28 *Pauesia* sp

GTGTTTATATTTATTTTGGTATGTGATGTGGTATAGTTGGTTATCTATAAGTTTAATTATTCGAATAGAAATTAAGAGTTTCTGGTAGATTTATTGGTAGAGATCAAA
TTTATAATTCATTGTTACAGCTCATGCTTTTGTATGATTTTTTTATGGTTATACCTATTATAATTGGGGGGTTCGGTAATTGATTAGTTCCTTAATGTTAGGTGCGCC
TGATATAGCATTTCTCGAATAAATAATATAAGATTTTGATTATTAGTTCTCTTTATTTTATTAATTATTAGGGGGTTAGTTAATTCTGGTGCTGGTACTGGTTGAAC
TGCTACCTCCATTATCTTAACCTTAGGTCACAGAGGTTCTCTGGGATTTTGCTATTTTTCTTTACATTTAGCAGGGATTTCTCTATTATAGGTGCCATAAAATTTT
ATTAGTACTATTTTTAATATACGTTCTTATAATATTAATAAGATCAAAATTCCTTTATTGGTTTGATCAATTTAGTTACTGCTGTTTTATTATTATTATCTTTGCCTGTATT
AGCAGGGGCTATTACAATATTATTCTGATCGTAATTTAAATACTACTTTTTTGATTTTGCTGGAGGGGAGACCAATTTTATATCAGCATTTATTTTG



Slika 57. AP28

OPOMBA: Namesto DNA uši na sliki se je pomnožila DNA parazitske ose iz rodu *Pauesia*.

- *Periphyllus testudinaceus* (javorjeva uš) - DNA izolati AP13, AP14, AP15, AP16, AP17, AP25 in AP45

>AP14 (4) *Periphyllus testudinaceus*

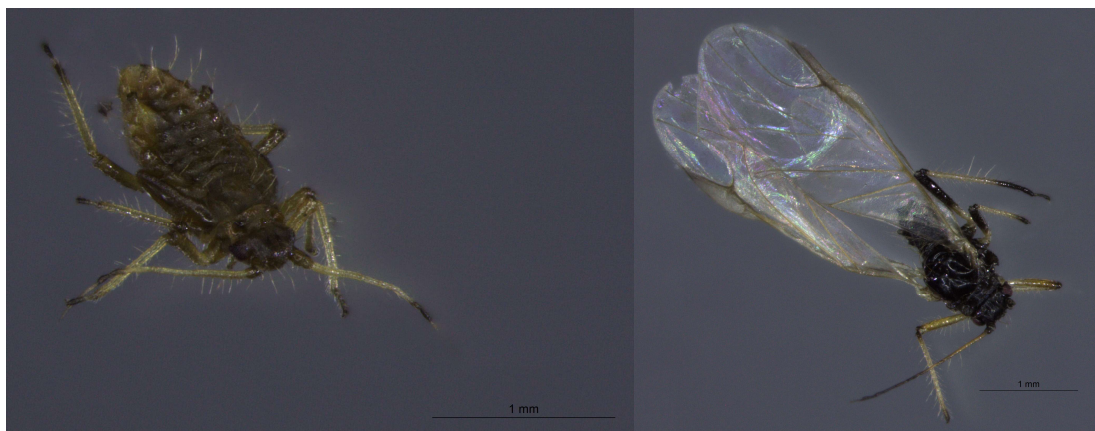
GAACCTTTACTTCTTATTTGGAAATTTGATCAGGAATAATTGGATCCTCATTAAAGAATCTTAATTCGATTAGAATTAAGACAAATTAACCTATTATCAATAATAATCAAT
TATATAATGTTATTGTCACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTATAACAATACCTATTGTCATTGGAGGATTCGGAAATGATTGATCCCATTAATAATAGGATCCCC
TGATATATCATTTCCAGACTTAATAATATTAGTTTTGAATATTACCCCTTCATTAATAATGATAATTGCAAGATTCATAATCAATAATGGAACAGGAACAGGATGAA
CAATTTATCCCCCTTTATCAATAATATTGCACATAATAATATCTCAGTAGACTTAACCTATTTTTCTCTTCATTAGCAGGATTTTATCTATTTTAGGAGCAATTAACCT
TATTTGCACAATCTTAATATAATACCTAATAATATAAACTTAACCAATCCCACTCTCCCTGATCAATTTTAATTACAGCAATCTTATTAATCTTTCTCTCCAGTTT
TAGCAGGAGCTATTACAATGTTATTAACCTGACCGAAATCTAAATACTTCATTTTTGACCCATCTGGAGGAGGAGATCCAATTCCTTATCAACATTTATTTTG

>AP17 *Periphyllus testudinaceus*

GAACCTTTACTTCTTATTTGGAAATTTGATCAGGAATAATTGGATCCTCATTAAAGAATCTTAATTCGATTAGAATTAAGACAAATTAACCTATTATCAATAATAATCAAT
TATATAATGTTATTGTCACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTATAACAATACCTATTGTCATTGGAGGATTCGGAAATGATTGATCCCATTAATAATAGGATCCCC
TGATATATCATTTCCAGACTTAATAATATTAGTTTTGAATATTACCCCTTCATTAATAATGATAATTGCAAGATTCATAATCAATAATGGAACAGGAACAGGATGAA
CAATTTATCCCCCTTTATCAATAATATTGCACATAATAATATCTCAGTAGACTTAACCTATTTTTCTCTTCATTAGCAGGATTTTATCTATTTTAGGAGCAATTAACCT
ATTTGCACAATCTTAATATAATACCTAATAATATAAACTTAACCAATCCCACTCTCCCTGATCAATTTTAATTACAGCAATCTTATTAATCTTTCTCTCCAGTTT
AGCAGGAGCTATTACAATGTTATTAACCTGACCGAAATCTAAATACTTCATTTTTGACCCATCTGGAGGAGGAGATCCAATTCCTTATCAACATTTATTTTG

>AP13 (2) *Periphyllus testudinaceus*

GAACCTTTACTTCTTATTTGGAAATTTGATCAGGAATAATTGGATCCTCATTAAAGAATCTTAATTCGATTAGAATTAAGACAAATTAACCTATTATCAATAATAATCAAT
TATATAATGTTATTGTCACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTATAACAATACCTATTGTCATTGGAGGATTCGGAAATGATTGATCCCATTAATAATAGGATCCCC
TGATATATCATTTCCAGACTTAATAATATTAGTTTTGAATATTACCCCTTCATTAATAATGATAATTGCAAGATTCATAATCAATAATGGAACAGGAACAGGATGAA
CAATTTATCCCCCTTTATCAATAATATTGCGCATAATAATATCTCAGTAGACTTAACCTATTTTTCTCTTCATTAGCAGGATTTTATCTATTTTAGGAGCAATTAACCT
TATTTGCACAATCTTAATATAATACCTAATAATATAAACTTAACCAATCCCACTCTCCCTGATCAATTTTAATTACAGCAATCTTATTAATCTTTCTCTCCAGTTT
TAGCAGGAGCTATTACAATGTTATTAACCTGACCGAAATCTAAATACTTCATTTTTGACCCATCTGGAGGAGGAGATCCAATTCCTTATCAACATTTATTTTG



Slika 58. AP13 Slika 2: AP25

- *Pinalitus atomarius* – DNA izolati AP80 in AP81

>AP80 (2) *Pinalitus atomarius*

GCACACTATATTTTATCTTTGGAATATGAGCAGGAATATTAGGCACCTCATTAAAGATGAATTATTCGAATTGAACTAGGAATACCTGGGTCATTTATTGGAGATGACCA
AACATATAATGTAGTAGTTACAGCACATGCTTTTATCATAATTTTCTTCATAGTTATACCAATCATAAATTGGAGGATTGGAACTGATTAGTACCTTTAATAATTGGAG
CCCCTGACATAGCATTCCCGCAATAAATAATATAAGATTTTGATTATTACCACCTTCAATTACATTATTAATTATAAGAAGAATTGTAGAAAATGGGGCAGGGACTGG
ATGAACAGTTTATCCACCATTATCAGCTAATATTTCCATAATGGAGCATCTGTAGATTTAGCTATTTTCTCACTCCATTTAGCAGGAGTGAGATCAATTTTAGGTGCAG
TAAATTTTATTTCAACAATTATTAATATACGCCAGCAGGGATACTGCCGAACGAATCCCATTTTGTATGATCAGTTGGGATCACTGCATTATTACTATTATTATCGC
TACCTGTTTAGCAGGAGCCATTACTATATTATTAACAGATCGTAACTCAATACGTCATTTTGTACCCAGCTGGAGGAGGGGATCCTATCTTATATCAACATTTATTT
G



Slika 59. AP81

OPOMBA: Se prehranjuje na smreki, ni znano, da bi povzročal medenje.

- *Valenzuela burmeisteri* – DNA izolat AP47

>AP47 *Valenzuela burmeisteri*

GAACTTTATATTTTATTTTGGTATTTGAGCGGGTATAGTAGGTACAAGATTAAGTGTTACTAATTCGGTTAGAACTAGGACAACCAGGGTTGTTCTGGAAGATGATCA
GACTTACAATGTTATTGTTACTGCACATGCATTATTATAATTTTTTTATAATTATACCAATTATAATTGGTGGGTTTCGAACTGGTTAGTTCCATTAACTAGGAGC
CCCTGATATAGCTTTCCCTCGACTTAATAATATAAGATTCTGATTTTACCACCTTCAATTAACATTATTAATTTCTAGAAGACTGGTTAATACTGGAGCTGGTACTGGATG
AACAGTTTACCCCTCTCTCAAGAGCAATCGCCATACTGGGCATCAGTTGATTAGCTATTTTCTCTCATCTAGCAGGAATTAGATCTATCTAGGAGCAGTAA
ATTTTACTACTATTATTAATATACGTTCCGTAAAGATTAACACTAGAGCGAATACCTTTATTTGTTTGATCAGTATTATTACGGCTATTTTACTTTTATTATCACTACCT
GTTTAGCAGGAGCTATTACTATACTACTAACAGATCGTAATATTAATACTCTTTTGTGACCTGCGAGGAGGGGTGACCAATCTTTACCAACATTTATTCTG



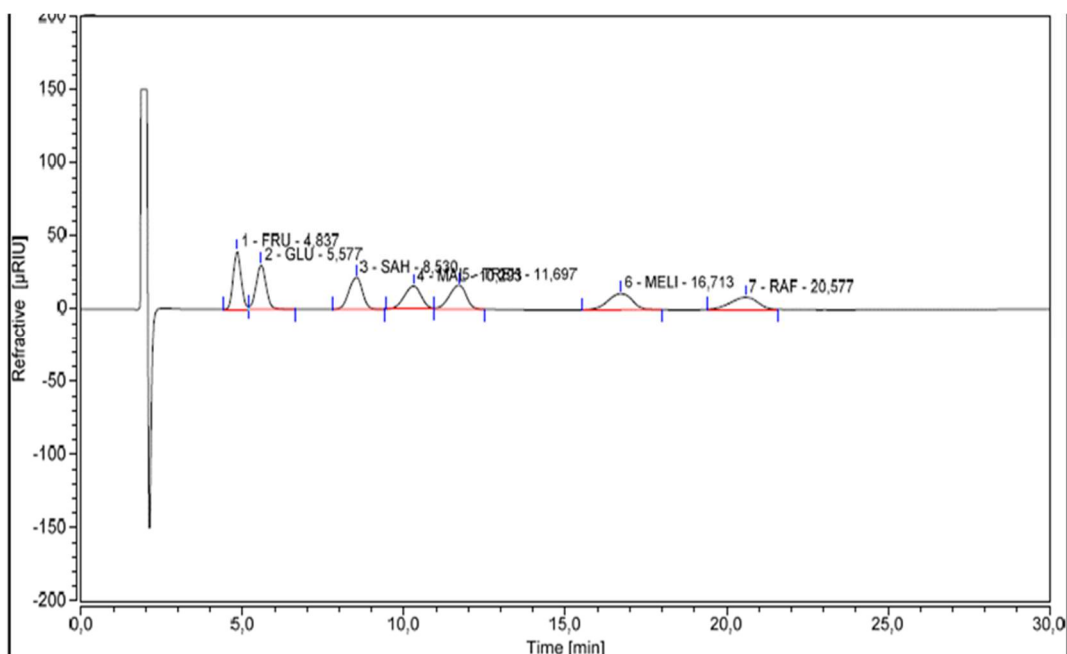
Slika 60. AP47

OPOMBA: Se prehranjuje na iglavcih, ni znano, da bi povzročal medenje.

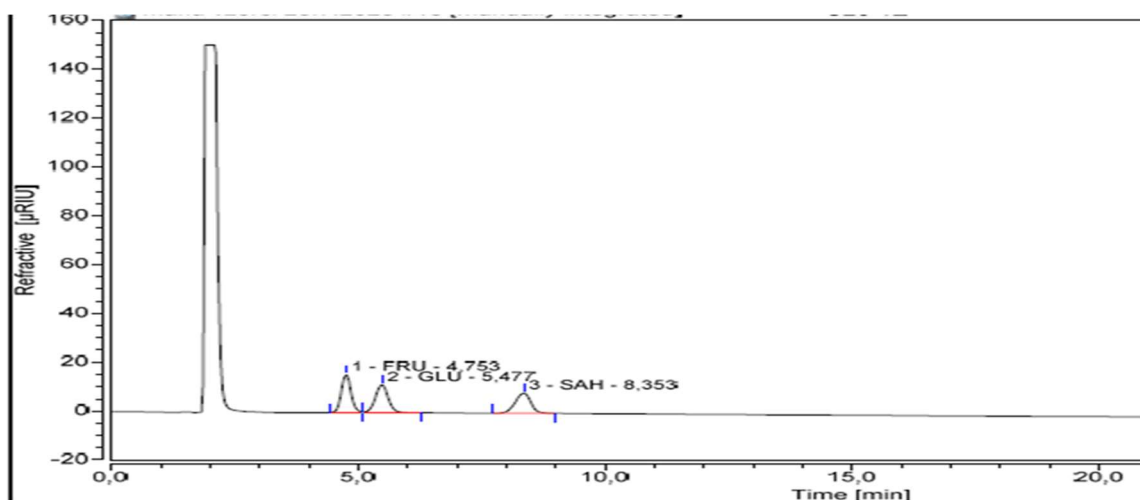
3.3 KROMATOGRAFSKE ANALIZE SLADKORJEV V MANI Z NAPRAVO HPLC

Z napravo HPLC smo skupno določili vsebnost sladkorjev v medicini ali mani v 70 vzorcih (od tega je bilo 57 vzorcev mane, nabrane s podrasti, s folije ali neposredno s povzročitelja medenja (v primeru kaparja), ter 13 vzorcev vsebine iz čebeljih mednih želodčkov). Določili smo vsebnost sladkorjev glukoze, fruktoze, saharoze, melcitoze, trehaloze, maltoze in rafinoze. Ker količina mane pri takšni metodi vzorčenja ni natančno znana, saj se le ta nahaja tudi na zunanji površini kapilare, ter na steni vial, smo v letošnjem letu namesto koncentracije sladkorjev podali razmerja med različnimi sladkorji, ki smo jih zaznali v vzorcih. V vzorcih so bili zaznani tudi sladkorji, katerih standardov nismo imeli in smo jih v letošnjem letu poimenovali kot »NEZNANA

#« in pripis retencijskega časa, kjer pik zaznamo na kromatogramu. Slika 61 prikazuje kromatogram pri standardni raztopini omenjenih sladkorjev.

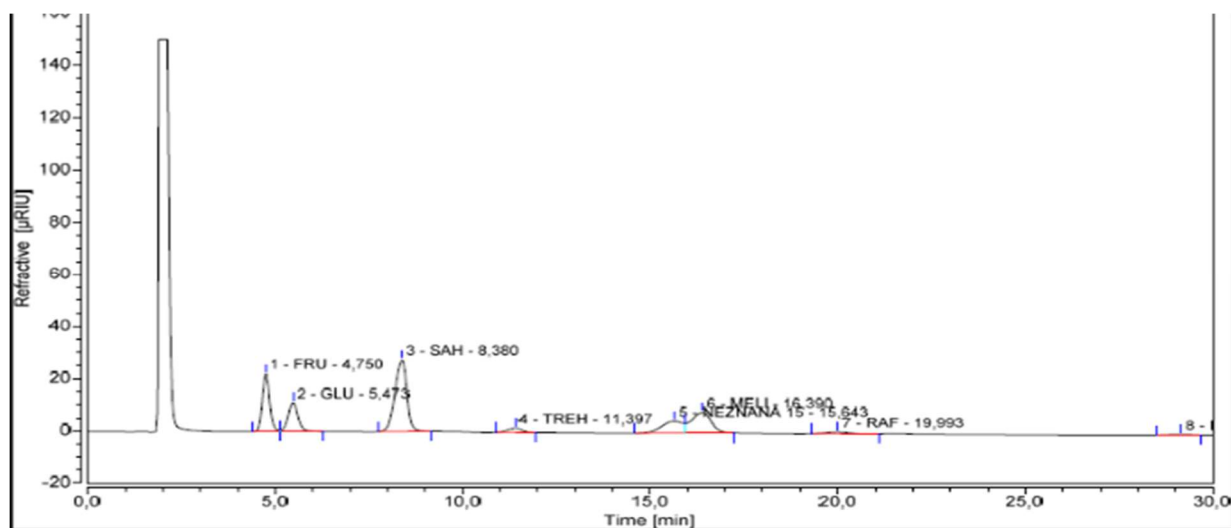


Slika 61. Kromatogram pri standardni raztopini glukoze, fruktoze, saharoze, melcitoze, trehaloze, maltoze in rafinoze.

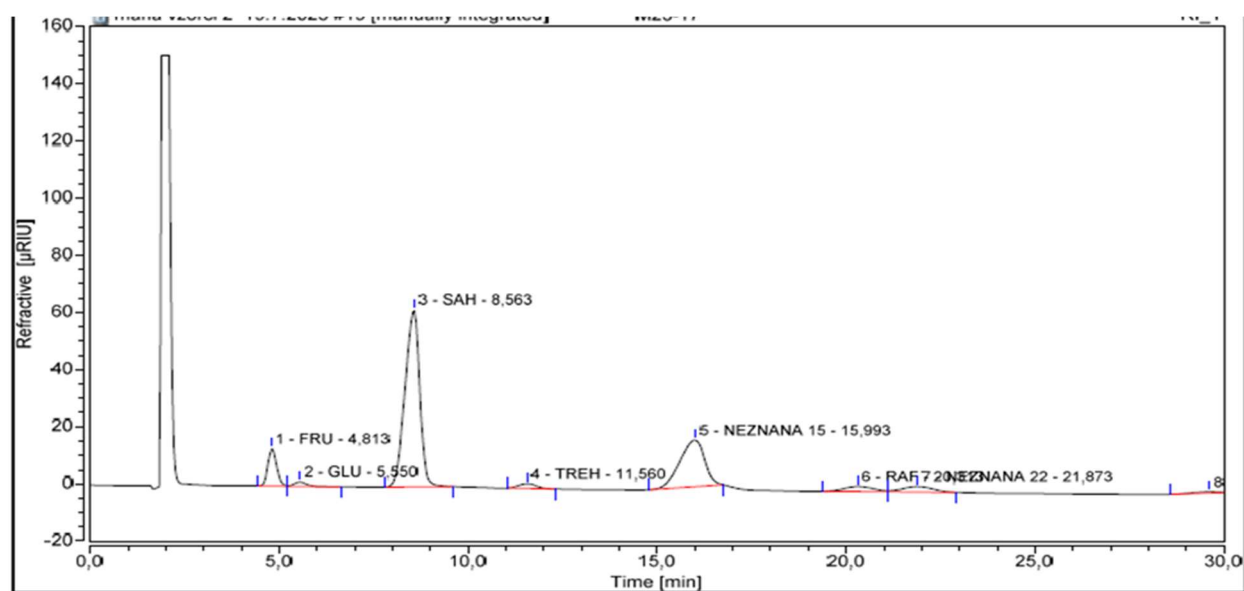


Slika 62. Kromatogram raztopine pripravljene iz vzorca vsebnosti mednega želodčka čebele (Č23-12).

Slika 62 prikazuje kromatogram raztopine, pripravljene iz vzorca vsebnosti mednega želodčka čebele, pri katerem so bili vidni zgolj vrhovi za glukozo, fruktozo in saharozo. Del vzorcev iz medenih želodčkov je tako kot v preteklem letu vseboval zgolj te tri sladkorje. Pri delu vzorcev iz medenih želodčkov pa so bili poleg vrhov za omenjene tri sladkorje vidni tudi vrhovi pri trehalozi, melcitozi in rafinozi poleg tega pa so bili zaznani tudi vrhovi na dveh mestih za katerih standardov nismo imeli. Situacija je prikazana na sliki 63.



Slika 63 . Kromatogram raztopine pripravljene iz vzorca vsebnosti mednega želodčka čebele (Č23-42).



Slika 64. Kromatogram vzorca pripravljenega iz mane (M23-17).

Slika 64 prikazuje kromatogram vzorca, pripravljenega iz mane. Na kromatogramih analiziranih vzorcev mane so bili vrhovi vidni na mestih glukoze, fruktoze, saharoze, melcitoze, trehaloze, maltoze in rafinoze vidni pa

so bili tudi vrhovi na 4 dodatnih mestih ki v standardu niso bili zajeti. Glede na mesta vrhov smo jih označili z oznako "neznana 15", "neznana 22", "neznana 27" in "neznana 29".

V preglednicah 6 in 7 podajamo vrednosti sladkorjev, ki smo jih analizirali.

Tabela 6. Vsebnosti sladkorjev v analiziranih vzorcih mednih želodčkov.

Oznaka vzorca	Številka vzorca	Odstotek glede na celotno vsebnost sladkorjev											SUM površin
		FRU	GLU	SAH	MAL	TREH	NEZNA NA 15	MELI	RAF	NEZNA NA 22	NEZNA NA 27	NEZNA NA 29	
C23	12	35,78	34,27	29,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	9,74
C23	15	30,41	24,08	27,28	0,00	0,00	6,55	11,68	0,00	0,00	0,00	0,00	14,11
C23	20	40,20	35,90	23,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,74
C23	41	32,55	18,98	39,65	0,00	0,00	2,76	6,06	0,00	0,00	0,00	0,00	12,25
C23	42	18,74	12,65	36,18	0,00	2,49	10,57	17,32	1,49	0,00	0,00	0,56	27,31
C23	44	26,89	20,16	27,99	0,00	1,49	7,14	15,68	0,65	0,00	0,00	0,00	18,85
C23	45	30,42	16,12	44,69	0,00	0,77	2,64	5,36	0,00	0,00	0,00	0,00	11,09
C23	47	30,03	23,62	25,20	0,00	1,47	5,57	14,11	0,00	0,00	0,00	0,00	15,14
C23	48	24,69	19,71	26,99	0,00	2,14	4,56	20,92	0,99	0,00	0,00	0,00	26,49
C23	49	34,17	24,03	24,68	0,00	1,12	4,35	11,65	0,00	0,00	0,00	0,00	14,89
C23	60	21,44	14,87	29,86	0,00	2,19	8,35	23,29	0,00	0,00	0,00	0,00	22,85
C23	61	31,16	26,40	42,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,20
C23	75	20,72	15,80	50,07	0,52	1,47	7,84	0,93	0,76	0,00	0,00	1,90	20,63

Tabela 7. Vsebnosti sladkorjev v analiziranih vzorcih mane.

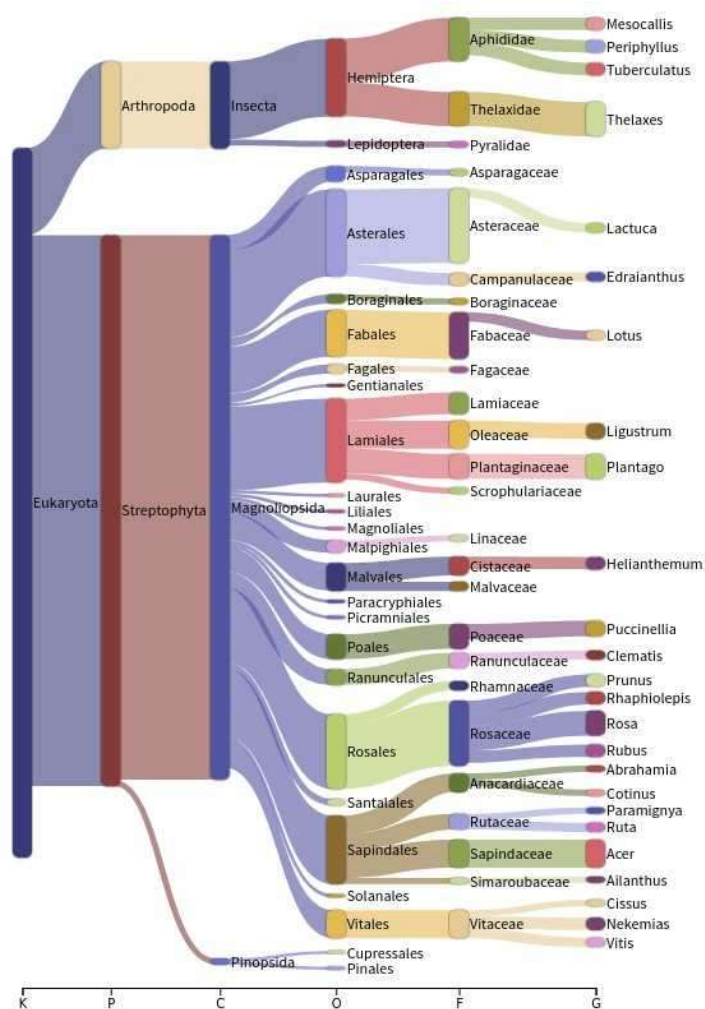
Oznaka vzorca	Številka vzorca	Odstotek glede na celotno vsebnost sladkorjev											SUM površin
		FRU	GLU	SAH	MAL	TREH	NEZNA NA 15	MELI	RAF	NEZNA NA 22	NEZNA NA 27	NEZNA NA 29	
M23	1	13,81	0,00	41,75	0,00	0,00	9,13	35,31	0,00	0,00	0,00	0,00	5,95
M23	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
M23	3	10,85	0,00	89,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,49
M23	4	11,09	2,74	51,59	0,00	1,22	17,42	15,94	0,00	0,00	0,00	0,00	7,40
M23	5	10,12	0,69	55,29	0,00	1,90	15,73	16,28	0,00	0,00	0,00	0,00	8,47
M23	6	7,96	0,00	62,48	0,00	3,14	26,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,32
M23	7	10,63	0,00	48,43	0,00	2,84	7,87	30,23	0,00	0,00	0,00	0,00	4,51
M23	8	11,87	1,15	44,78	0,00	2,05	5,50	34,64	0,00	0,00	0,00	0,00	5,35
M23	9	69,30	0,00	30,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21
M23	10	8,13	0,00	54,70	0,00	2,62	11,43	23,12	0,00	0,00	0,00	0,00	9,54
M23	11	11,45	0,00	56,62	0,00	0,00	19,20	8,90	0,00	0,00	0,00	3,84	3,84
M23	12	7,27	0,00	56,70	0,00	2,50	18,43	15,09	0,00	0,00	0,00	0,00	7,90
M23	13	9,25	0,00	54,85	0,00	0,00	19,75	16,15	0,00	0,00	0,00	0,00	5,39
M23	14	7,62	0,47	62,88	0,00	1,04	16,28	7,96	1,15	0,00	0,00	2,58	9,54
M23	17	7,21	1,16	57,23	0,00	1,67	25,20	0,00	3,19	3,67	0,00	0,67	50,45
M23	18	14,97	1,78	37,37	0,00	0,00	18,94	15,78	2,40	0,00	0,00	8,76	9,39
M23	19	10,59	0,00	41,44	0,00	0,00	13,49	34,48	0,00	0,00	0,00	0,00	3,82
M23	21	6,86	0,51	65,29	0,00	0,00	6,21	21,14	0,00	0,00	0,00	0,00	10,46
M23	25	35,15	12,47	22,81	7,76	0,00	9,35	3,09	0,00	0,00	0,00	9,38	6,24
M23	27	20,39	1,17	36,35	0,00	0,00	17,24	15,14	0,00	0,00	0,00	9,71	9,93
M23	28	6,81	0,00	59,83	0,00	0,00	3,81	29,55	0,00	0,00	0,00	0,00	6,93
M23	44	5,87	0,00	94,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,47
M23	47	12,72	2,58	53,09	0,00	0,00	19,04	12,58	0,00	0,00	0,00	0,00	5,39
M23	51	10,72	2,91	46,41	0,00	2,16	21,72	16,08	0,00	0,00	0,00	0,00	8,71
M23	55	27,23	6,56	18,85	0,00	0,00	0,00	47,35	0,00	0,00	0,00	0,00	1,92
M23	57	7,88	7,35	68,31	0,00	9,48	4,35	0,00	2,62	0,00	0,00	0,00	9,03
M23	58	5,20	1,93	80,31	0,00	0,00	9,22	0,00	2,23	0,00	0,00	1,11	39,29
M23	59	6,34	0,00	61,80	0,00	3,74	28,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,96
M23	60	8,00	0,00	58,44	0,00	1,90	25,37	6,28	0,00	0,00	0,00	0,00	10,93
M23	61	18,09	2,11	25,11	0,00	3,97	7,05	39,17	0,80	0,00	1,51	2,19	26,92
M23	62	9,77	0,00	59,95	0,00	1,71	8,12	20,45	0,00	0,00	0,00	0,00	3,11
M23	63	7,52	0,51	58,93	0,00	2,41	18,58	8,30	1,79	0,00	0,00	1,96	18,66
M23	64	16,04	3,71	45,91	0,00	0,00	17,72	12,72	0,00	0,00	0,00	3,90	6,55
M23	66	29,80	0,00	70,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12
M23	67	21,32	12,47	22,53	0,66	2,49	9,34	23,08	0,00	0,00	3,03	5,09	41,78
M23	69	8,92	0,00	59,81	0,00	2,67	18,69	9,91	0,00	0,00	0,00	0,00	3,96
M23	70	28,55	0,00	42,04	0,00	0,00	24,55	4,86	0,00	0,00	0,00	0,00	7,21
M23	71	5,76	1,66	57,73	0,00	3,77	16,48	12,17	2,43	0,00	0,00	0,00	16,11
M23	72	7,80	0,00	57,81	0,00	0,00	14,70	19,69	0,00	0,00	0,00	0,00	4,65
M23	73	22,76	0,00	38,62	0,00	1,63	20,04	0,00	0,00	0,00	0,00	16,95	7,62
M23	74	27,36	0,00	72,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,62
M23	75	7,26	0,00	65,12	0,00	0,00	0,00	27,62	0,00	0,00	0,00	0,00	3,14
M23	76	15,56	0,44	37,14	0,00	1,90	10,09	31,84	0,00	0,00	0,00	3,03	7,17
M23	77	8,34	0,00	45,87	0,00	0,00	0,00	45,79	0,00	0,00	0,00	0,00	1,90
M23	78	5,44	0,00	68,18	0,00	0,00	26,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,13
M23	79	9,28	0,00	54,08	0,00	0,00	15,02	21,62	0,00	0,00	0,00	0,00	5,98
M23	80	7,31	0,00	73,70	0,00	0,00	18,99	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,62
M23	81	6,99	0,00	67,11	0,00	0,00	25,89	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,43
M23	82	7,17	0,00	58,60	0,00	2,77	7,95	23,50	0,00	0,00	0,00	0,00	7,31
M23	83	12,81	0,00	73,08	0,00	0,00	14,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,26
M23	89	18,02	8,02	41,01	0,00	0,00	6,17	26,78	0,00	0,00	0,00	0,00	2,79
M23	95	11,38	1,41	40,69	0,00	2,85	9,58	34,10	0,00	0,00	0,00	0,00	3,46
M23	102	8,17	0,00	60,00	0,00	0,00	16,22	15,61	0,00	0,00	0,00	0,00	2,52
M23	103	7,99	0,00	55,58	0,00	2,87	12,46	21,11	0,00	0,00	0,00	0,00	6,55
M23	112	8,77	0,00	56,25	0,00	2,24	3,84	28,90	0,00	0,00	0,00	0,00	4,53
M23	113	7,15	0,00	65,45	0,00	3,34	24,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,91
M23	114	7,09	0,00	50,86	0,00	3,16	14,08	24,82	0,00	0,00	0,00	0,00	3,99

3.4 VZPOSTAVITEV PROTOKOLOV ZA DOLOČANJE BOTANIČNIH IN MANINIH ELEMENTOV V MEDU

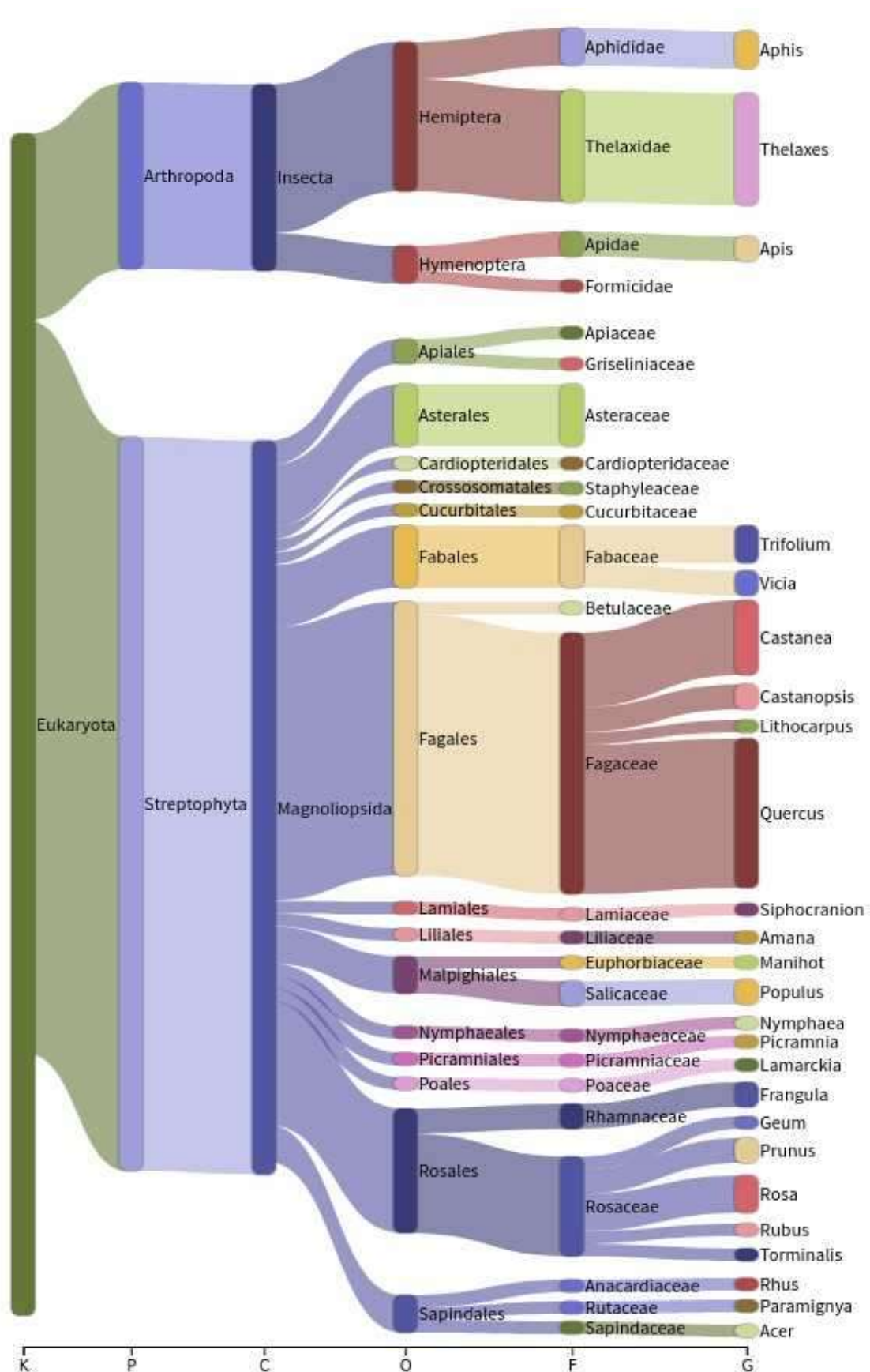
Za vzpostavitev protokolov za določanje botaničnih in maninih elementov v medu smo v sezoni 2022 na podlagi že objavljenih študij (Utzeri in sod., 2018; Prosser in Herbert) postavili metodo, ki smo jo optimirali in posamezne korake preizkusili na 6 vzorcih medu (POROČILO 2022 – Moškrič in sod.). V letu 2023 smo se osredotočili na bioinformatični del analize, kjer je zaradi nepopolnih podatkovnih baz in specifik posameznih nukleotidnih zaporedij, velika potreba po dodatni optimizaciji. Poleg tega smo glede na lanske rezultate načrtovali dodatne oligonukleotidne začetnike za izboljšanje uvrščanja posameznih zaporedij v taksonomske enote. Postopek je podrobneje opisan v poglavju 2 Metode dela.

3.4.1 Prikaz rezultatov molekularne identifikacije virov medenja na podlagi 6 vzorcev medu

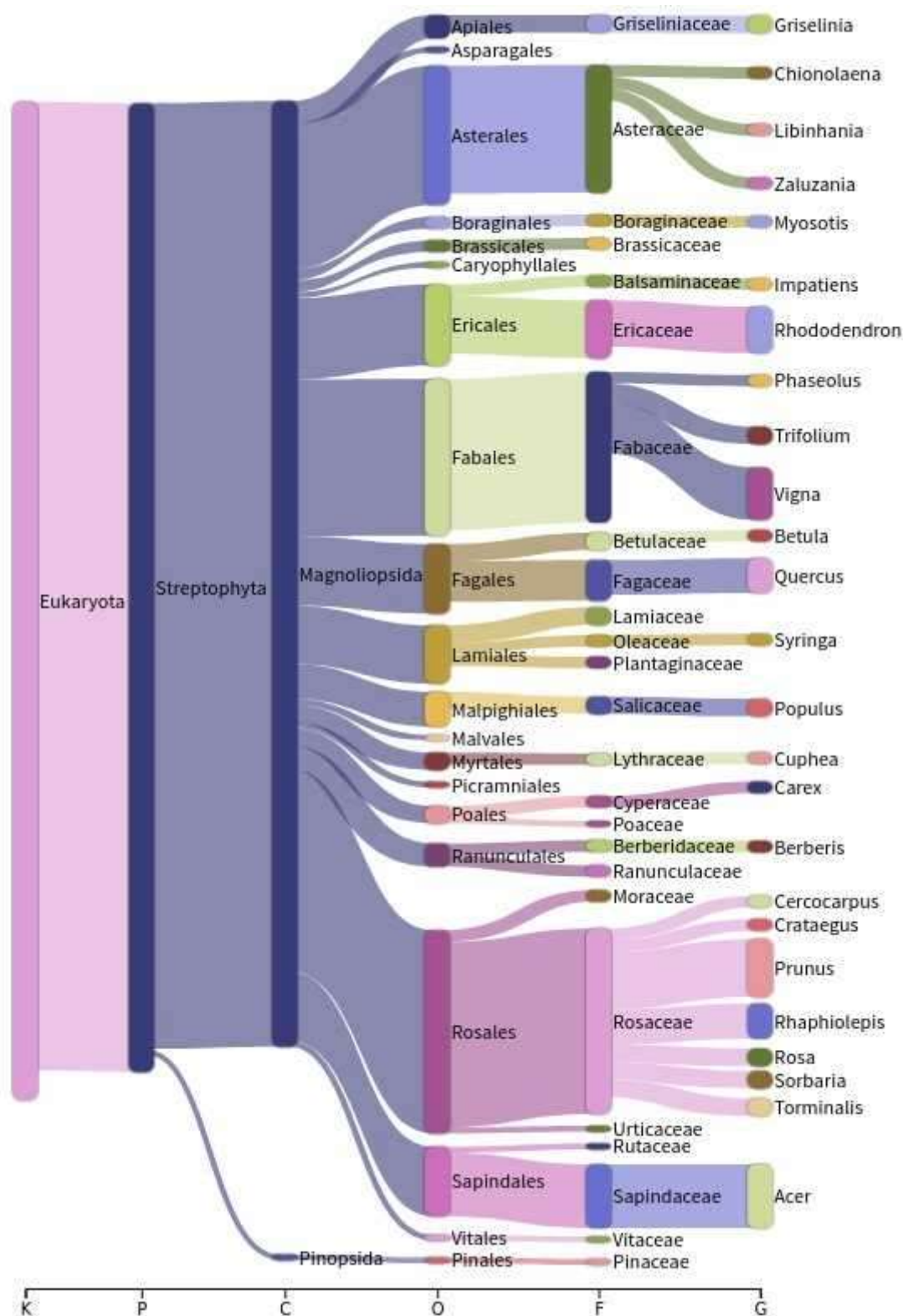
Za vseh šest vzorcev medu, ki so nam v letu 2022 služili za preverjanje primernosti metode, smo grafično prikazali pestrost informacij o prisotnih organizmih (Sankey diagram, Slike 65 do 70), po optimirani bioinformatični analizi.



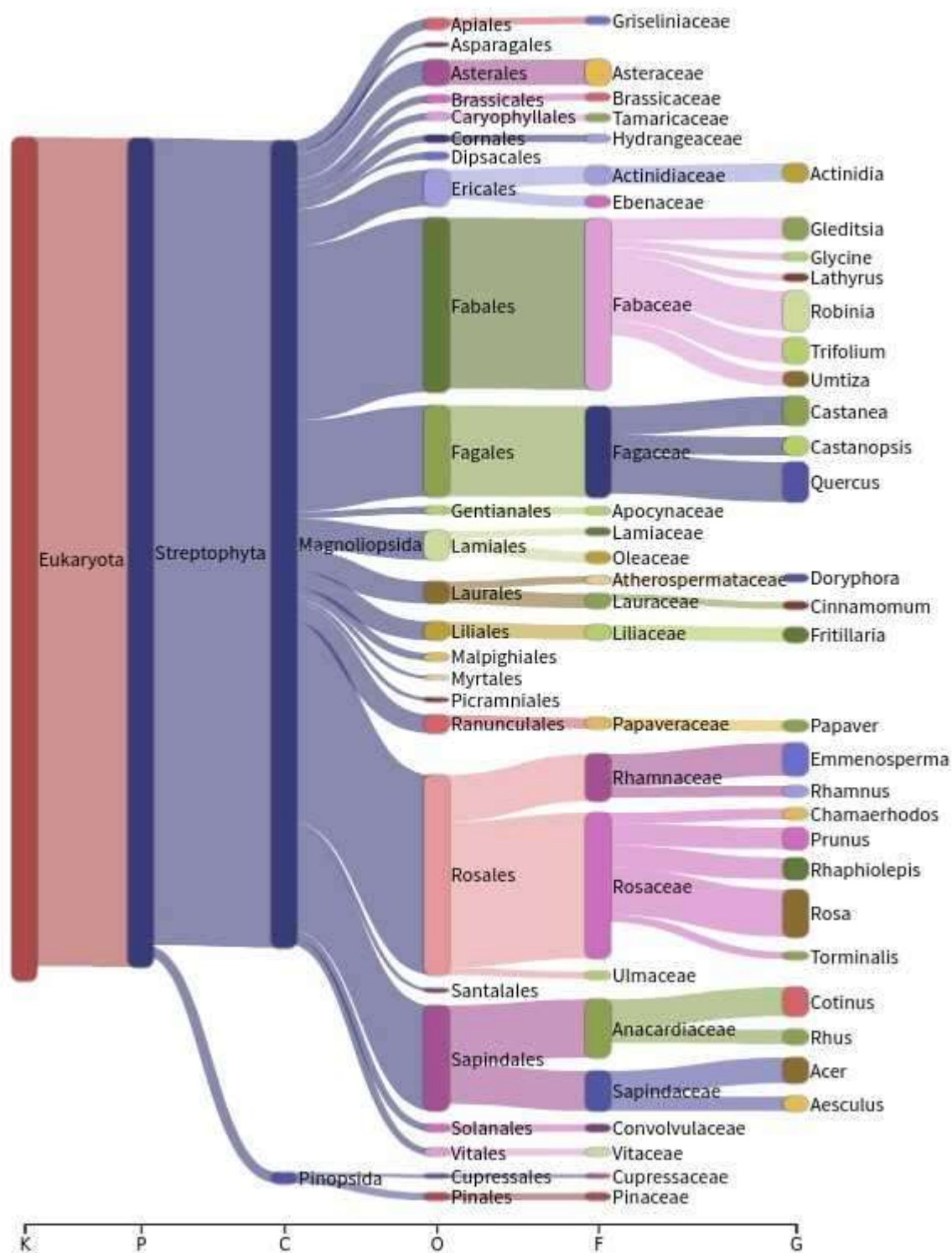
Slika 65. Sankey diagram za vzorec medu IonXpress-023.



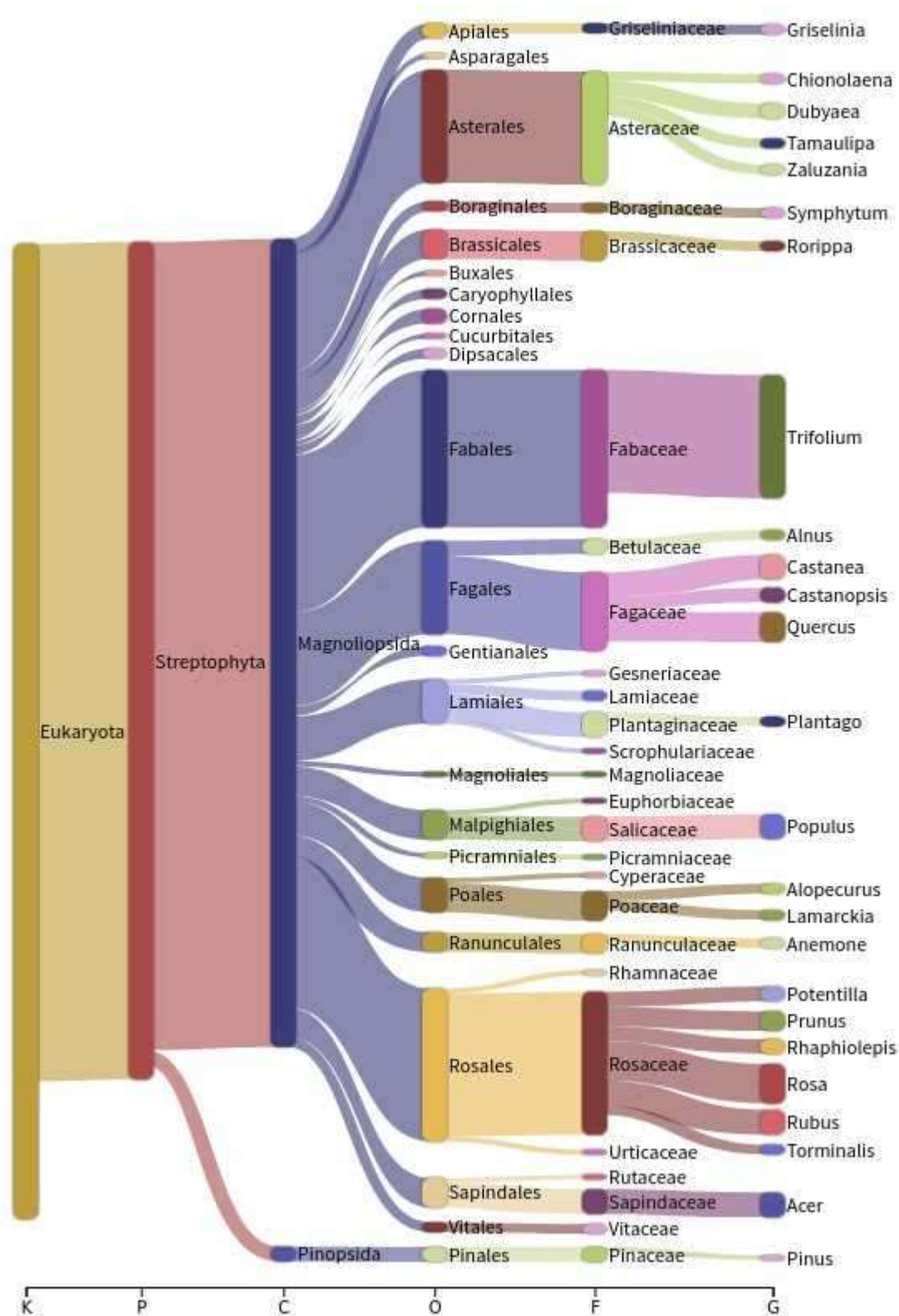
Slika 66. Sankey diagram za vzorec medu IonXpress-025.



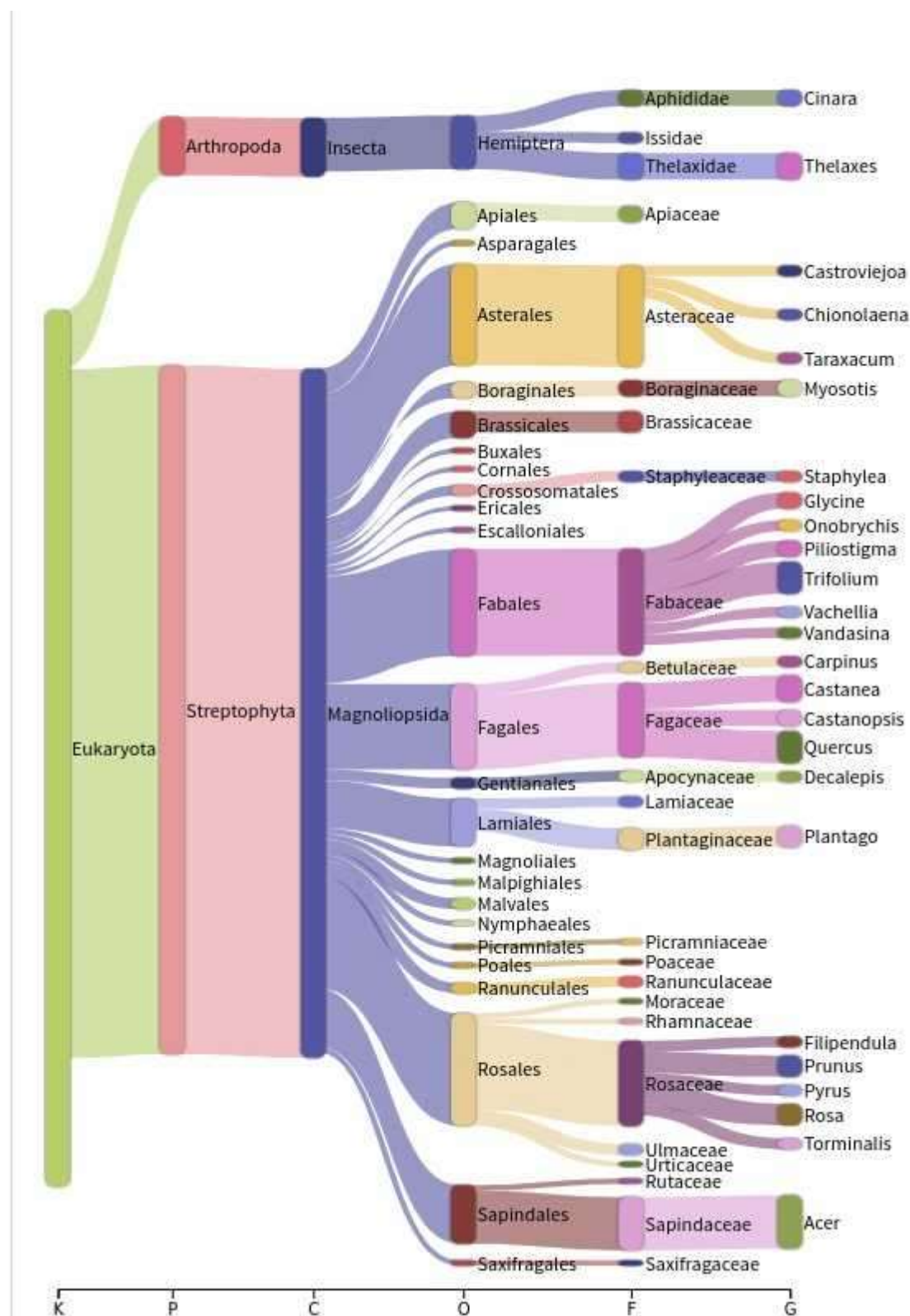
Slika 67. Sankey diagram za vzorec medu IonXpress-056.



Slika 68. Sankey diagram za vzorec medu lonXpress-061.



Slika 69. Sankey diagram za vzorec medu IonXpress-026.



Slika 70. Sankey diagram za vzorec medu IonXpress-022.

3.5 OCENA GOSTOTE IN KONKURENČNOSTI MED ČEBELJIMI DRUŽINAMI, KI TEKMUJEJO ZA ISTI VIR

3.5.1 Sončnice in ajda

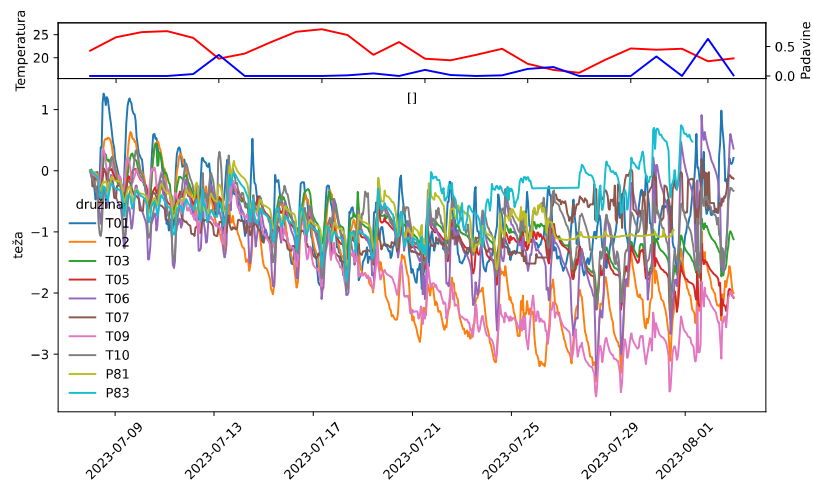
Na Grobeljskem polju je bilo 6.7.2023 zabeleženo cvetenje ajde v oddaljenosti 400 m; dodatno pa je 7. 7. 2023 zabeleženo cvetenje sončnice v oddaljenosti 600 m od čebelnjaka. S tem dnem smo začeli spremljati donose; merjenje donosov smo zaključili 1.8. 2023, ko smo zaznali zaključek obeh posevkov. Oba posevka sta bila intenzivno obiskana s strani čebel; prispevka posameznega vira ni bilo mogoče določiti.



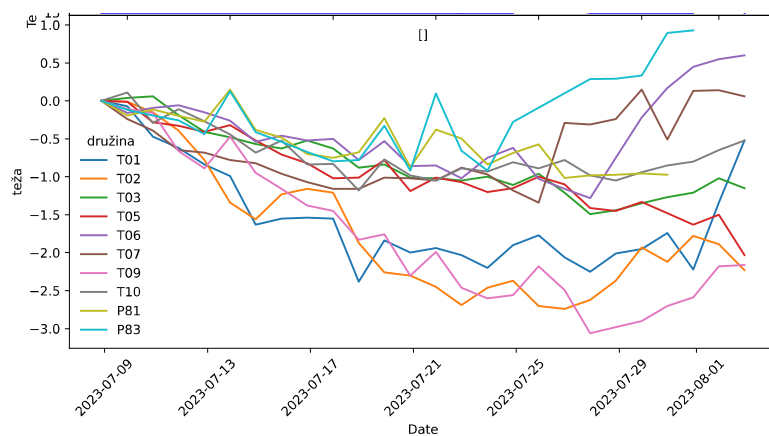
Slika 71. Začetek cvetenja sončnic na njivi velikosti 1,0 ha, na delih parcel 277/1, 278/1, 279, 281 in 282 KO Trzin (levo) in začetek cvetenje ajde na njivi v skupni velikosti 4,42 ha, na delih parcel 1028 - 1037 KO Loka in 4804 - 4809 KO Mengeš (sredina). Desno: konec cvetenja ajde, nekaj cvetočih rastlin na robu njive.

Glede na podatke registra čebeljih družin z dne 14.7.2022 se v 3 km krogu od poskusnega čebelnjaka nahaja 623 družin v 66 čebelnjakih. Znotraj 1 km kroga okoli stojišča se nahajata 2 čebelnjaka, s skupaj eno prijavljeno družino. V 1 km krogu od centroida njive s posevkom ajde so štirje čebelnjaki, s skupaj 27 prijavljenimi čebeljimi družinami, ki neposredno konkurirajo za vir. V 1 km krogu od centroida njive sončnice smo glede na podatke registra čebeljih družin zabeležili 89 čebeljih družin. Na dan 1. 8.2023 je bil zabeležen konec cvetenja sončnice in v večji meri tudi ajde, nekaj cvetočih rastlin je ostalo na obronkih polj (**Napaka! Vira sklicevanja ni bilo mogoče najti.**71).

Povprečna število satov zalege je med datumoma upadla (iz 9 na 7), kar je opazno zlasti pri najmočnejših družinah; istočasno se je povečala njihova živalnost, kar lahko razložimo s poleganjem zalege. Ob upadu povprečja medenih zalog (iz 6 satov na 5) po družinah zaključujemo, da v tem obdobju enostavno ni bilo dovolj virov; medene zaloge so se zvišale le v družinah, katerih živalnost smo ob prvem merjenju ocenili s 3 ali 4; dve od teh so merjenje zaključile s pozitivno bilanco. Donosi so prikazani na slikah 72 in 73, jakost družin v poskusu pa tabelarično v tabeli 8.



Slika 72. Donosi na ajdi in sončnici. Primerjava med desetimi družinami različnih jakosti.



Slika 73. Povprečni dnevni donosi na ajdi in sončnici. Primerjava med desetimi družinami različnih jakosti.

Tabela 4. Ocena jakosti družin pred in po merjenju. Zalega in med sta seštevka površin celotne družine.

	Zalega (št. satov)		Živalnost		Med (št. satov)	
	07/07/2023	01/08/2023	07/07/2023	01/08/2023	07/07/2023	01/08/2023
P81	10	8	4	4	6	9
P83	11	7	3	3	7	8
T01	8	9	2	3	5	3
T02	10	2	2	2	5	3
T03	8	6	2	4	8	4
T05	10	7	2	2	6	1
T06	10	7	2	3	6	2
T07	14	9	3	4	12	14
T09	5	7	1	2	4	2
T10	9	8	2	3	5	4

4 INTERPRETACIJA REZULTATOV

4.1 SPREMLJANJE MEDENJA NA OBMOČJIH Z VIŠJO NADMORSKO VIŠINO NA 35 OPAZOVALNIH POSTAJAH

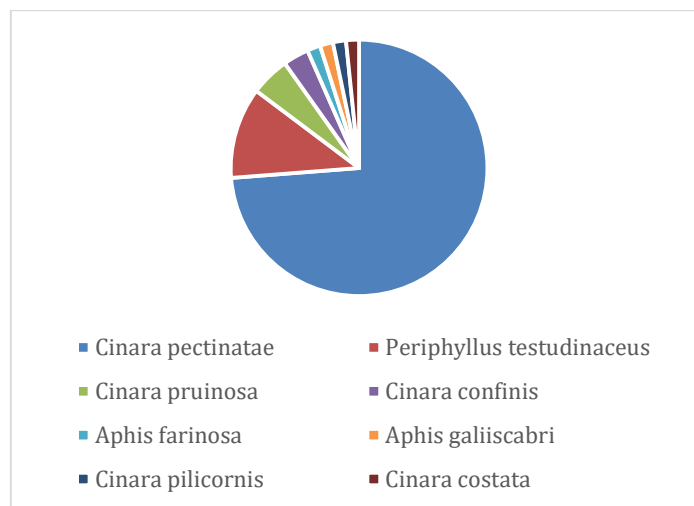
Na 35 opazovalnih postajah se je letos drugo leto zapored spremljalo medenje. Klub temu da gre za lokacije na višjih legah in ponekod za lokacije, ki so za čebelarje običajno manj zanimive je letos večina lokacij upravičila naša pričakovanja. Izmed 35 spremljanih lokacij je kar 30 lokacij merjenje zaključilo s pozitivno bilanco. Znotraj obdobja izvajanja raziskave je imelo negativne donose 10 od 35 postaj. Rekorder vseh lokacij je bila lokacija Snežnik- Smrekovec kjer je bilo ob zaključki sezone spremljanja kar 46,44 kg donosa. Razlog za to je predvsem dobro medenje javorja, smreke in kasneje izločanje zelene hojeve uši na jelki. Velike donose smo beležili tudi na lokacijah Smrečno – Pohorje, Lokovec – Nova Gorica, Mežakla, Snežnik - Črni dol in Kalce - Hrušica. Na večini teh lokacij ter na nekaterih drugih lokacijah ki so beležila pozivna stanja je bilo najprej prisotno dobro medenje na javorju, temu pa je ponekod sledilo medenje lipe in kostanja ter izločanje uši na smreki ali jelki. Največja izguba je bila zabeležena na lokacijah Limovce - Trojane (-17.4 kg) in Osankarica - Pohorje (-17.8 kg).

Tekom spremljanja donosov so se pokazale tudi pomanjkljivosti pokritosti z omrežjem. Kljub dobremu signalu na mobilnem telefonu smo na nekaterih lokacijah beležili težave z dnevnim posredovanje podatkov. Na vseh lokacijah smo težave sproti odpravljali vendar bo potrebno, če bo tako tudi v nadaljevanju, katero od lokacij zaradi tega prestaviti.

4.2 MOLEKULARNE ANALIZE POVZROČITELJEV MEDENJA

Mano proizvajajo kljunate žuželke (Hemiptera) iz podreda *Coccoidea* (kaparji, ščitaste uši) in *Aphioidea* (listne uši), ter samo nekatere vrste podreda *Psylloidea* (bolšice ali listne bolhe) in *Cicadoidea* (škržati).

Mitohondrijski označevalec COI (citokrom oksidaza 1) je uveljavljen v študijah ugotavljanja vrstne pestrosti z metodo DNA (meta)barcoding. V letošnjem letu smo postavili podatkovno zbirko nukleotidnih zaporedij za fragment COI (barcode) za povzročitelje medenja v Sloveniji, ki vsebuje podatek o lokaciji, slikovno gradivo, datum vzorčenja, nukleotidno zaporedje v fasta formatu. Vsa nukleotidna zaporedja smo preverili v podatkovni zbirki BOLD.



Slika 68. Grafični prikaz deleža vrst molekulsko identificiranih povzročiteljev medenja (N=61).

Večina zaporedij identificiranih povzročiteljev medenja (52 od 61) je pripadala rodu *Cinara*, večina od teh (45) zeleni hojevi ušci, 7 javorjevi uši (*Periphyllus testudinaceus*), 2 pa vrstama iz rodu *Aphis*. Iz grafa zgoraj (Slika 68) sta izločeni dve zaporedji, ki namesto povzročiteljem medenja pripadata parazitoidnim osam, in 4 vrste, ki se prehranjujejo na rastlinah, a ni znano, da bi povzročale medenje.

Na terenu smo našli in vzorčili tudi kaparje, toda nukleotidna zaporedja niso bila ustrezne kakovosti za zanesljivo identifikacijo. V takih primerih bo potrebna dodatna optimizacija PCR programa ali pa uporaba drugega odseka DNK za pomnoževanje vsaj za to skupino.

Skupno smo v vzorcih zaznali 10 vrst povzročiteljev medenja, znotraj tega pa je bila na molekulskem nivoju zaznana večja pestrost.

4.3 KROMATOGRFSKE ANALIZE SLADKORJEV V MANI Z NAPRAVO HPLC

Letošnje leto smo vzorce analizirali na vsebnost glukoze, fruktoze, saharoze, melicitoze, trehaloze, maltoze in rafinoze. Izhajali smo iz metode za določanje sladkorjev v medu (Bogdanov, 2009). Ker količina mane pri vzorčenju ni natančno znana (nahaja se lahko tudi na zunanji površini kapilare, ter na steni vial) smo v letošnjem letu namesto koncentracije sladkorjev podali razmerja med različnimi sladkorji, ki smo jih zaznali v vzorcih. Uporabi dodatnih standardov za sladkorje navkljub smo ugotovili da vzorci tako mane kot vsebine mednih želodčkov vsebujejo tudi druge komponente. V nekaterih od letos analiziranih vzorcih so bili prisotni štirje sladkorji, katerih standardov nismo imeli in smo jih v letošnjem letu poimenovali kot »NEZNANA #« in pripis retencijskega časa, kjer pik zaznamo na kromatogramu ("neznana 15" , "neznana 22" , "neznana 27" in "neznana 29"). Glede na to je v prihodnje smiselno identificirati tudi te sladkorje in tako pridobiti koristne informacije o sestavi sladkorjev v mani, ki jo čebele nabirajo. Glede na razlike v prisotnosti sladkorjev med

posameznimi vzorci pa je v prihodnje smiselno opraviti tudi primerjavo med posameznimi vzorci, med lokacijami in med različnimi viri medenja.

4.4 VZPOSTAVITEV PROTOKOLOV ZA DOLOČANJE BOTANIČNIH IN MANINIH ELEMENTOV V MEDU

V lanskem letu (2022 - Poročilo) smo naredili začetno postavitev in verifikacijo protokolov, v letošnjem letu pa smo dali poudarek na bioinformatične analize. Na šestih vzorcih medu, ki smo jih analizirali v letu 2022, smo letos po spremenjenem postopku analizirali rezultate in dobili alternativne diagrame Sankey. Glede na rezultate ugotavljamo, da se v bioinformatični analizi ob uporabi bolj omejujočih parametrov izgubi del informacije o vrstni pestrosti. V prihodnje bodo nujne dodatne optimizacije laboratorijskih postopkov (preizkušeni so bili dodatni oligonukleotidni začetniki za pomnoževanje specifičnih fragmentov, št. ciklov, temperatura pri ciklični reakciji PCR itd.), s katerimi bomo zajeli tudi tiste taksonomske skupine, ki jih v obstoječih protokolih ni mogoče določiti ali pa se zaradi podobnosti zaporedja uvrstijo v napačno OTU. Poleg tega bo kot dopolnitev informacije in za primerjavo rezultatov nujna izvedba pelodne analize, ki bo omogočila navzkrižno bioinformatično primerjavo z molekularnimi rezultati, ter z na terenu pridobljenimi podatki (žuželke). To je nujno za identifikacijo tako povzročiteljev kot tudi za molekularnih prstni odtis slovenskih medov.

4.5 OCENA GOSTOTE IN KONKURENČNOSTI MED ČEBELJIMI DRUŽINAMI, KI TEKMUJEJO ZA ISTI VIR

Družine na stojišču so druga drugi konkurenca. Hkrati pa tekmujejo tudi z drugimi družinami v bližini virov. Pri tem sta pomembna razdalja do vira ter razvitost družine. Glede na trend tehtnic mirno lahko zaključimo, da vira, ki sta cvetela v času spremljanja, nista zadostovala povpraševanju. Oba posevka sta bila na njivah v upravljanju KIS posejana kot glavna posevka, tudi ajda. Ajda se sicer v Sloveniji seje kot strniščni posevek in cveti avgusta.

Čebelarstva tehnika je zelo pomemben kos čebelarstva opreme; čebelarje se ozavešča o njenem pomenu. Izkaže se, da je določitev povprečne družine izredno težka naloga, saj se čebelje družine med seboj ločijo tako po značaju kot po prehranskih preferencah. Zato so sistemi z večimi tehtnicami na lokacijo zelo dobrodošli. Glavna kritika je nezanesljivost bolj kompleksnih sistemov. Pogosta kritika je, da so kompleksni sistemi bolj energetsko požrešni in da niso dovolj robustni, zlasti, če so nameščeni pod nakladnimi panji.

5 SPLOŠNE UGOTOVITVE

Donosi medu so v Sloveniji nezanesljivi in spremenljivi – odvisni od vsakoletnih vremenskih pogojev in bolezni. Učinkovitejše izkoriščanje alternativnih paš na višjih nadmorskih legah je ena od možnosti za optimizacijo pridelave medu. Da lahko ocenimo, koliko čebeljih družin lahko čebelarji pripeljejo na posamezno lokacijo in imajo z njimi še dobiček, moramo poznati dinamiko pojavljanja povzročiteljev medenja med sezonami in znotraj sezone.

V letošnjem letu smo uspešno spremljali donose medu, vremenske razmere in medenje na 35 opazovalnih postajah. Vsekakor je nujno tovrstno spremljanje skozi daljše – večletno obdobje. Skozi večletno zaporedno opazovanje bo mogoče sklepati, katere lokacije so bolj primerne za čebelarjenje in katere ne. Jasno je, da ena sezona ne zadošča, saj se sezone med seboj močno razlikujejo. Hkrati je nujna študija kompeticije med družinami za iste vire, kar da metodologijo za preučevanje konkurenčnosti in optimalne gostote na viru.

Na novih lokacijah smo poleg tega spremljali in identificirali povzročitelje medenja. Za namen spremljanja virov medicinske pa smo vzpostavili protokole za molekularno identifikacijo botaničnih in živalskih virov medenja in v letošnjem letu dodatno optimirali bioinformatične analize. Ocenjujemo, da bo v prihodnje nujna dodatna optimizacija tako molekularnih kot bioinformatičnih analiz na tem področju ter navzkrižno primerjanje teh rezultatov tako s popisi taksonov v RS kot z dejanskimi organizmi, nabranimi v okolici merilnih postaj v času medenja. Poleg tega bo kot komplementarna metoda dobro služila pelodna analiza. Menimo, da lahko na ta način z leti naredimo prstni odtis medu za določene lokacije. Nujna je tudi vzpostavitev knjižnice podatkov o možnih povzročiteljih medenja in njihovih lokacijah, kar smo začeli vzpostavljati tekom te naloge.

6 VIRI

- Bogdanov S. 2009. Harmonised methods of the International Honey Commission. Liebefeld, International Honey Commission, Bee Product Science (<https://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>)
- Chang F., Liu G.L., Liu C.J., Li M.M. 2015. Somatic Diseases (Cancer): Amplification-Based Next-Generation Sequencing. Clinical Genomics Elsevier Inc.
- Chen S., Yao H., Han J., Liu C., Song J., Shi L., Zhu Y., Ma X., Gao T., Pang X., Luo K., Li Y., Li X., Jia X., Lin Y., Leon C. 2010. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. PLoS ONE, 5, 1: 1–8
- Folmer, O.; Black, M.; Hoeh, W.; Lutz, R.; Vrijenhoek, R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 1994, 3, 294–299.
- Khansaritoreh E., Salmaki Y., Ramezani E., Akbari Azirani T., Keller A., Neumann K., Alizadeh K., Zarre S., Beckh G., Behling H. 2020. Employing DNA metabarcoding to determine the geographical origin of honey. Heliyon, 6, 11: e05596
- Moškrič, Ajda ; Prešern, Janez ; Marinč, Andraž ; Mole, Katarina ; Bozovičar, Aleš; Debelak, Aljaž; Žerovnik, Tina. 2022. Raziskava iskanja alternativnih paš in karakteristike medu v povezavi s povzročitelji medenja : programsko obdobje 2020-2022; poročilo o izvedenih nalogah v letu 2022
- M Mirdita, M Steinegger, F Breitwieser, J Söding, E Levy Karin, Fast and sensitive taxonomic assignment to metagenomic contigs, Bioinformatics, Volume 37, Issue 18, 15 September 2021, Pages 3029–3031, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab184>
- Prešern, Mihelič, Kobal. Growing stock of nectar- and honeydew-producing tree species determines the beekeepers' profit. For Eco Management 2019, 448, 490 - 498.
- Sathishkumar R., Balachandran K.R.S., Mohanasundaram S. 2015. DNA barcoding: a geno-mic-based tool for authentication of phytomedicinals and its products. Botanicals: Tar-gets and Therapy, 77
- Shokralla S., Spall J.L., Gibson J.F., Hajibabaei M. 2012. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. Molecular Ecology, 21, 8: 1794–1805
- Šivic F. Gozdna paša. Spletna stran ČZS. (<https://www.czs.si/content/C42>)
- Prosser S.W.J., Hebert P.D.N. 2017. Rapid identification of the botanical and entomological sources of honey using DNA metabarcoding. Food Chemistry, 214: 183–191

Utzeri, V.J., Schiavo, G., Ribani, A. et al. Entomological signatures in honey: an environmental DNA metabarcoding approach can disclose information on plant-sucking insects in agricultural and forest landscapes. Sci Rep 8, 9996 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27933-w>

Voelkerding K. V., Dames S.A., Durtschi J.D. 2009. Next-generation sequencing:from basic research to diagnostics. Clinical Chemistry, 55, 4: 641–658