SLOVENSKO AKADEMSKO ČEBELARSKO DRUŠTVO

Kmetijski inštitut Slovenije

4. ZNANSTVENI POSVET O ČEBELAH IN ČEBELARSTVU

POKLUKARJEVI DNEVI 2022

ZBORNIK PRISPEVKOV

Ljubljana, 18. november 2022

Zbornik prispevkov
4. ZNANSTVENI POSVET O ČEBELAH IN ČEBELARSTVU
Z MEDNARODNO UDELEŽBO
POKLUKARJEVI DNEVI 2022
Ljubljana 2022

Organizator
Slovensko akademsko čebelarsko društvo (SAČD)
Kmetijski inštitut Slovenije (KIS)

Izdal
Slovensko akademsko čebelarsko društvo (SAČD)
Kmetijski inštitut Slovenije (KIS)

Direktor KIS
Prof. dr. Andrej Simončič

Predsednica SAČD
Doc. dr. Maja Ivana Smodiš Škerl

Urednica
Doc. dr. Maja Ivana Smodiš Škerl

Za jezik odgovarjajo avtorji prispevkov.

Publikacija bo izšla v elektronski obliki in bo objavljena na naslovu:
https://www.kis.si/Poklukar/Poklukarjevi_dnevi2022/

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani
COBISS.S-ID 139631363
ISBN 978-961-6998-67-3 (Kmetijski inštitut Slovenije, PDF)

ORGANIZACIJSKI ODBOR

Predsednica:
Doc. dr. Maja Ivana Smodiš Škerl, Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

Člani:
Mag. Amalija Božnar, blagajničarka SAČD
Dr. Ajda Moškrič, Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana
Marjan Papež, član upravnega odbora SAČD
Doc. dr. Janez Prešern, Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana
Mitja Nakrst, član upravnega odbora SAČD
Prof. dr. Vlasta Jenčič, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana
Prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvaška

ZNANSTVENI ODBOR

Predsednica:
Prof. dr. Vlasta Jenčič, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Slovenija

Člani:
Dr. Ajda Moškrič, Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana
Prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvaška
Doc. dr. sc. Marin Kovačić, Fakultet za agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmeyera u Osijeku, Hrvaška
Dr. sc. Josipa Vlainić, Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Hrvaška

V spomin dr. Janezu Poklukarju (1960 - 2004)

Poklukarjeve dneve 2022 posvečamo slovenskim in hrvaškim študentom pred diplomo ali magisterijem, mladim diplomantom, doktorskim študentom, doktorandom in mladim s podoktorsko raziskavo. Glavne teme predavanj so s področja genetike in selekcije, patologije in biologije čebel, opraševanja, divjih čebel, čebeljih pridelkov in tehnologije čebelarjenja.
Novosti letošnjega posveta so ocenjevanja predavateljev in svečana podelitev nagrade, ter hibridni način izvedbe posveta v dvorani Kmetijskega inštituta Slovenije in na daljavo preko Zoom in družbenega omrežja Facebook.

Dobitnik nagrade za najboljšo predstavitev z naslovom: »Drobir in čebele negovalke kot matriksa za opredelitev stopnje tveganja za pojav hude gnilobe čebelje zalege« je **dr. Bojan Papić** z Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani.

Na mladih svet stoji

KAZALO

Program posvetovanja 6

Simplybee: stohastičen simulator za simulacijo populacij medonosne čebele 8

Analiza populacijskih in demografskih parametrov medonosne čebele 10

DNA metabarcoding - metoda za določanje biodiverzitete iz vzorcev medu 12

Značenje dijagnostičkog pretraživanja zimskih ostataka s podnice košnice za zdravstveno stanje pčelinjih zajednica (*Apis mellifera*) 14

Učinak dezinficijensa na bakteriju *Paenibacillus larvae* u laboratorijskim uvjetima 16

Določitev 22 nukleotidnih zaporedij celotnih genomov čebeljih virusov v zdravih in obolelih čebeljih družinah z metodo NGS 18

Utjecaj prihrane na pojavnost spora nozemoze (*Nosema* spp.) u zajednicama medonosne pčele (*Apis mellifera* L.) u proljeće 20

Drobir in čebele negovalke kot matriksa za opredelitev stopnje tveganja za pojav hude gnilobe čebelje zalege 22

Epidemiološke in klinične značilnosti hude gnilobe čebelje zalege v povezavi z genotipom *Paenibacillus larvae* 24

Važnost medonosne pčele u oprašivanju ekološkog nasada jabuke 26

Mehanizmi antibakterijskog djelovanja inovativnog ekstrakta propolisa 28

Razumijevanje značaja oprašivanja kukcima 30

Vpliv 2-heptanona na kranjsko čebelo (*Apis mellifera carnica*) 32

Priprema pčelinjih zajednica za pašu bagrema (*Robinia pseudoacacia*) 34

Izvedba in ugotavljanje uspešnosti prašenja matic (*Apis mellifera carnica*) z uporabo zamikanja paritvenih letov matic in trotov 36

Spletna aplikacija za usklajen nadzor varoze 38

Utjecaj prehrane na zdravlje i imunitet zajednica medonosne pčele (*Apis mellifera* L.) 40

PROGRAM POSVETOVANJA

Petek, 18. november 2022		
9:00	Pozdravni nagovori	
Tematski sklop 1	Genetika in selekcija čebel	
9:10	*BUBNIČ Jernej*	SIMplyBee: stohastičen simulator za simulacijo populacij medonosne čebele
9:30	*OBŠTETER Jana* *ŽEŽLINA Lenart*	Analiza populacijskih in demografskih parametrov medonosne čebele DNA metabarcoding – metoda za določanje biodiverzitete iz vzorcev medu
Tematski sklop 2	Patologija čebel	
9:50	*BAKARIĆ Klara*	Značenje dijagnostičkog pretraživanja zimskih ostataka s podnice košnice za zdravstveno stanje pčelinjih zajednica (*Apis mellifera*)
10:10	*TOMLJANOVIĆ Zlatko*	Učinak dezinficijensa na bakteriju *Paenibacillus larvae* u laboratorijskim uvjetima
10:30	Odmor za kavo	
10:50	*ŠIMENC Laura*	Določitev 22 nukleotidnih zaporedij celotnih genomov čebeljih virusov v zdravih in obolelih čebeljih družinah z metodo NGS
11:10	*ŠTAVALJ Josipa*	Utjecaj prihrane različitim pogačama na pojavnost nozemoze u zajednicama medonosne
11:30	*PAPIĆ Bojan*	Drobir in čebele negovalke kot matriksa za opredelitev stopnje tveganja za pojav hude gnilobe čebelje zalege
11:50	*ŽUGELJ Alenka*	Epidemiološke in klinične značilnosti hude gnilobe čebelje zalege v povezavi z genotipom *Paenibacillus larvae*
12:10	Odmor za kosilo	
Tematski sklop 3	Opraševanje	
13:10	*JAMAN Filip*	Važnost medonosne pčele u oprašivanju ekološkog nasada jabuke
Tematski sklop 4	Čebelji pridelki	
13:30	*VRANJEŠ Mihaela*	Mehanizmi antibakterijskog djelovanja inovativnog ekstrakta propolisa
Tematski sklop 5	Divje čebele	
13:50	*ARIFOVIĆ Klara*	Razumijevanje značaja oprašivanja kukcima
Tematski sklop 6	Biologija čebel	
14:10	*GOLOB Špela*	Vpliv 2-heptanona na kranjsko čebelo
14:30	Odmor za kavo	
Tematski sklop 7	Tehnologija čebelarjenja	
14:50	*MARIJANOVIĆ Andrija*	Priprema pčelinjih zajednica za pašu bagrema
15:10	*VIDMAR Tadeja*	Izvedba in ugotavljanje uspešnosti prašenja matic z uporabo zamikanja paritvenih letov matic in trotov
15:30	*MRVALJ Dino*	Spletna aplikacija za usklajen nadzor varoze
15:50	*MAJOROŠ Arnold*	Utjecaj prehrane na zdravlje i imunitet zajednica medonosne pčele (*Apis mellifera* L.)
16:10	RAZPRAVA IN PODELITEV NAGRADE	
16:50	Zaključek posveta	

SLOVENSKO AKADEMSKO ČEBELARSKO DRUŠTVO

Kmetijski inštitut Slovenije

4. ZNANSTVENI POSVET O ČEBELAH IN ČEBELARSTVU

POKLUKARJEVI DNEVI 2022

Zbornik prispevkov

Ljubljana, 18. november 2022

COBISS tipologija 1.12

SIMplyBee: STOHASTIČEN SIMULATOR ZA SIMULACIJO POPULACIJ MEDONOSNE ČEBELE

Jernej Bubnič[1], Jana Obšteter[1], Laura Strachan[2], Gregor Gorjanc[2], Janez Prešern[1]

jernej.bubnic@kis.si

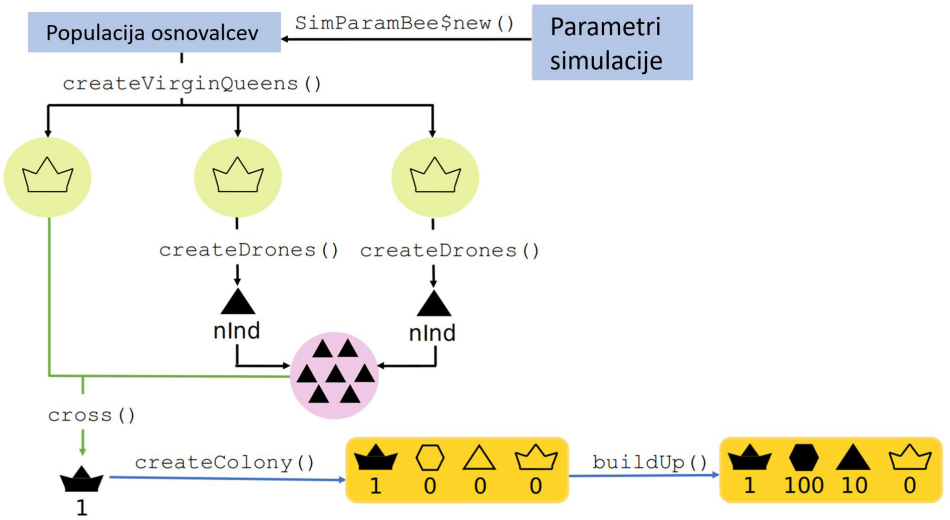
Izvleček

Testiranje različnih shem rejskih programov v praksi zaradi visokih stroškov in trajanja ni zaželeno, zato se uporabljajo računalniške simulacije. Obstaja več paketov programske opreme, ki omogočajo simulacije rejskih programov, nobeden izmed obstoječih simulatorjev pa ni prilagojen biološkim posebnostim čebel. Eden izmed bolj priljubljenih simulatorjev populacij in rejskih programov je AlphaSimR, ki smo ga nadgradili in tako razvili prvi simulator čebeljih populacij in rejskih programov SIMplyBee. SIMplyBee omogoča simulacijo posameznih čebel in pripadajočih kvantitativnih vrednosti. Biološke posebnosti čebel smo implementirali tako, da smo razvili tri nove R razrede: SimParamBee, Colony, in MultiColony ter štiri nove nivoje funkcij. SimParamBee je razred, ki vsebuje globalne parametre simulacije, kot so število kromosomov, simulirane lastnosti, komponente variance ter privzete velikosti simuliranih družin, informacije o CSD lokusih, informacije o tem kako se individualne kvantitativne vrednosti odrazijo na nivoju čebelje družine itd. Razred Colony v simulaciji predstavlja čebeljo družino. Vsebuje 14 razdelkov, ki vsebujejo informacije o identifikaciji, lokaciji, kasti ter informacije o preteklih dogodkih. Razred MultiColony združi objekte razreda Colony v enega, ki predstavlja čebelnjak ali celotno populacijo družin. Štirje nivoji funkcij se med seboj razlikujejo glede na format izhodnih podatkov S funkcijami posnemamo naravni cikel čebelje družine in čebelarska opravila, z nivojem Auxiliary pa pridobimo različne parametre simuliranih populacije (npr. število osebkov, informacije o genomu posameznih osebkov). Posebnost tega nivoja je funkcija simulateHoneyBeeGenomes(), ki omogoča simulacijo osnovalskih čebeljih genomov, ki natančno odražajo demografsko zgodovino treh različnih podvrst. Razvili smo fleksibilen stohastičen simulator, ki omogoča simulacijo čebeljih populacij in čebeljih rejskih programov, upoštevajoč biološke zakonitosti medosne čebele. To nam omogoča preučevanje vpliva različnih rejskih shem na genetsko varianco in genetski napredek v populaciji. Tako lahko na primer preučujemo vpliv različnega števila matičarjev in trotarjev, odbranih glede na različne vire informacij (rodovniški, fenotipski ali genomski podatki) ali pa različnih shem testiranj. Simulirani podatki nam omogočajo tudi testiranje obstoječih kvantitativnih genetskih modelov ter razvoj novih modelov. V prihodnje bomo izboljšali načine, po katerih se genetske in fenotipske vrednosti posameznikov odrazijo na nivoju družine, simulacijo začetnih genomov, dodali pa bomo tudi prostorsko komponento. Prostorska komponenta bo omogočala simulacijo populacije s prostim parjenjem, kot tudi simulacijo vpliva okolja na fenotipske vrednosti, saj na skupno fenotipsko vrednost čebelje družine močno vpliva tudi interakcija genotipa z okoljem.

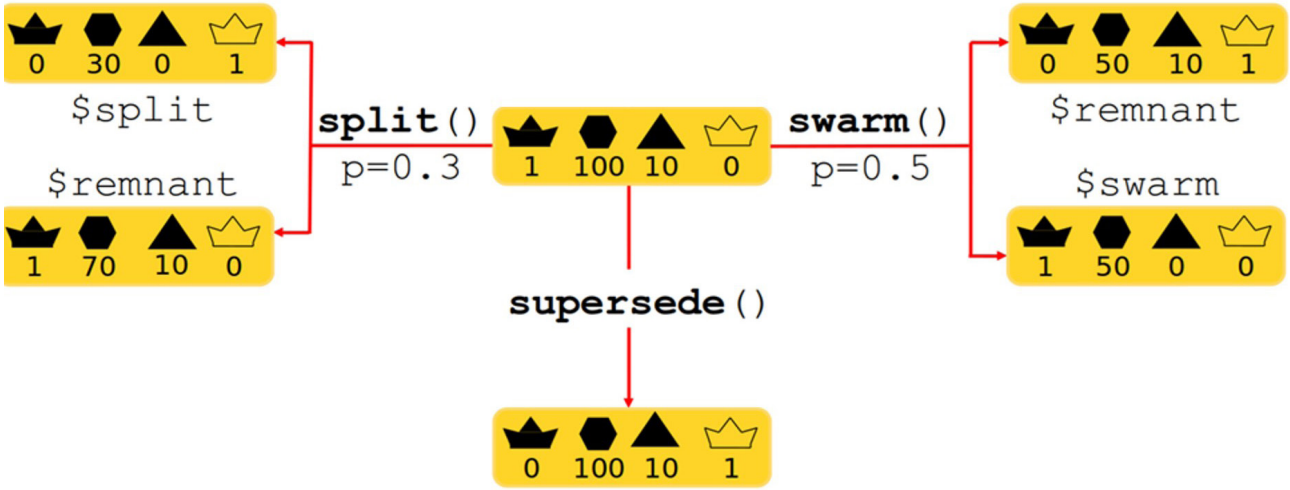
Ključne besede: rejski program, računalniška simulacija, SIMplyBee, AlphaSimR.

Opomba: Doktorska naloga, mentor: doc. dr. Janez Prešern, somentor: izr. prof. dr. Gregor Gorjanc

[1] Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana, Slovenia
[2] The Roslin Institute and Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh, Easter Bush, Midlothian, EH259RG, United Kingdom



Slika 1: Shematski prikaz začetka simulacije. Najprej nastavimo parametre simulacije, simuliramo genome populacije osnovalcev, iz katere v naslednjem koraku naredimo neoprašene matice. Delež neoprašenih matic porabimo za kreiranje trotov, s katerimi oprašimo ostale matice, ki jih tudi dodamo začetnim čebeljim družinam. V čebelji družini nato še povečamo število osebkov na nastavljeno vrednost. Ne obarvana krona ponazarja neoprašeno matico, pobarvana krona ponazarja oprašeno matico, šest kotnik ponazarja delavke, trikotnik ponazarja trote, rumen okvirček pa čebeljo družino.



Slika 2: Shematski prikaz rezultatov funkciji, ki posnemajo naravne dogodke v čebelji družini in čebelarske prakse. Ne obarvana krona ponazarja neoprašeno matico, pobarvana krona ponazarja oprašeno matico, šest kotnik ponazarja delavke, trikotnik ponazarja trote, rumen okvirček pa čebeljo družino.

ANALIZA POPULACIJSKIH IN DEMOGRAFSKIH PARAMETROV MEDONOSNE ČEBELE

Jana Obšteter[1], Andraž Marinč[1], Janez Prešern[1], David Wragg[2], Gregor Gorjanc[2]

jana.obsteter@kis.si

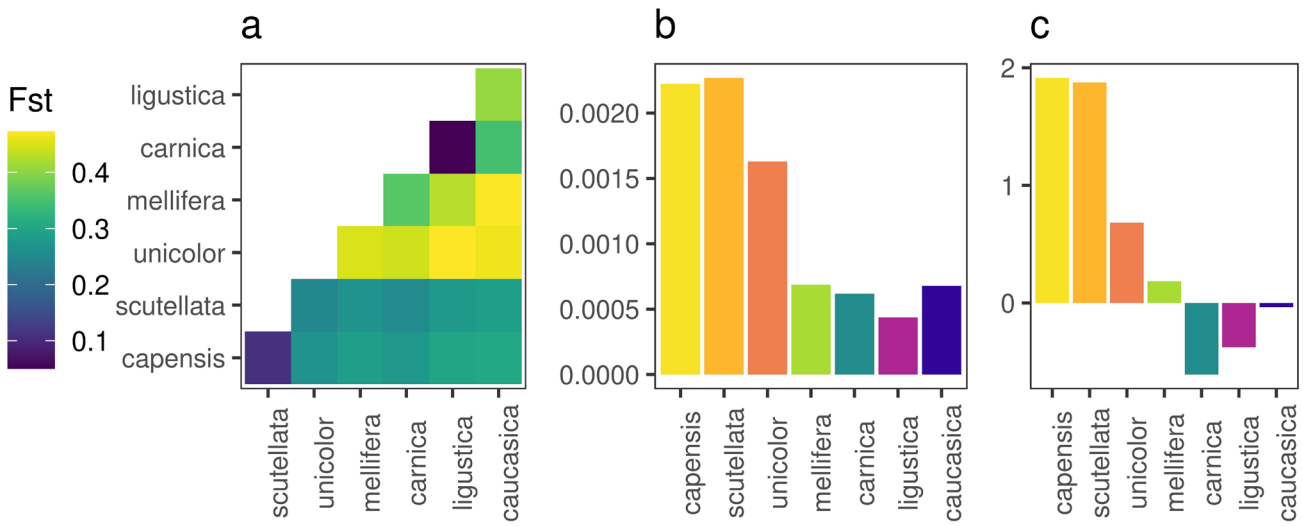
Izvleček

Demografska zgodovina medonosne čebele še ni jasna, kljub njeni ekonomski in biološki pomembnosti. Analiza demografske zgodovine medonodne čebele je otežena zaradi velike stratifikacije populacije. Identificiranih je namreč bilo že 7 evolucijskih linij, ki so nadalje diferencirane v 33 podvrst. Namen naše raziskave je bil uporabiti novo metodologijo t.i. strnjenih drevesnih zaporedij za analizo strukture populacije in demografske zgodovine medonosne čebele. Najprej smo izvedli analizo predniških alelov, ki za medonosno čebelo še niso prosto dostopni, informacija pa je ključna za analizo demografske zgodovine. V tej analizi smo najprej poravnali cele genome štirih tesno sorodnih vrst roda *Apis*, vključno z medonosno čebelo, in s programom *est-sfs* določili predniške alele. Nato smo uporabili zaporedja celotnih genomov 691 trotov za analizo drevesnih zaporedij s programom *tsinfer*. Od uporabljenih vzorcev jih je 240 imelo podatek o podvrsti, 451 pa je bilo hibridov. Vzorci z znano podvrsto so pripadali sedmim različnim podvrstam. Iz pridobljenih drevesnih zaporedij smo izračunali izbrane populacijske parametre. Pokazali smo, da so afriške podvrste najbolj genetsko pestre ter najmanj diferencirane od preostalih podvrst. Rezultati so pokazali tudi, da so bile osrednje evropske podvrste podvržene populacijskemu ozkemu grlu, kateremu je sledilo hitro naraščanje in širjenje populacije. Dodatno smo s programom *Relate* analizirali tudi efektivno velikost populacije prednikov, ki je pokazala razširjanje populacij afriških in krčenje evropskih podvrst med zadnjo ledeno dobo. V nadaljevanju raziskave želimo v analizo vključiti 22 podvrst, katerih genomski podatki so javno objavljeni, kar nam bo omogočilo identifikacijo in datiranje preteklih demografskih dogodkov. Slednje bo prispevalo z izgradnji boljšega modela demografske zgodovine, ki je ključen za razumevanje in analizo selekcije, funkcije genov, in zdravstvenega tveganja populacije.

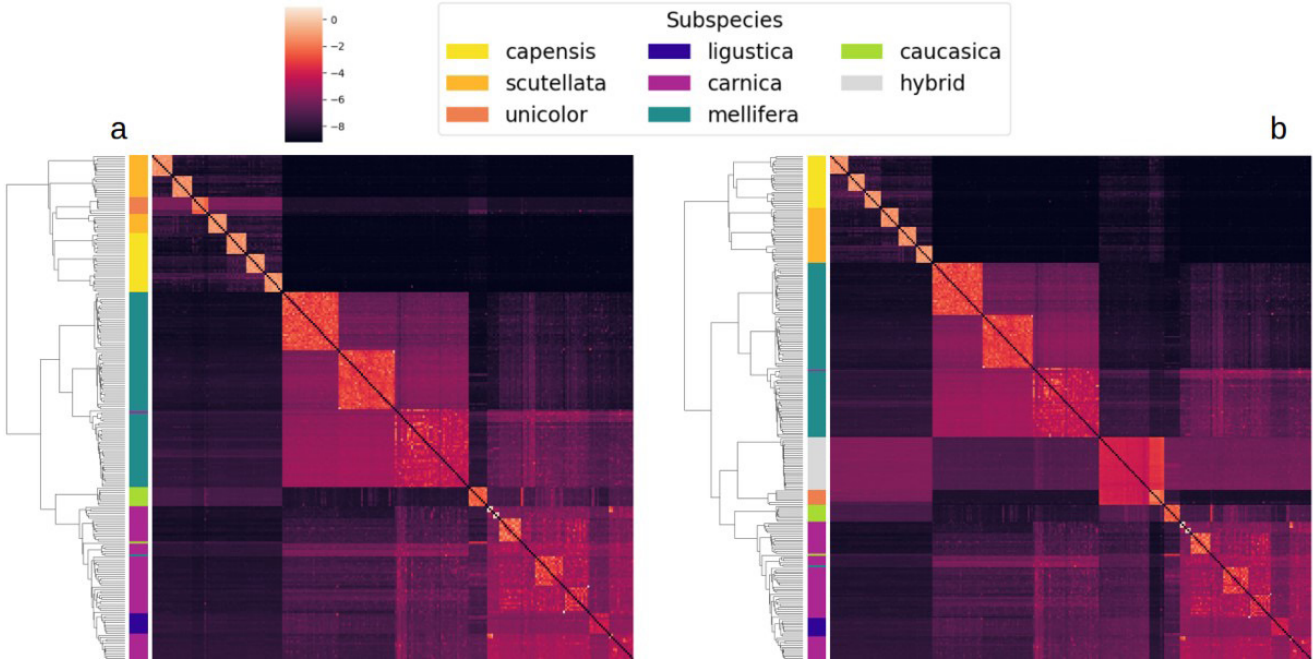
Ključne besede: analiza genoma, strnjena drevesna zaporedja, populacijska struktura, demografska zgodovina.

Opomba: Podoktorska raziskava

[1] Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana, Slovenia
[2] The Roslin Institute and Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh, Easter Bush, Midlothian, EH259RG, United Kingdom



Slika 1: a) Fst, b) nukleotidna razlikost po Nei-u, in c) Tajima's D različnih podvrst medonosne čebele.



Slika 2: Analiza genealoškega najbližjega soseda a) vzorcev znane podvrste in b) vzorcev znane podvrste in hibridnih vzorcev iz otoka Reunion.

DNA METABARCODING - METODA ZA DOLOČANJE BIODIVERZITETE IZ VZORCEV MEDU

Lenart Žežlina[1]

lenart.zezlina@gmail.com

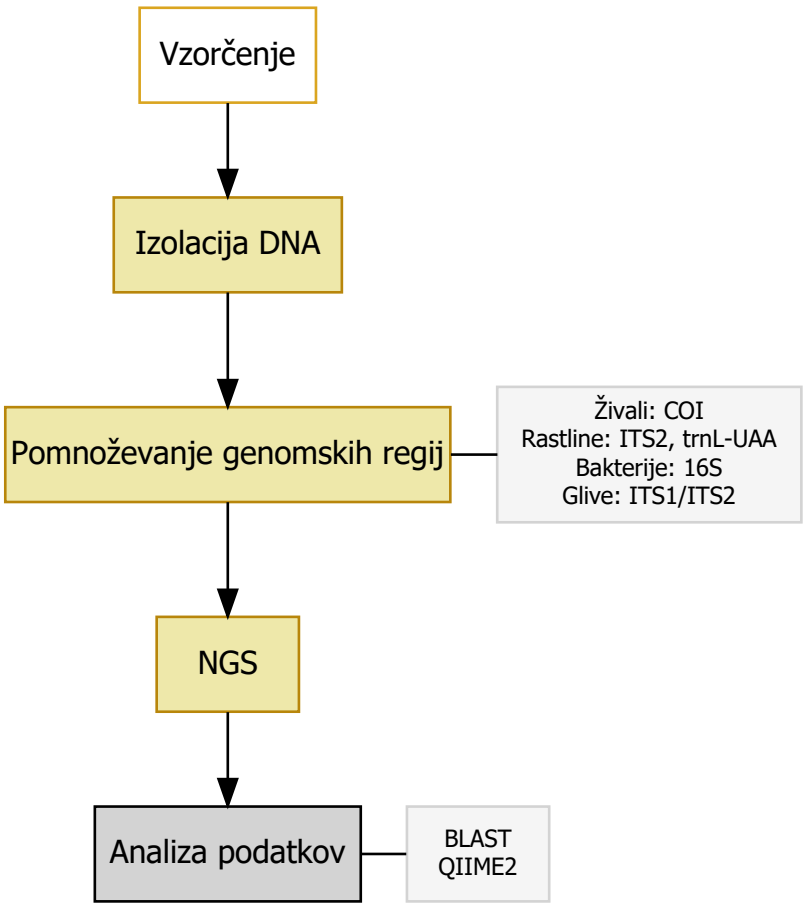
Izvleček

Sestava medu, ki ga čebele pridelajo iz medičine ali mane, je odvisna od prehrane čebel, lokalnih skupin rastlin in ostalih skupin organizmov. V medu najdemo DNA botaničnega, živalskega, kvasnega in bakterijskega izvora. Z uporabo medu kot vira okoljske DNA (eDNA) lahko določimo organizme glavnih taksonomskih skupin na območju, kjer je bil med proizveden. Metabarcoding je metoda, ki temelji na identifikaciji vrst na podlagi medvrstnih razlik v kratkih regijah njihove DNA. Na podlagi v teh regijah pridobljenih podatkov lahko določimo vrste, ki ustrezajo določenemu taksonu. Metabarcoding smo izvajali za določanje biodiverzitete, kot vir okoljske DNA (eDNA) pa smo uporabili različne vzorce medu. Želeli smo opredeliti botanični izvor medu, določiti žuželke, ki izločajo mano, in ugotoviti, kateri mikroorganizmi so prisotni v posameznih vzorcih medu. Po pomnoževanju ustreznih genomskih regij navedenih skupin smo uporabili visokozmogljivo sekvenciranje amplikonov in podatke obdelali z ustreznimi bioinformatskimi orodji. Ugotovili smo, da je DNA metabarcoding ustrezna metoda za določanje biodiverzitete na podlagi vzorcev medu. Uporaba metabarcodinga ima velik potencial pri monitoringu biotske pestrosti, invazivnih vrst in klimatskih sprememb.

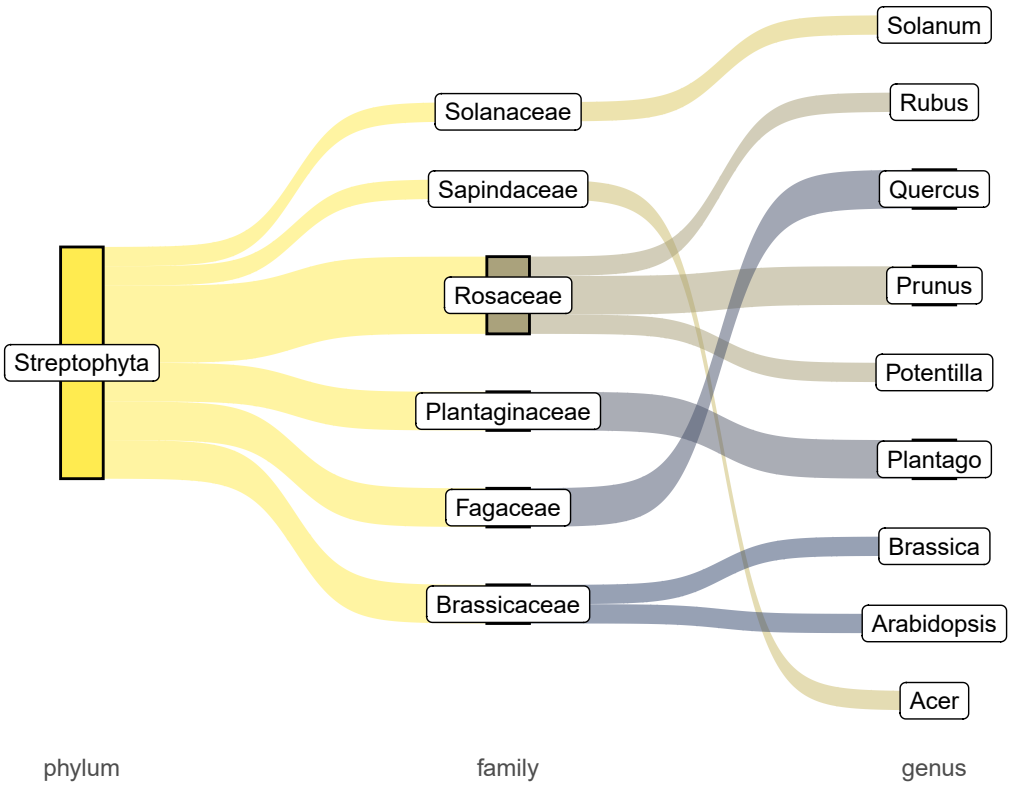
Ključne besede: metabarcoding, okoljska DNA, med

Opomba: Tema magistrske naloge

[1] Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija



Slika 1: Shema izvedbe DNA metabarcodinga za določanje biodiverzitete iz vzorcev medu.



Slika 2: Najpogosteje identificirane taksonomske skupine rastlin pri enemu od vzorcev medu.

ZNAČENJE DIJAGNOSTIČKOG PRETRAŽIVANJA ZIMSKIH OSTATAKA S PODNICE KOŠNICE ZA ZDRAVSTVENO STANJE PČELINJIH ZAJEDNICA (*Apis mellifera*)

Klara Bakarić[1], Metka Pislak Ocepek[2], Ivan Toplak[2], Ivana Tlak Gajger[1]

klara.zubak.novak@gmail.com[1] metka.pislakocepek@vf.uni-lj.si[2] ivan.toplak@vf.uni-lj.si[2] ivana.tlak@vef.unizg.hr[1]

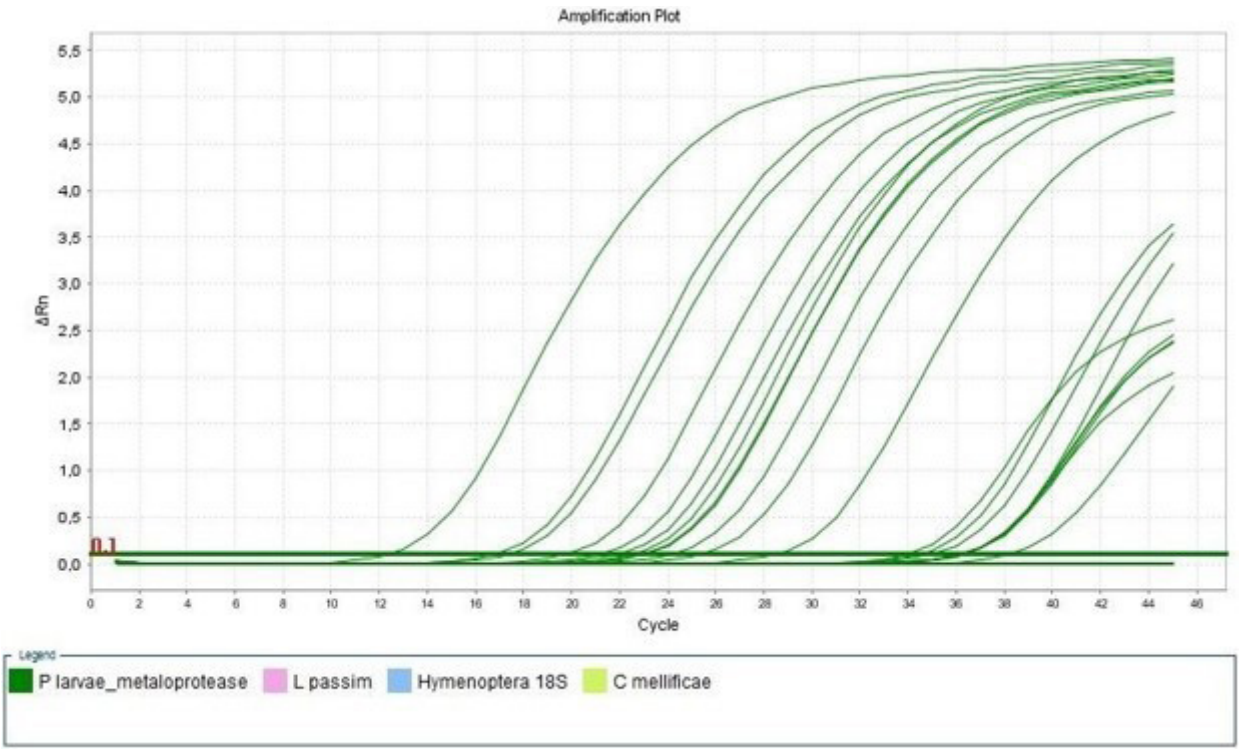
Sažetak

Bolesti pčela jedan su od najznačajnijih i najčešćih uzroka slabljenja i ugibanja pčelinjih zajednica. Rana dijagnostika subkliničkih infekcija pčelinjih zajednica prioritet je za pravodobnu primjenu preventivnih i kontrolnih mjera u pčelarskoj praksi. Glavna prednost uzoraka ostataka s podnice košnice kao materijala za dijagnostičko pretraživanje je mogućnost njegovog uzorkovanja tijekom zimskih mjeseci, što nam omogućava analizu subkliničkih koncentracija patogenih uzročnika bolesti, odnosno procjenjivanje statusa zdravstvenog stanja pčelinjih zajednica prije pojave kliničkih znakova. Nadalje, uzorkovanje takvih uzoraka jednostavna je, neinvazivna i jeftina metoda, a pretraživanjem tih uzoraka pomoću molekularnih metoda može se brzo i pouzdano utvrditi prisutnost različitih uzročnika bolesti pčelinjih zajednica. U ovome radu na prikupljenim uzorcima zimskih ostataka s podnica košnica sa šest različitih pčelinjaka smještenih u kontinentalnom dijelu RH testirali smo pretpostavku da su uzorci zimskih ostataka s podnica košnice prikladni za ranu dijagnostiku različitih patogenih uzročnika bolesti putem lančane reakcije polimerazom (eng. Polymerase Chain Reaction, PCR). Dobiveni rezultati laboratorijskog pretraživanja su analizirani i uspoređeni sa zdravstvenim stanjem i jačinom pčelinjih zajednica u proljeće. Potvrđeno je da se iz uzoraka ostataka s podnice košnice može pouzdano utvrditi i kvantificirati *Paenibacillus larvae, Nosema* spp., virus akutne pčelinje paralize, virus crnih matičnjaka, virus izobličenih krila i virus mješinastog legla. Utvrđeno je da su pretražene pčelinje zajednice bile istodobno inficirane ili invadirane s prosječno četiri do šest uzročnika bolesti, te da su pojedine pčelinje zajednice u proljeće razvile kliničke znakove bolesti, a pojedine nisu preživjele zimu.

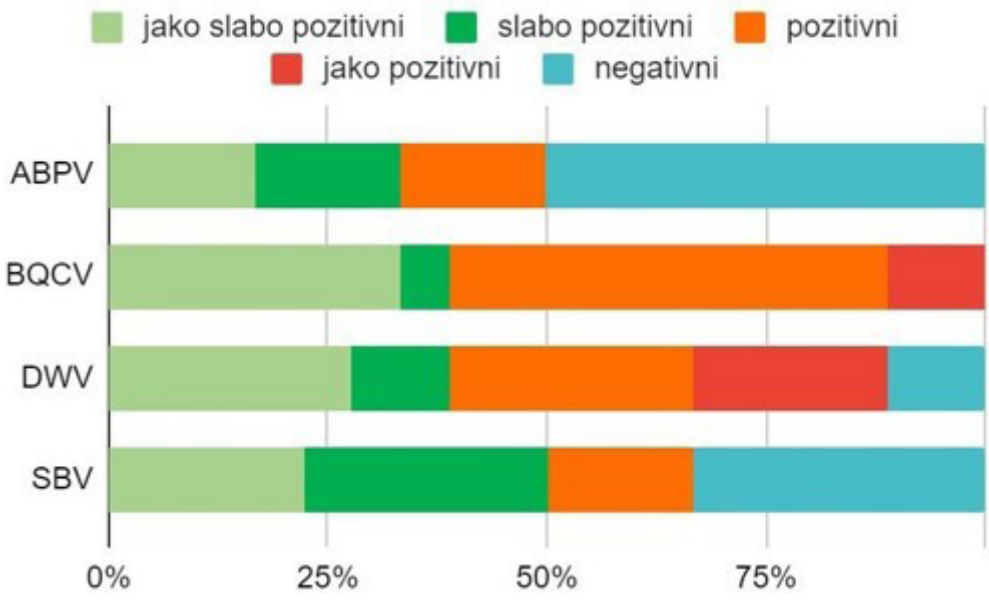
Ključne riječi: bolesti pčelinja zajednica, uzorci zimskih ostataka s podnice košnica, PCR/qPCR metoda

Napomena: Diplomski rad; mentori: prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger i dr. Metka Pislak Ocepek

[1] Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Republika Hrvatska
[2] Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Slovenija



Slika 1: Rezultati pretraživanja na prisutnost *P. larvae.*



Slika 2: Rezultati pretraživanja na prisutnost virusnih uzročnika bolesti.

UČINAK DEZINFICIJENSA NA BAKTERIJU PAENIBACILLUS LARVAE U LABORATORIJSKIM UVJETIMA

Zlatko Tomljanović[1], Josipa Vlainić[2], Franco Mutinelli[3], Anna Granato[3], Ivana Tlak Gajger[4]

zlatko.tomljanovic@mps.hr[1], josipa.vlainić@irb.hr[2], agranato@izsvenezie.it[3], fmutinelli@izsvenezie.it[3], itlak@vef.unizg.hr[4]

Sažetak

Američka gnjiloća medonosne pčele (AGMP) je zarazna bolest nepoklopljenog i poklopljenog pčelinjeg legla koja pčelarstvu nanosi višestruke štete. Uzročnik bolesti je bakterija *Paenibacillus larvae* koja u nepovoljnim životnim uvjetima tvori dugo živuće i otporne spore. Patogeneza, klinička slika i stupanj virulentnosti kod AGMP ovise o genotipu bakterije *P. larvae*. Dosad je utvrđeno pet genotipova *P. larvae* (ERIC I, ERIC II, ERIC III, ERIC IV, ERIC V) koji se međusobno razlikuju u morfologiji, biokemijskim čimbenicima, virulenciji te čimbenicima koji utječu na virulenciju. Poznavanje raširenosti i dinamike pojavnosti pojedinih genotipova *P. larvae* na određenom području pruža uvid u patofiziološke procese na razini ličinke / pčelinje zajednice te utječe na procjenu rizika od AGMP jer postoji značajna korelacija između genotipa i pojavnosti vidljivih kliničkih znakova. Cilj ovog istraživanja bila je provedba genotipizacije bakterije *P. larvae* na osamdeset terenskih izolata izdvojenih iz karakteristično promijenjenih uginulih pčelinjih ličinki skupljenih u razdoblju od jedanaest godina (2010. – 2020.), te tako utvrditi raširenost i učestalost određenih genotipova u Republici Hrvatskoj (RH). Također, cilj je bio i utvrđivanje učinka deset komercijalno dostupnih i uobičajeno korištenih dezinficijensa u pčelarstvu, na terenske i certificirane sojeve bakterije *P. larvae*, u laboratorijskim uvjetima te uspoređivanje dobivenih rezultata među pojedinim genotipovima bakterije *P. larvae*. Genotip ERIC I bakterije *P. larvae* utvrđen je u pčelinjim zajednicama na području RH u visokoj prevalenciji od 90,3 %, a genotip ERIC II u niskoj prevalenciji od 7,3 % od ukupno uspješno analiziranih terenskih izolata. Za jedan izolat postavljena je sumnja na genotip ERIC IV s prevalencijom od 2,4 % te je potrebna daljnja verifikacija takvog nalaza. Istraživani su učinci Genoxa, Genolla s pjenom, Ecocid S, Sekusept aktiv, Incidin OxyFoam S, Bee Protect H forte, Bee Protect F, Despadac, Despadac Secure i EM® PROBIOTIK ZA PČELE u testu stvaranja zone inhibicije, suspenzijskom testu učinka na vijabilne bakterije *P. larvae*, testu dezinficijskog djelovanja na površinama i suspenzijskom testu učinka na spore bakterije *P. larvae*. Sekusept aktiv u 2% koncentraciji i Incidin OxyFoam S u suspenzijskom testu sporocidnog djelovanja pokazali su zadovoljavajući sporocidni učinak na sva četiri ispitivana genotipa bakterije *P. larvae* (ERIC I do ERIC IV).

Ključne riječi: američka gnjiloća medonosne pčele, *Paenibacillus larvae*, genotipizacija, dezinficijensi

Napomena: Doktorski rad; mentori: prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger i dr. sc. Josipa Vlainić

[1] Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, Zagreb, Republika Hrvatska
[2] Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Republika Hrvatska
[3] Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Italija
[4] Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Republika Hrvatska

Rezultati

Djelovanje dezinfekcijskih proizvoda na terenske izolate bakterije *P. larvae*

	Baktericidno djelovanje – suspenzija (15 / 30 min)	Baktericidno djelovanje – površina (15 / 30 min)	Sporocidno djelovanje – suspenzija (30 / 60 min)
Despadac	- / +	- / +	2 log / 2 log
Despadac Secure	- / +	- / +	1 log / 2 log
Ecocid S 1 %	+ / +	+ / +	3 log / 5 log
Sekusept Aktiv 1 %	- / +	+ / +	0 log / 2 log
Sekusept Aktiv 2 %	+ / +	+ / +	6 log / 6 log
Incidin Oxyfoam S	+ / +	+ / +	6 log / 6 log
Genoll 10 %	- / -	- / -	0 log / 0 log
Genox 10 %	- / -	- / -	1 log / 1 log
Genox 100 %	+ / +	- / +	3 log / 3 log
Bee Protect F	- / -	- / -	0 log / 0 log
Bee Protect H Forte	- / -	- / -	0 log / 0 log
EM PROBIOTIK ZA PČELE	- / -	- / -	0 log / 0 log

Slika 1: Djelovanje dezinficijensa.

REDNI BROJ	MJESTO	KOORDINATE
1.	CRES	N 44° 51' 53" E 14° 23' 45"
2.	NASICE	N 45° 33' 29" E 18° 22' 01"
3.	DUGO SELO	N 45° 53' 01" E 16° 17' 09"
4.	UDBINA	N 44° 29' 44" E 15° 45' 42"
5.	ZLATAR BISTRICA	N 46° 08' 06" E 15° 46' 08"
6.	SENJ	N 44° 59' 24" E 14° 54' 36"
7.	ZAGREB	N 45° 48' 0" E 15° 58' 12"
8.	KRIZ	N 45° 38' 38" E 16° 33' 57"
9.	KRAPINA	N 46° 10' 56" E 15° 51' 51"
10.	LIPIK	N 45° 25' 01" E 17° 09' 42"
11.	CAKOVEC	N 46° 23' 33" E 16° 26' 11"
12.	POZEGA	N 45° 19' 50" E 17° 40' 36"
13.	SISAK	N 45° 25' 28" E 16° 34' 47"
14.	KRAPINA	N 46° 09' 41" E 15° 49' 23"
15.	GRUDA	N 42° 50' 50" E 17° 42' 10"
16.	POREC	N 45° 18' 01" E 13° 41' 11"
17.	OSIJEK	N 45° 32' 46" E 18° 43' 20"
18.	SV. IVAN ZELINA	N 45° 53' 53" E 16° 12' 32"
19.	BEREK	N 45° 38' 07" E 16° 47' 14"
20.	KRIZEVCI	N 46° 04' 18" E 16° 24' 55"
21.	DUGA RESA	N 45° 27' 25" E 15° 28' 32"
22.	PREGRADA	N 46° 08' 27" E 15° 48' 03"
23.	OTOCAC	N 44° 54' 17" E 15° 17' 42"
24.	SLAVONSKI BROD	N 46° 48' 44 E 15° 59' 24
25.	IVANEC	N 46° 18' 31" E 16° 06' 53"

REDNI BROJ	MJESTO	KOORDINATE
26.	ORAHOVICA	N 45° 34' 52" E 17° 56' 50"
27.	GORNJA STUBICA	N 45° 49' 16" E 16° 01' 16"
28.	BRNAZE	N 43° 38' 49" E 16° 38' 43"
29.	MALI ZDENCI	N 45° 41' 05" E 17° 04' 44"
30.	KNIN	N 44° 07' 24" E 16° 19' 02"
31.	SV. KRIZ ZACRETJE	N 46° 05' 27" E 15° 52' 54"
32.	FERDINANDOVAC	N 46° 05' 30" E 17° 09' 21"
33.	LEPOGLAVA	N 46° 15' 24" E 16° 01' 36"
34.	VIROVITICA	N 45° 50' 13" E 17° 23' 16"
35.	IMOTSKI	N 43° 26' 41" E 17° 12' 49"
36.	VELIKA GORICA	N 45° 37' 47" E 16° 03' 27"
37.	POZEGA	N 45° 19' 38" E 17° 59' 58"
38.	SUNJA	N 45° 21' 31" E 16° 57' 20"
39.	GRUBISNO POLJE	N 45° 48' 54" E 18° 25' 16"
40.	VALPOVO	N 45° 39' 36" E 18° 25' 16"
41.	VODICE	N 43° 46' 37" E 15° 48' 06"
42.	BEBRINA	N 45° 05' 26" E 17° 46' 53"
43.	GRADINA	N 45° 52' 29" E 17° 29' 34"
44.	OBROVAC	N 44° 14' 40" E 15° 49' 35"
45.	HRVACE	N 43° 50' 35" E 16° 30' 23"
46.	NOVA KAPELA	N 45° 11' 33" E 17° 39' 02"
47.	DARUVAR	N 45° 50' 23" E 15° 53' 25"
48.	ZAGREB	N 45° 50' 23" E 15° 53' 25"
59.	IMOTSKI	N 42° 59' 45" E 17° 15' 46"
50.	GLINA	N 45° 23' 18" E 16° 32' 01"

Slika 2: Lokacije pčelinjaka-terenski izolati *P. larvae*.

DOLOČITEV 22 NUKLEOTIDNIH ZAPOREDIJ CELOTNIH GENOMOV ČEBELJIH VIRUSOV V ZDRAVIH IN OBOLELIH ČEBELJIH DRUŽINAH Z METODO NGS

Laura Šimenc, Ivan Toplak

laura.simenc@vf.uni-lj.si

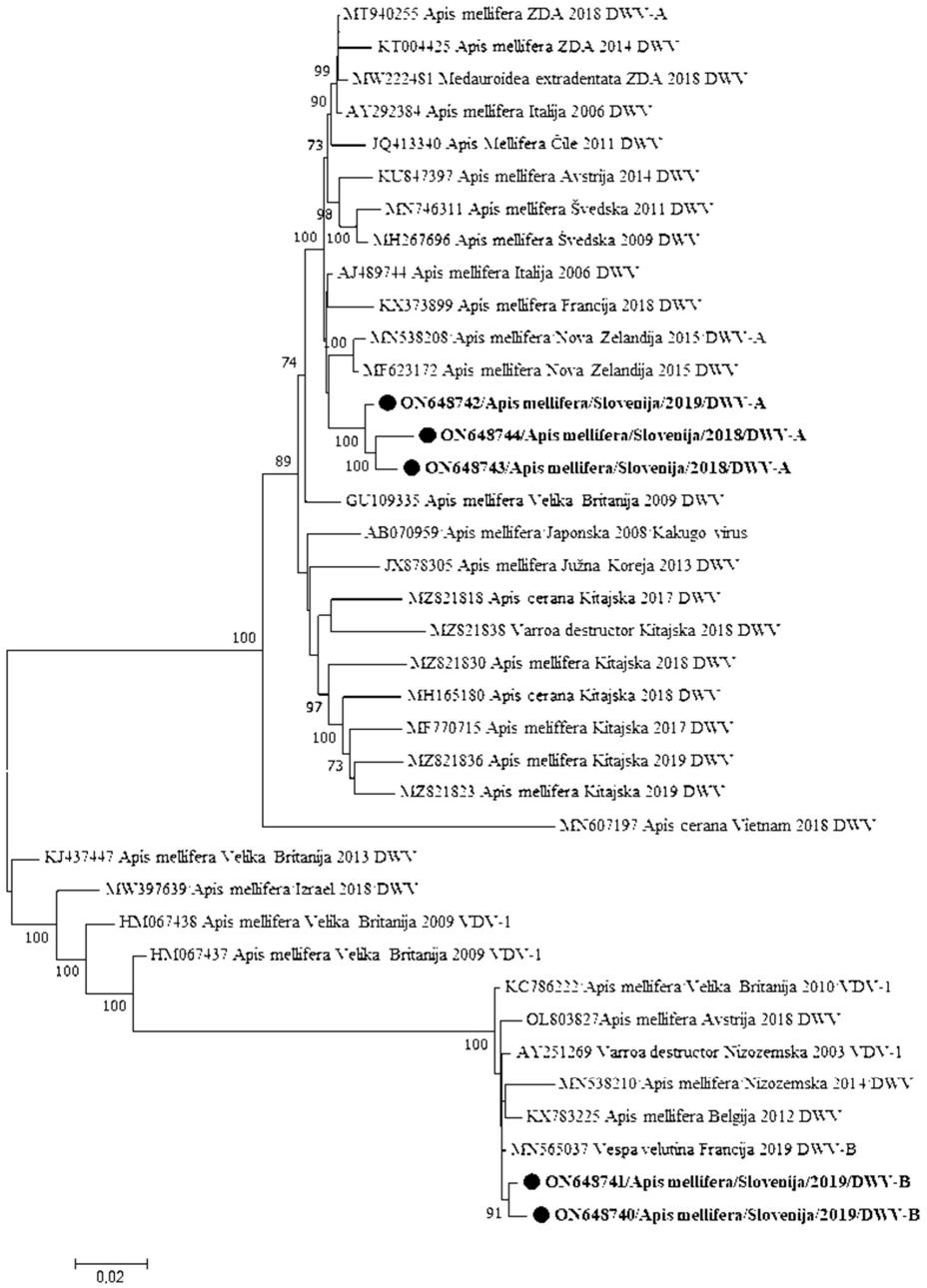
Izvleček

Iz devetih vzorcev klinično obolelih in desetih vzorcev klinično zdravih čebeljih družin, v katerih smo z določanjem nukleotidnega zaporedja po Sangerju predhodno ugotovili različne linije čebeljih virusov, smo z metodo sekvenciranja naslednje generacije določili 22 nukleotidnih zaporedij celotnih genomov čebeljih virusov, in sicer virusa akutne paralize čebel (n = 4), virusa črnih matičnikov (n = 3), virusa kronične paralize čebel (n = 2), virusa deformiranih kril (n = 5), virusa Lake Sinai (n = 4), virusa mešičkaste zalege (n = 1), virusa Apis Rhabdovirus-1 (n = 1), Bee Macula-like virusa (n = 1) in Hubei partiti-like virusa 34 (n = 1). Nukleotidna zaporedja genomov virusov akutne paralize čebel, virusa črnih matičnikov, virusa deformiranih kril in virusa mešičkaste zalege so prva nukleotidna zaporedja celotnih genomov teh vrst virusov, identificiranih v Sloveniji. Viruse Apis Rhabdovirus-1, Bee Macula-like virus (n = 1) in Hubei partiti-like virus 34 smo na območju Slovenije ugotovili prvič, zato odkritje predstavlja pomemben doprinos k ugotovljeni genetski raznovrstnosti čebeljih virusov pri nas in po svetu. Ugotovili smo nukleotidna zaporedja genomov virusa deformiranih kril v istem vzorcu klinično obolele čebelje družine, ki sta si med seboj 84,15-odstotno identična in ju lahko uvrstimo v genotipa A in B. V Sloveniji smo prvič ugotovili virus Lake Sinai linije 4 in mu določili nukleotidno zaporedje celotnega genoma. Določili smo nukleotidno zaporedje celotnega genoma virusa Apis Rhabdovirus-1, ki je prvi ugotovljeni virus te vrste pri čebeljih družinah v Sloveniji. Določili smo nukleotidno zaporedje celotnega genoma Bee Macula-like virusa, ki je eno od petih zaporedij genomov te vrste virusa v genski banki NCBI, nukleotidno zaporedje genoma Hubei partiti-like virus 34 pa je prvo nukleotidno zaporedje celotnega genoma tega virusa, določenega v vzorcu čebelje družine, na svetu.

Ključne besede: molekularna biologija, virusne bolezni čebel, sekvenciranje celotnega genoma

Opomba: Del doktorske disertacije; mentor: izr. prof. dr. Ivan Toplak

Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija



Slika 1: Filogenetska primerjava 38 nukleotidnih zaporedij celotnih genomov virusa deformiranih kril. Nukleotidna zaporedja celotnih genomov, določena v tej raziskavi, so označena s pikami in krepko pisavo.

Slika 2: Matičnik z ličinko matice, ki je postala črna zaradi okužbe z BQCV (BeAware, 2022).

UTJECAJ PRIHRANE NA POJAVNOST SPORA NOZEMOZE (*Nosema* spp.) U ZAJEDNICAMA MEDONOSNE PČELE (*Apis mellifera* L.) U PROLJEĆE

Josipa Štavalj, Zlatko Puškadija, Marin Kovačić

jstavalj@gmail.com

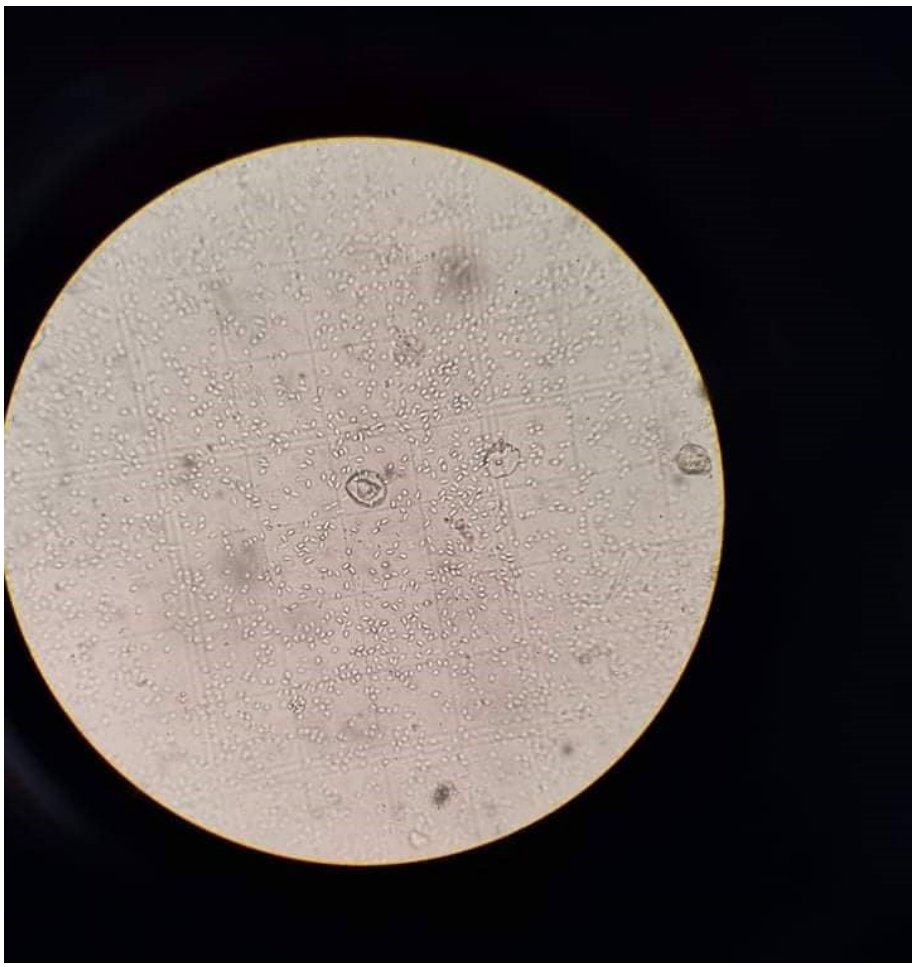
Sažetak

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj prihrane pčelinjih zajednica različitim tipovima pogača na razvoj nozemoze. U istraživanju provedenom na području središnje i istočne Hrvatske tijekom proljeća 2021. godine bilo je uključeno 1119 pčelinjih zajednica s ukupno 19 pčelinjaka. Na svakom pčelinjaku 30 pčelinjih zajednica podijeljeno je u 3 skupine po 10. Dvije skupine su prihranjivane s testnim pogačama (skupine T1 i T2), dok jedna skupinanije prihranjivana te je predstavljala kontrolnu skupinu (K). Uzorci pčela skupljeni su sredinom veljače prije početka prihrane pogačama, te sredinom travnja nakon završetka prihrane. Utvrđeni prosječni broj spora nozemoze po pčeli na uzorcima skupljenima u veljači iznosio je 3,21 milijuna, u rasponu od 2,43 milijuna u skupini K do 3,99 milijuna u skupini T2 bez statistički značajnih razlika između skupina ($\chi2$ (2) = 0,358, p = 0,836). Nakon završetka prihrane, prosječan broj spora iznosio je 3,41 milijun, od prosječnih 3,10 milijuna u skupini T1 do 3,88 milijuna u skupini K bez značajnih razlika između skupina ($\chi2$ (2) = 0,761, p = 0.683). Iako nisu utvrđene statistički značajne razlike između skupina, može se uočiti trend pada broja spora nozemoze kod prihranjivanih skupina, a porast kod kontrolne skupine.

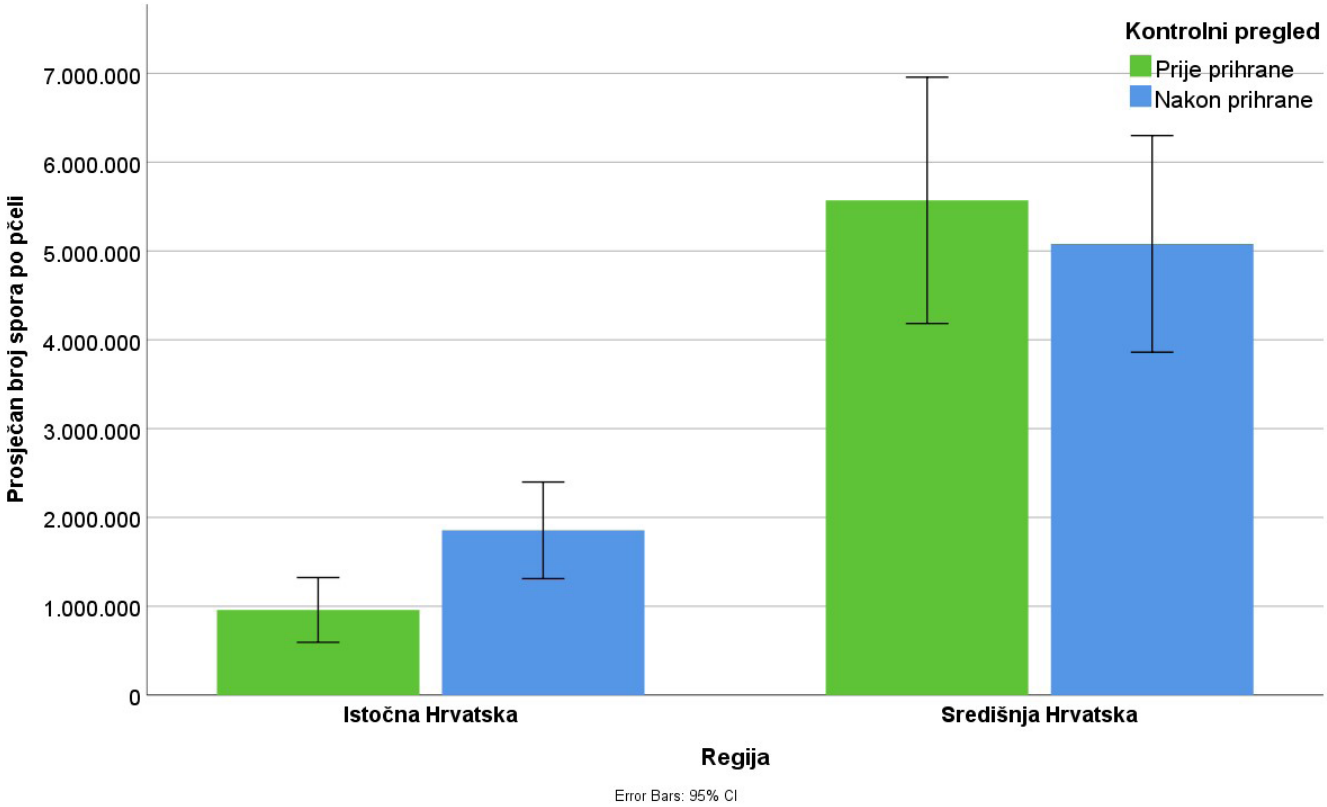
Ključne riječi: medonosna pčela, nozemoza, prihrana, spore

Napomena: Diplomski rad; mentor: doc. dr. sc. Marin Kovačić

Fakultet agrobiotehničkih znaosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek, Croatia



Slika 1: Mikroskopski prikaz spora *Nosema* spp.



Slika 2: Broj spora *Nosema* spp. prije i nakon prihrane.

DROBIR IN ČEBELE NEGOVALKE KOT MATRIKSA ZA OPREDELITEV STOPNJE TVEGANJA ZA POJAV HUDE GNILOBE ČEBELJE ZALEGE

Bojan Papić, Metka Pislak Ocepek, Lucija Žvokelj, Barbara Hočevar, Monika Kozar, Rene Rus, Urška Zajc, Darja Kušar

bojan.papic@vf.uni-lj.si

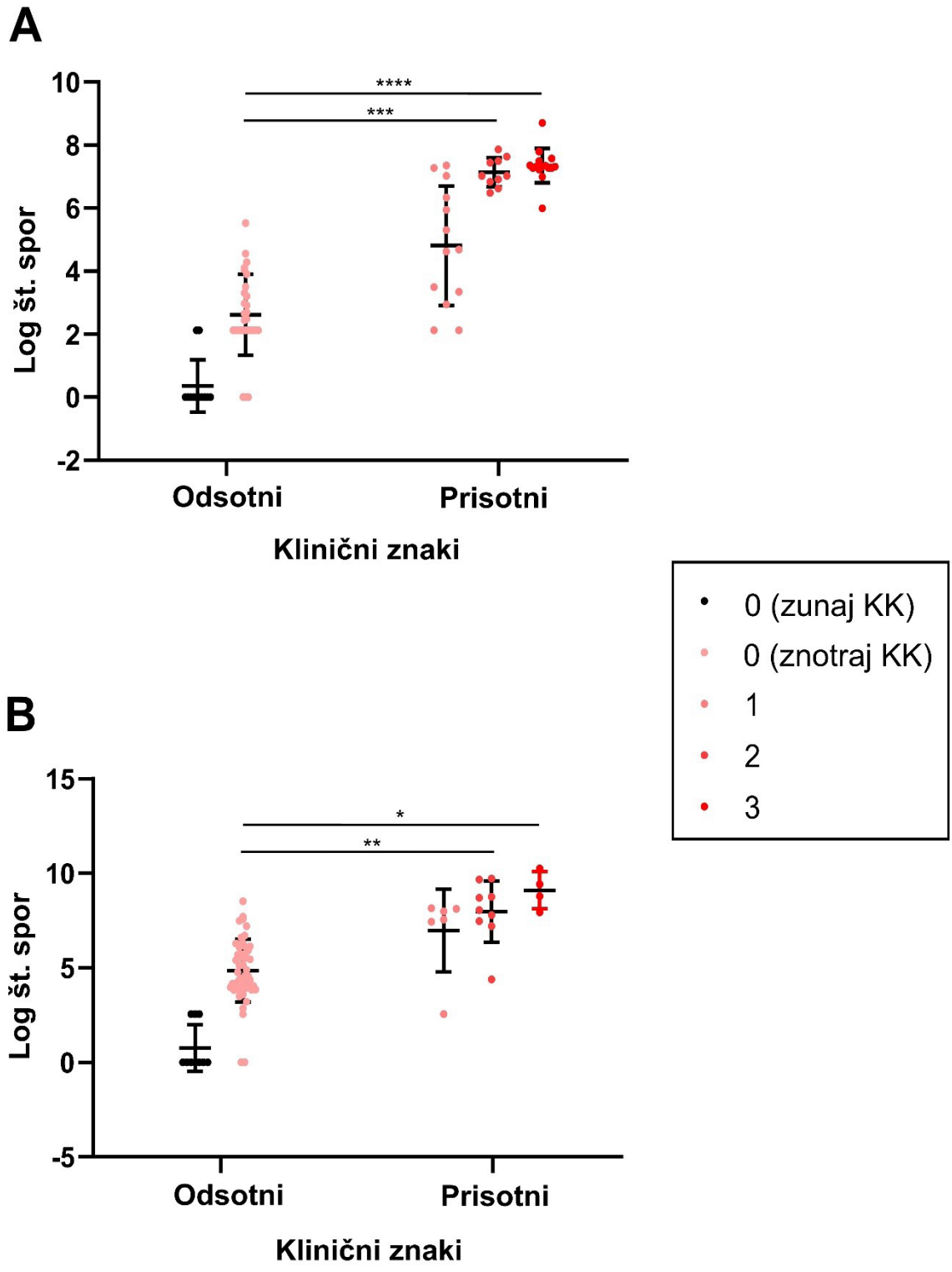
Izvleček

Huda gniloba čebelje zalege (HGČZ) je bolezen čebel, ki jo povzroča bakterija *Paenibacillus larvae*. Povečano število spor *P. larvae*, ki ga ugotavljamo v čebeljih vzorcih, je povezano z večjim tveganjem za pojav kliničnih znakov bolezni. V primerjavi z gojiščno preiskavo so za določanje števila spor zanesljivejše molekularne metode, ki pa so jih do sedaj uporabili le v redkih raziskavah. V naši raziskavi smo s kvantitativnim PCR v realnem času (qPCR) določili prisotnost in število spor *P. larvae* v vzorcih drobirja (n=79) in čebel negovalk (n=79). Vzorci so izvirali iz 29 čebelnjakov z znanim statusom bolezni: (a) iz čebeljih družin brez kliničnih znakov HGČZ iz čebelnjakov izven okuženih območij, (b) iz čebeljih družin brez kliničnih znakov HGČZ iz stojišč, kjer so bile ugotovljene družine s kliničnimi znaki HGČZ, in (c) iz čebeljih družin z različno jakostjo kliničnih znakov HGČZ. Povprečno število spor v klinično negativnih družinah iz čebelnjakov v okuženih območjih je bilo večje kot v družinah iz čebelnjakov izven okuženih območij pri obeh matriksih. Število spor v družinah z ugotovljenimi kliničnimi znaki HGČZ je bilo značilno večje kot v družinah brez znakov HGČZ pri obeh matriksih, število spor v družinah s kliničnimi znaki pa je pozitivno koreliralo z jakostjo kliničnih znakov. Znotraj prizadetega čebelnjaka so imele klinično pozitivne družine znatno večje število spor kot klinično negativne družine pri obeh matriksih. Zaključimo lahko, da sta oba matriksa primerna za opredelitev trenutnega stanja čebelje družine glede tveganja za pojav kliničnih znakov HGČZ in da prisotnost klinične oblike te bolezni v posameznih čebeljih družinah pomeni večjo obremenitev čebelnjaka s sporami tudi v klinično negativnih družinah. Raziskava predstavlja temelj za vpeljavo monitoringa HGČZ, ki bi temeljil na spremljanju števila spor *P. larvae* v čebeljih vzorcih z molekularnimi metodami.

Ključne besede: *Paenibacillus larvae*, huda gniloba čebelje zalege, qPCR, drobir, čebele negovalke

Opomba: Podoktorski projekt; vodja: Bojan Papić

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Gerbičeva 60, 1000 Ljubljana, Slovenija



Slika 1: Število spor *Paenibacillus larvae* v vzorcih čebel negovalk (A) in drobirja (B), določeno s kvantitativnim qPCR. Vzorci iz čebeljih družin brez kliničnih znakov hude gnilobe čebelje zalege (HGČZ) so izvirali iz čebelnjakov zunaj (skupina '0 zunaj KK') ali znotraj (skupina '0 zunaj KK') aktualnih kužnih krogov (KK). Vzorci iz družin s kliničnimi znaki HGČZ so izvirali iz klinično pozitivnih družin z različno jakostjo kliničnih znakov HGČZ (skupine 1–3). Na grafih so z zvezdicami predstavljene izbrane statistično značilne razlike med skupino '0 zunaj KK' ter skupinami '1', '2' in '3' (Kruskal-Wallisov test in *post-hoc* Dunnov test mnogoterih primerjav).

EPIDEMIOLOŠKE IN KLINIČNE ZNAČILNOSTI HUDE GNILOBE ČEBELJE ZALEGE V POVEZAVI Z GENOTIPOM *Paenibacillus larvae*

Alenka Žugelj[1], Bojan Papič[2], Darja Kušar[2], Irena Zdovc[2]

alenka.zugelj@vf.uni-lj.si

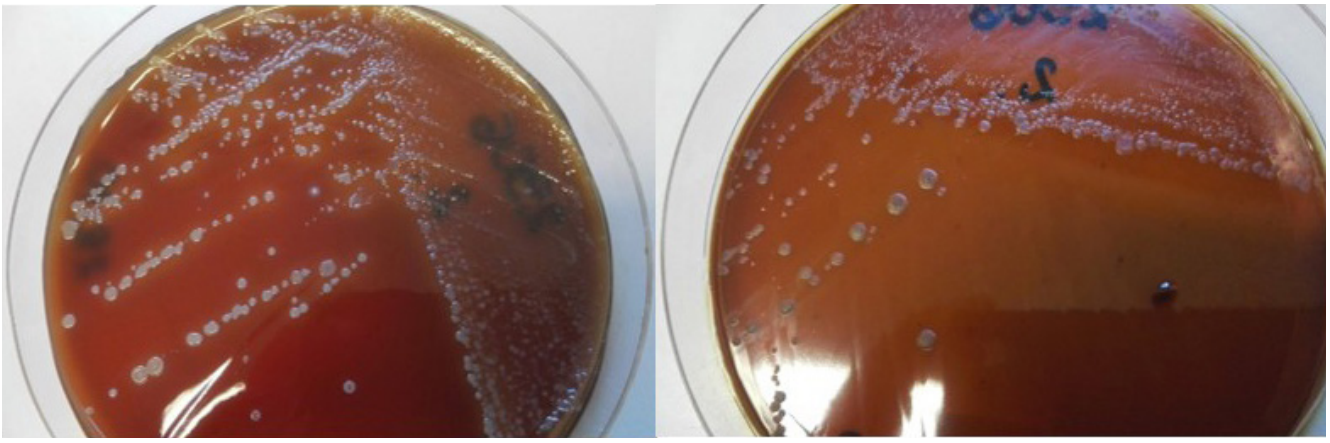
Izvleček

Hudo gnilobo čebelje zalege povzroča po Gramu pozitivna sporogena bakterija *Paenibacillus larvae*. V raziskovalnem projektu V4-1804, v okviru katerega je potekal del mojega doktorata, smo ugotavljali zastopanost različnih genotipov ERIC P. larvae v Sloveniji. Trenutno je opisanih pet genotipov ERIC, ki se med seboj razlikujejo v številnih fenotipskih lastnostih. Ob izbruhih bolezni v letih 2017–2019 smo pridobili izolate *P. larvae* s pripadajočimi epidemiološkimi podatki. Izolate smo identificirali z masno spektrometrijo MALDI-TOF, ki smo jo vpeljali v diagnostiko hude gnilobe na Veterinarski fakulteti UL ter jo s tem pohitrili in pocenili. Izolate *P. larvae* smo kot prvi v Sloveniji tipizirali z metodo ERIC-PCR in tudi pri nas ugotovili dva genotipa (ERIC I in ERIC II), med katerima je prevladoval genotip ERIC II (70,2 %). Na gojiščih smo ugotovili dva morfotipa, ki sta po pričakovanjih korelirala z genotipom ERIC. Prisotnost različnih morfotipov in genotipov *P. larvae* smo ugotovili znotraj enega kužnega kroga, celo znotraj enega čebelnjaka. Skupno smo 59 izolatov genotipa ERIC I tipizirali z metodo WGS ter pri vseh ugotovili sekvenčni tip ST2. Primerjava zaporedij celotnih genomov (wgMLST) je pokazala, da so se vsi naši izolati filogenetsko razvrstili v klad ERIC I in gručo ERIC I-ST2. Rezultati anketnega vprašalnika so potrdili povezavo med genotipom ERIC in značilnimi kliničnimi znaki okužbe. Z disk difuzijsko metodo smo ugotovili, da posamezni sevi genotipa ERIC I izločajo protimikrobne snovi, ki inhibirajo rast nekaterih po Gramu pozitivnih bakterij in kvasovke *Malassezia pachydermatis*. Vpeljane diagnostične metode in zbrani rezultati predstavljajo pomemben doprinos k razumevanju genetske raznolikosti povzročitelja *P. larvae* in načinov širjenja hude gnilobe čebelje zalege.

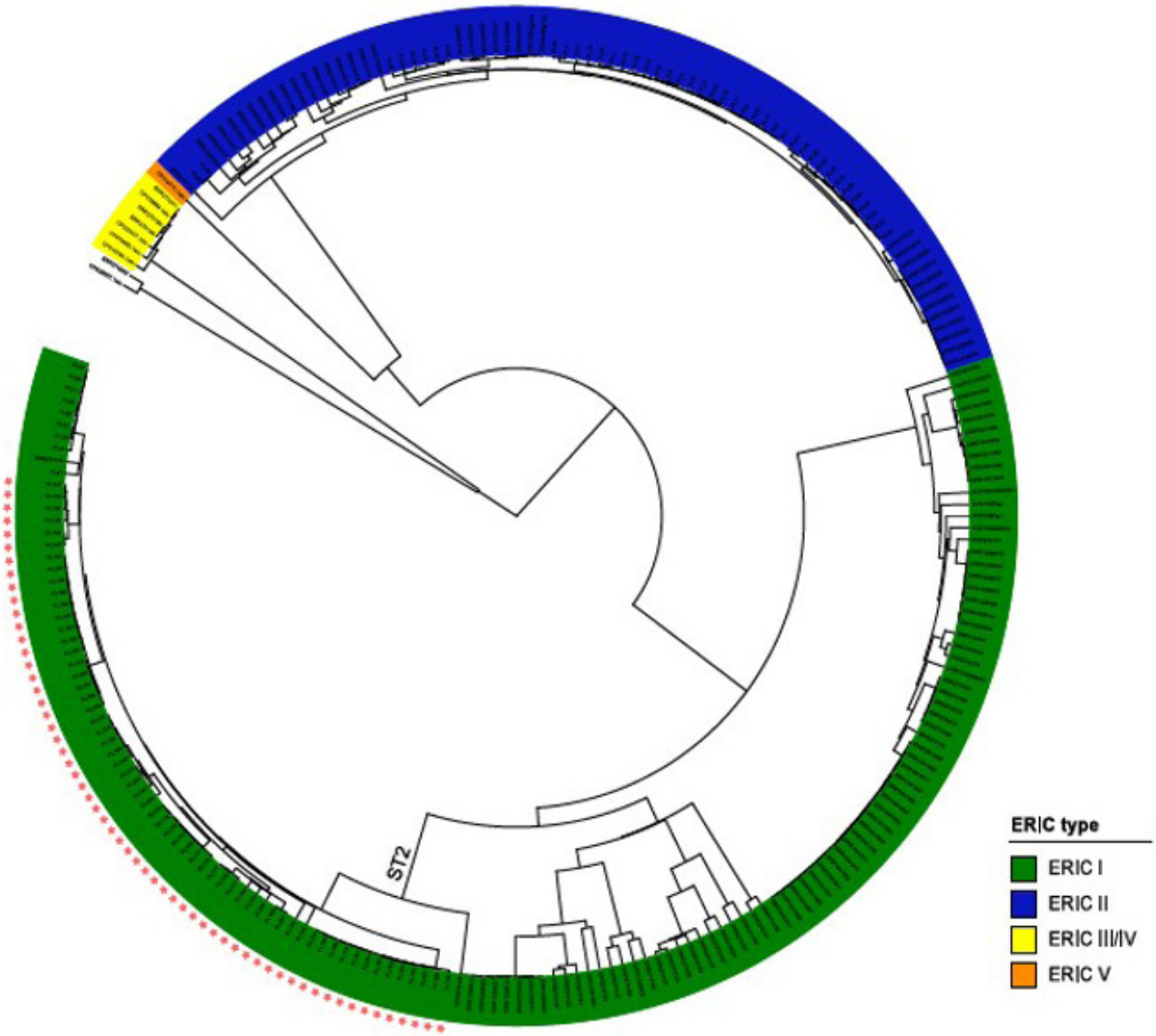
Ključne besede: *Paenibacillus larvae*, genotipizacija ERIC, sekvenciranje celotnega genoma

Opomba: Doktorska disertacija, mentorica: izr. prof. dr. Irena Zdovc

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta
[1] Nacionalni veterinarski inštitut Enota Maribor, Maribor, Slovenija
[2] Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Ljubljana, Slovenija



Slika 1: Tipična rast *P. larvae* v čisti kulturi iz vzorcev spremenjene zalege. Sive gladke kolonije, značilne za ERIC II (levo) in sive hrapave kolonije, značilne za ERIC I (desno).



Slika 2: Filogenetsko drevo. Razvrstitev izolatov (rdeče zvezdice) v klad ERIC I in gručo ERIC I-ST2

VAŽNOST MEDONOSNE PČELE U OPRAŠIVANJU EKOLOŠKOG NASADA JABUKE

Filip Jaman, Zlatko Puškadija, Marin Kovačić, Bojan Stipešević

filip.jaman@gmail.com

Sažetak

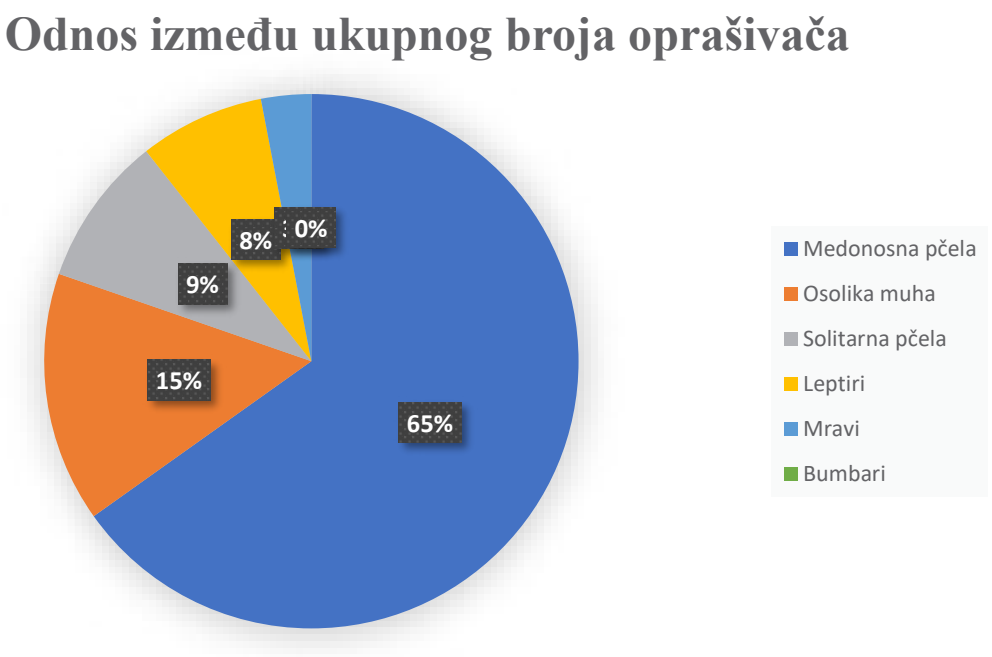
Medonosna pčela (*Apis mellifera*) jedan je od najznačajnijih oprašivača većine voćnih vrsta i cvijetnica. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi brojno stanje medonosne pčele i drugih oprašivača u nasadu jabuka, usporediti kakvoću plodova jabuke koji su oplođeni od strane oprašivača s onim cvjetovima koji su bili izolirani ili oplođeni od strane čovjeka. Prvi dio istraživanja je proveden 29. travnja 2022. u Erdutu (istočna Hrvatska) na 5 stabala jabuke prilikom čega je obavljen monitoring prisutnih oprašivača u ekološkom nasadu jabuke u prijepodnevnim i poslijepodnevnim satima. Na unaprijed određenim stablima jabuke cvati su bili podijeljeni u pet tretmana, kontrolni tretman, tretman potpune izolacije, tretman ručnog oprašivanja, tretman otvorenog i ručnog oprašivanja i tretman ograničene dostupnosti. Kontrolni tretman označavao je cvat koji je bio čitavo vrijeme dostupan oprašivačima. Tretman potpune izolacije je svo vrijeme trajanja pokusa bio nedostupan oprašivačima. Tretman ručnog oprašivanja na odabranom cvatu uz pomoć kista i prikupljene peludi čovjek je obavio oprašivanje nakon čega je cvat bio potpuno izoliran te nije postojala mogućnost dolaska oprašivača. Tretman otvorenog i ručnog oprašivanja označuje cvat dostupan oprašivačima čitavo vrijeme te dodatno oprašivanje uz pomoć kista od strane čovjeka; Tretman ograničene dostupnosti proveden je tako da je određeni cvat bio dostupan oprašivačima u vremenu od 10 minuta. Nakon monitoringa oprašivača, 19.07.2022. godine mjerili uspješnost oplodnje i veličinu plodova. Na kraju je mjerena masa, vlaga i šećeri dozrelih plodova jabuke. Najveći izmjeren plod iznosio je 48,2 mm. Zabilježen je u skupini koja je bila dostupna čitavo vrijeme za oplodnju dok najmanji izmjeren plod iznosi 12,5 mm u skupini koja je bila dostupna oprašivačima čitavo vrijeme ali je oprašena i od strane čovjeka. Najveća izmjerena vlaga iznosila 83,0 % izmjerena na stablu broj četiri u skupini koja je bila slobodna za oplodnju. Najmanja izmjerena vlaga iznosila je 76,1 % izmjerena je na stablu broj pet također u skupini sa slobodnom oplodnjom. Najveća izmjerena vrijednost šećera iznosi 19° Bx koja je izmjerena na stablima dva i četiri u skupini koja je imala slobodnu oplodnju i u skupini koja je bila dostupna oprašivačima deset minuta. Istraživanje je pokazalo kako je najbrojniji oprašivač bio medonosna pčela s ukupno 43 posjeta. Izolirani cvjetovi koji su bili zaštićeni mrežom su svi ostali bez ploda, oplodnja djelomično izoliranih cvjetova iznosila je 20 %, dok postotak uspješnosti zametanja ploda kod cvjetova koje smo oplodili ručno iznosi 40 %. Cvjetovi koji su bili dostupni oprašivačima čitavo vrijeme ostvarili su najveću uspješnost u oplodnji, postotak oplodnje iznosi 100 %. Od svih mjerenih parametara najveće izmjerene vrijednosti imala je skupina dostupna oprašivačima čitavo vrijeme i skupina dostupna oprašivačima 10 minuta. S obzirom na dobivene rezultate možemo zaključiti kako je oprašivanje od strane oprašivača nezamjenjivo bez obzira na znanje i vještine čovjeka te da izostanak oprašivačke aktivnosti rezultira znatno manjim brojem zametnutih cvjetova a samim time i plodova.

Ključne riječi: medonosna pčela, oprašivači, ekološka poljoprivreda

Napomena: Mentor: prof. dr. sc. Bojan Stipešević

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska

Slika 1: Cvati jabuke u izolacijskim mrežicama.



Slika 2: Odnos između ukupnog broja oprašivača.

MEHANIZMI ANTIBAKTERIJSKOG DJELOVANJA INOVATIVNOG EKSTRAKTA PROPOLISA

Mihaela Vranješ[1], Jelena Šuran[2], Ivana Tlak Gajger[1], Josipa Vlainić[3]

mihaela.vranjes@hotmail.com[1], jelena@apiotix.eu[2], ivana.tlak@vef.unizg.hr[1], josipa.vlainic@irb.hr[3]

Sažetak

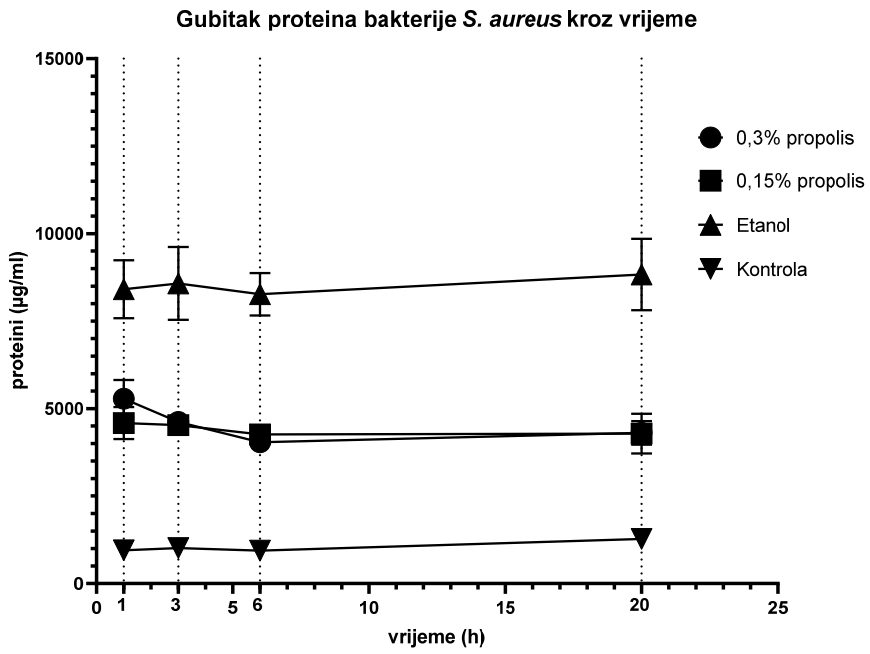
Propolis je pčelinji proizvod poznat ljudima više od dvije tisuće godina. Do danas najveći broj istraživanja koristi alkoholni (etanolni) ekstrakt propolisa. Iako učinkovit i najčešće u primjeni, etanolni ekstrakt nije preporučljiv kod određenih stanja i pacijenata u humanoj i veterinarskoj medicini. U našem istraživanju korišten je inovativni, bezalkoholni ekstrakt propolisa neškodljiv za primjenu kod trudnica, dojilja, ovisnika o alkoholu i životinja. Mnoštvo istraživanja na etanolnim ekstraktima dokazalo je nedvojbeni antibakterijski učinak propolisa, no samo nekolicina pokušava rasvijetliti kojim mehanizmima djeluje ova kompleksna mješavina aktivnih tvari. Cilj ovog istraživanja bio je otkriti potencijalne mehanizme djelovanja propolisa počevši od njegovog djelovanja na bakterijsku staničnu membranu.

U istraživanju smo koristili 3 %-tni bezalkoholni ekstrakt propolisa te odredili antibakterijski učinak i metodom dvostrukog serijskog razrjeđenja minimalnu inhibicijsku koncentraciju za bakteriju *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). Pri određivanju djelovanja propolisa na bakterijsku staničnu membranu koristili smo uzorke koncentracije 0,15 % i 0,3 %. Nakon pripreme uzoraka smo u zadanim vremenskim točkama (1 sat, 3 sata, 6 sati i 20 sati) uređajem BioSpec-nano mjerili koncentraciju proteina i dvolančane DNK. Mješavine bakterija i 96 %-tnog etanola te bakterija i Luria Broth medija korištene su kao kontrolni uzorci. Minimalna inhibicijska koncentracija za bakteriju *S. aureus* iznosila je 0,075 %. Koncentracija proteina u izvanstaničnom mediju nakon djelovanja propolisa bila je oko pet puta veća od koncentracije izmjerene kontrolnom uzorku bakterije s bakterijskim medijem. Najveće koncentracije proteina izmjerene su nakon prvog sata. Uzorak koncentracije propolisa 0,3 % je u početku imao veću izmjerenu koncentraciju proteina od uzorka koncentracije 0,15 %, a zatim se izmjerena koncentracija ova dva uzorka nije značajno razlikovala. Najveća koncentracija dvolančane DNK u izvanstaničnom mediju uzorka s 0,15 % propolisa izmjerena je nakon šest sati, a u uzorku s 0,3 % propolisa nakon 20 sati. Koncentracija dvolančane DNK u uzorku s 0,3 % propolisa bila je u prosjeku 2,76 puta veća od koncentracije u uzorku 0,15 % propolisa. Istraživanjem smo dokazali da inovativna i bezalkoholna otopina propolisa djeluje na integritet stanične membrane bakterije *S. aureus* te uzrokuje izlazak staničnog materijala (proteina i dvolančane DNK).

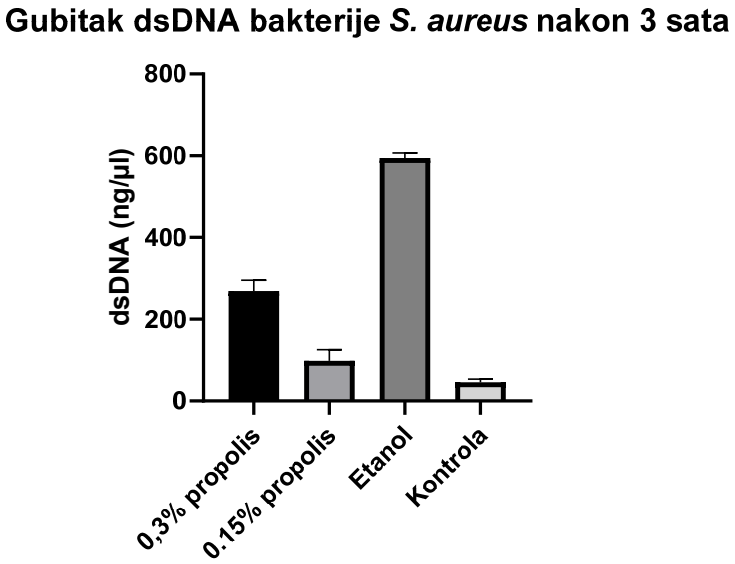
Ključne riječi: ekstrakt propolisa, *Staphylococcus aureus*, mehanizam djelovanja

Napomena: Prihvaćena tema diplomskog rada; mentori: izv. prof. dr. sc. Jelena Šuran, prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger, dr. sc. Josipa Vlainić

[1] Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska
[2] ApiotiX Technologies d.o.o., Split, Hrvatska
[3] Zavod za molekularnu medicinu, Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Hrvatska



Slika 1: Utjecaj bezalkoholnog ekstrakta propolisa u različitim koncentracijama na permeabilnost i integritet stanične membrane bakterije *S. aureus*. Prikazan je gubitak staničnih proteina bakterije kroz vrijeme. Podaci su dobiveni izračunavanjem srednje vrijednosti mjerenja ± SD.



Slika 2: Utjecaj bezalkoholnog ekstrakta propolisa u različitim koncentracijama na permeabilnost i integritet stanične membrane bakterije *S. aureus*. Prikazan je gubitak stanične dvolančane DNK (dsDNA) bakterije nakon 3 sata. Podaci su dobiveni izračunavanjem srednje vrijednosti mjerenja ± SD.

RAZUMIJEVANJE ZNAČAJA OPRAŠIVANJA KUKCIMA

Klara Arifović[1], Danilo Bevk[2], Ivana Tlak Gajger[3]

arifovicklara2@gmail.com[1], danilo.bevk@nib.si[2], itlak@vef.unizg.hr[3]

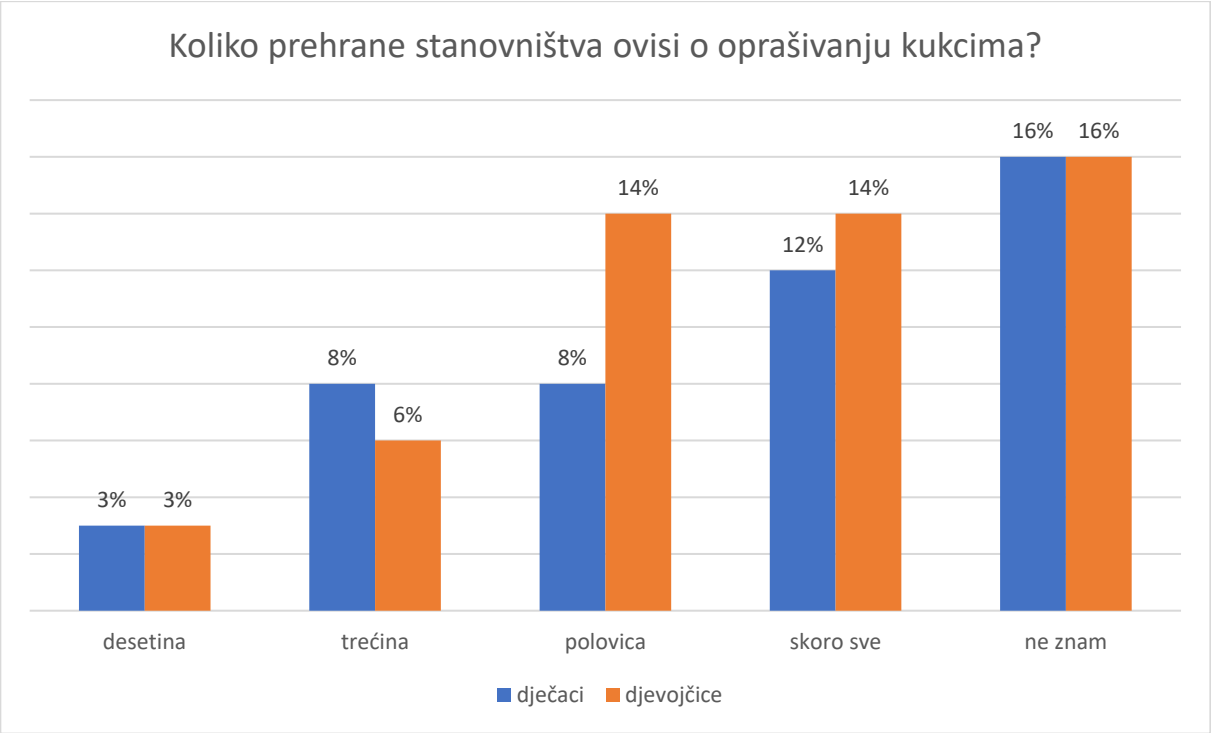
Sažetak

Oprašivanje je proces koji povezuje prirodne ekosustave s onima koje kontrolira čovjek, te uvelike ovisi o njihovom međudjelovanju. Ubrzanom urbanizacijom čovjek uvelike uništava prirodna staništa, mjesta za gniježđenje i time onemogućava prirodni razvoj kukaca oprašivača. Među kukcima oprašivačima postoje brojne razlike, od rasprostranjenosti, građe, morfologije, brojnosti i drugih, no svaki od njih ima svoju ulogu u održavanju bioraznolikosti u prirodi. Njihov značaj, osim u poljoprivrednoj proizvodnji, vidljiv je i u očuvanju zdravlja okoliša. Ljudi su već stoljećima svjesni važnosti kukaca oprašivača te se oni spominju kroz brojne zapise tijekom povijesti. Istraživanja su pokazala kako u posljednjih nekoliko godina dolazi do pada broja i raznolikosti kukaca oprašivača, te se zbog toga kod ljudi javlja potreba za njihovim monitoringom i zaštitom. Kako bi spoznali važnost kukaca oprašivača, o njihovoj važnosti mora se govoriti tijekom obrazovanja mladih ljudi, posebice školaraca u osnovnim i srednjim školama. Stoga je cilj rada bio, pomoću ankete provjeriti koliko važnosti se pridaje poznavanju kukaca oprašivača tijekom osnovnoškolskog obrazovanja i koliko su učenici završnih razreda diljem Republike Hrvatske upoznati s njima, njihovom građom, životnim navikama, te ulogom u prirodnim staništima.

Ključne riječi: oprašivanje, oprašivači, ugroženost, učenici, anketa

Napomena: Diplomski rad; mentori: prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger i doc. dr. Danilo Bevk

[1] Veterinarska stanica Rijeka, Rijeka, Republika Hrvatska
[2] Biološki institut Slovenije, Ljubljana, Slovenija
[3] Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska



Slika 1: Grafički prikaz pitanja.

Slika 2: Medonosna pčela na cvijetu.

VPLIV 2-HEPTANONA NA KRANJSKO ČEBELO (*Apis mellifera carnica*)

Špela Golob, Janko Božič, Gordana Glavan

spela.golob@bf.uni-lj.si

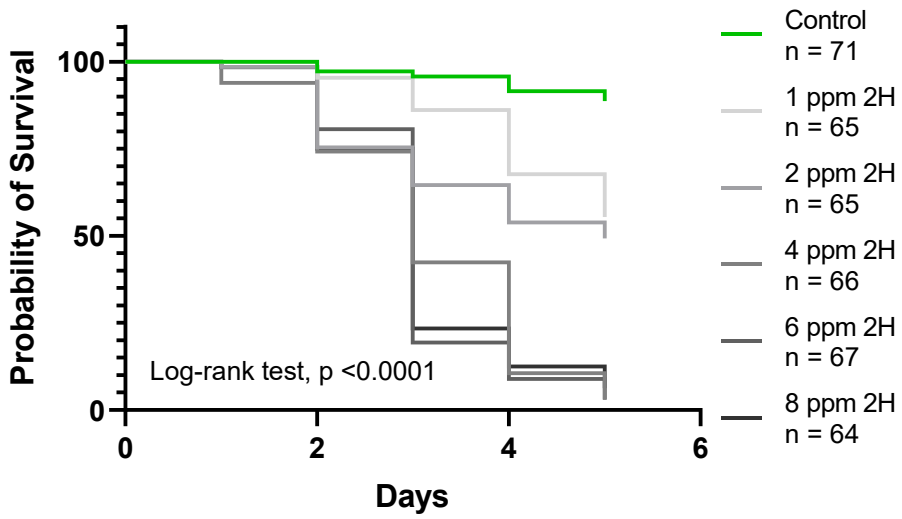
Izvleček

Azijska pršica varoja (*Varroa destructor*) predstavlja velik problem v čebelarstvu, saj predvsem s prenašanjem patogenih virusov negativno vpliva na preživetje čebel. Za zatiranje varoje se lahko uporablja sintetične akaricide, ki imajo enostavno aplikacijo in hitro delovanje, a se nabirajo v vosku in medu ter močno prispevajo k rezistenci pršic na akaricide. Poleg tega so njihovi negativni učinki na čebele, kot so vpliv na pašno vedenje, povečana smrtnost trotov in poškodbe črevesja pri larvah, že dobro dokumentirani. Zato je v zadnjem času velik poudarek na raziskovanju naravnih akaricidnih substanc. Med njimi ima velik potencial 2-heptanon, čebelji feromon, saj se je izkazal za učinkovitega pri odstranjevanju pršic, ker naj bi ohromitev varoje olajšala njeno odstranitev med higienskih vedenjem čebel. Morebitni vplivi na zdravje čebel pri aplikacijah 2-heptanona pa še niso bili raziskani. Osrednji namen mojega doktorskega dela je raziskati vplive različnih koncentracij 2-heptanona na kranjsko čebelo (*Apis mellifera carnica*) za namen uporabe te snovi v akaricidne namene in s tem izboljšati razumevanje njegovih možnih škodljivih učinkov. Visoka smrtnost čebel, izpostavljenim 2-heptanonu, kaže na potencialno toksičnost te spojine, ki je pogojena s koncentracijo. Aktivnost detoksifikacijskega encima glutation transferaze se ob izpostavitvi subletalnim koncentracijam ni spremenila, delovanje encima acetilholin esteraze pa je bilo inhibirano. Slednje je lahko znak nevrotoksičnosti 2-heptanona, vendar so za to potrebne še dodatne raziskave. Čeprav je bil 2-heptanon opisan kot potencialni akaricid, dosedanji rezultati kažejo, da bi bila njegova uporaba v praksi zaradi njegovih negativnih učinkov na čebele omejena. Problem je tudi v visoki hlapnosti, kar otežuje njegovo uporabo.

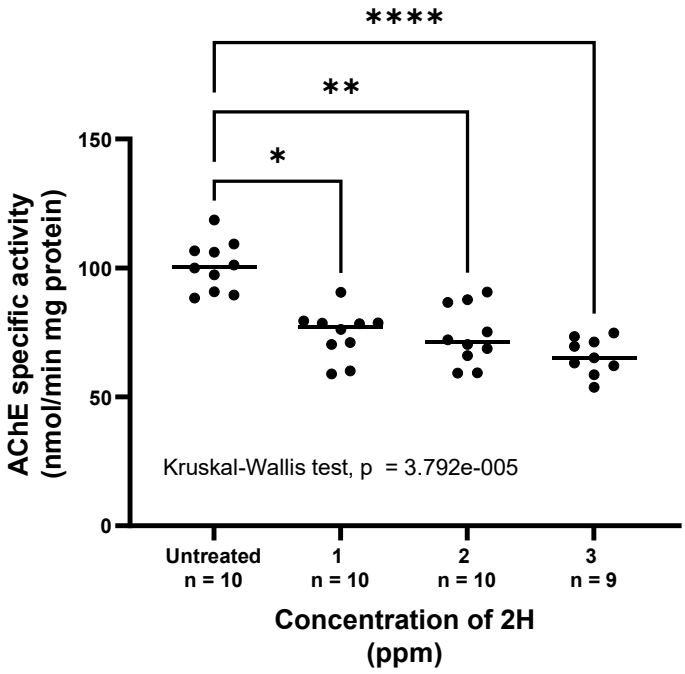
Ključne besede: Kranjska čebela, feromon 2-heptanon, akaricid, acetilholin esteraza, toksikologija

Opomba: Tema doktorata; mentor doc. dr. Gordana Glavan

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta - oddelek za biologijo, Ljubljana, Slovenija



Slika 1: Verjetnost preživetja čebel po izpostavitvi različnim koncentracijam 2-heptanona (2H). 2H ima že pri najnižjih koncentracijah negativen učinek na preživetje čebel.



Slika 2: Aktivnost encima acetilholin esteraze (AChE) v odvisnosti od koncentracije 2-heptanona (2H). Izpostavljenost čebel 2H inhibira delovanje AchE, tretirane skupine se statistično značilno razlikujejo od kontrole (Dunn-ov post hoc test: * - p = 0.0117, ** - p = 0.0031, **** - p < 0.0001).

PRIPREMA PČELINJIH ZAJEDNICA ZA PAŠU BAGREMA (*Robinia pseudoacacia*)

Andrija Marijanović

andrijamarijanovic98@gmail.com

Sažetak

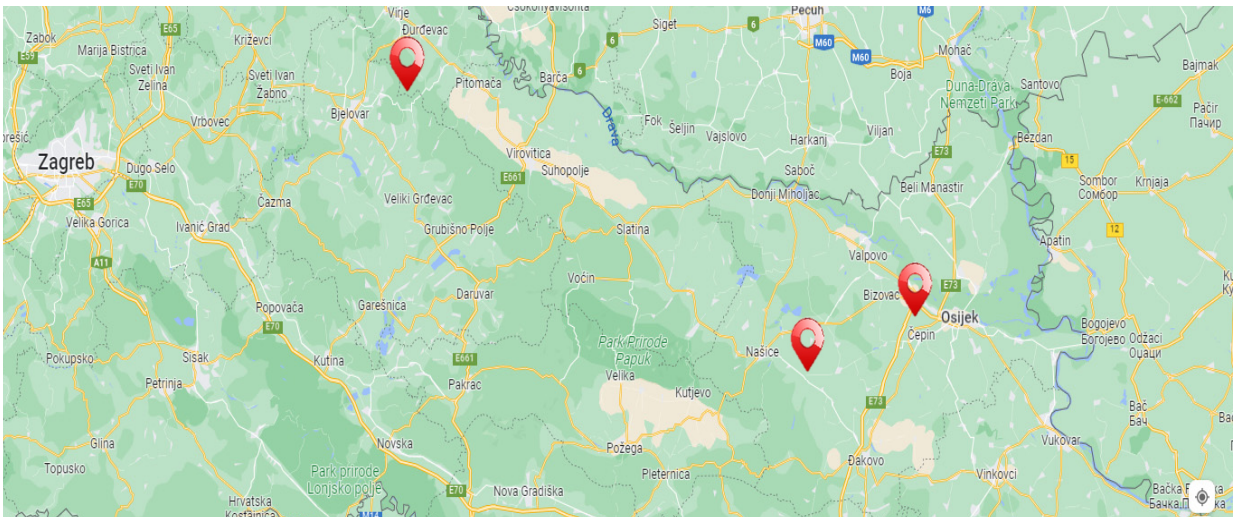
Kranjska pčela (*Apis mellifera carnica*) jedna je od najraširenijih i komercijalno najkorištenijih podvrsta medonosne pčele u svijetu te jedina podvrsta u Hrvatskoj. Karakterizira ju uspješno prezimljavanje, brz i intenzivan proljetni razvoj, dobra sakupljačka aktivnost, niska agresivnost te izraženi rojevni nagon. U proljetnom razvoju jedna od bolesti na koju je potrebno obratiti pažnju je nozemoza čiji su uzročnici mikrosporidiji iz roda *Nosema*. Ova nametnička bolest odraslih pčela može izazvati ozbiljne štete na pčelinjacima, osobito ako se zanemari ili ne primijeti na vrijeme. Proljetni razvoj pčelinjih zajednica predstavlja ključan faktor pri iskorištavanju glavnih medonosnih paša kontinentalne Hrvatske, uljane repice (*Brassica napus*) i bagrema (*Robinia pseudoacacia*). Paša bagrema je najvažnija medonosna paša kontinentalnog dijela Hrvatske. Kako bi se ostvarili visoki prinosi meda, na paši bagrema pčelinje zajednice moraju biti na vrhuncu razvoja. U ovom istraživanju praćen je razvoj pčelinjih zajednica tijekom proljeća do bagremove paše te je analizirana prisutnost spora nozemoze u pčelinjim zajednicama prije i nakon bagremove paše. Rezultati istraživanja pokazali su kako snaga i razvoj zajednica u proljeće utječu na prinos meda. Negativni čimbenici u vidu zaraznih bolesti dovode do komplikacija u procesu proizvodnje.

Ključne riječi: medonosna pčela, bagrem, tehnologija pčelarenja, nozemoza.

Napomena: Diplomski rad. Mentor: doc.dr.sc. Marin Kovačić

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Hrvatska

Slika 1: Seleći pčelinjak obrta Mariomed.



Slika 2: Lokacije praćenja razvoja pčelinjih zajednica prije i nakon bagremove paše.

IZVEDBA IN UGOTAVLJANJE USPEŠNOSTI PRAŠENJA MATIC (*Apis mellifera carnica*) Z UPORABO ZAMIKANJA PARITVENIH LETOV MATIC IN TROTOV

Tadeja Vidmar, Janez Prešern

vidmar.tadeja@gmail.com, janez.presern@kis.si

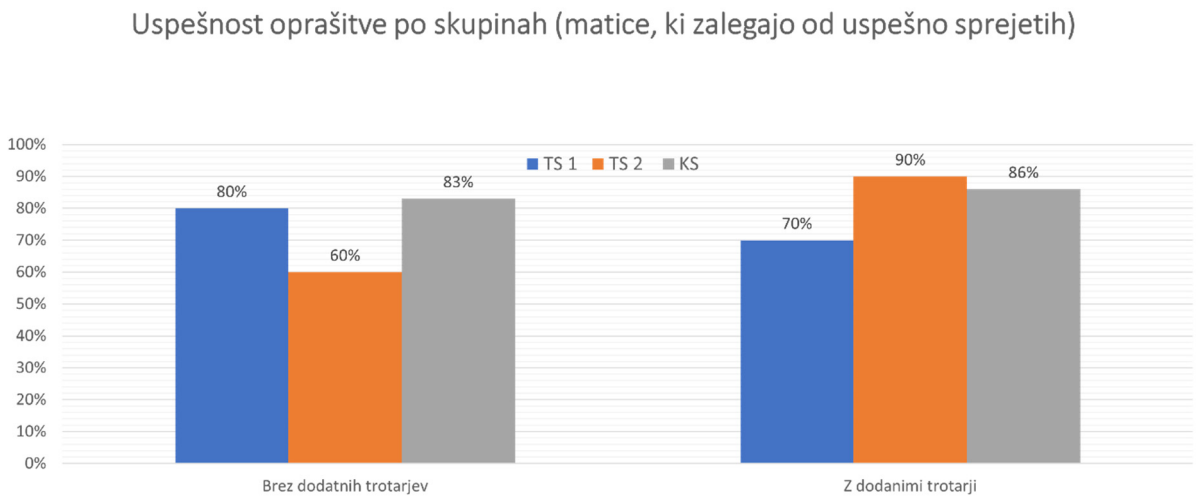
Izvleček

Vzrejevalci matic se v Sloveniji spopadajo s problemom doseganja zadovoljivega genetskega napredka. V svetu se željeni genetski napredek najpogosteje dosega preko parjenja matic na izolirani plemenilni postaji. Visoka gostota čebeljih družin po celotnem teritoriju Republike Slovenije predstavlja problem pri vzpostavitvi takih postaj. Alternativa je uporaba metode po Hornerju oz. zapozneli čas prašenja, pri katerem čebelar odpira panjska žrela prašilčkov in trotovskih družin kasneje v dnevu, ko so se paritveni leti že končali. Metoda ni primerna za vsako okolje, saj zavisi od dolžine dneva ter temperatur. Z izvedbo metode po zapoznelem času prašenja bi ugotovili kakšna je uspešnost te metode na zemljepisnih širinah Slovenije in tako možnost ohranjanja željenih linij tudi v praksi. S pripravo načrta in izvedbo nadzorovanega parjenja matic po metodi zamikanja paritvenih letov smo na plemenišču začeli v drugi polovici junija in končali konec julija. V prvi delovni hipotezi, določeni pred začetkom izvedbe poskusa, sem predvidevala, da bo uspešnost prašenja matic večja pri kontrolni skupini kot pri testnih skupinah. V drugi hipotezi pa, da bo najmanjša uspešnost oprašitve pri skupini, ki bo imela najkasnejši čas prašenja. Med izvedbo nadzorovanega parjenja matic po opisani metodi sem zbirala podatke o času izletov in priletov, posebnostih obnašanja čebel in vremenskih značilnostih na dneve opazovanja ter ob tem pridobila tudi nekaj video vsebin. Vse matice iz testnih skupin so bile kljub zamaknjenim paritvenim letom uspešno oprašene. Največje število letov se je pojavilo prvi dan opazovanja, najmanjše pa zadnji, peti opazovani dan. Čas trajanja izleta je bil najdaljši v primeru vrnitve matice z vidnimi znaki oprašitve. Za zanesljivejše ugotovitve, bi bila potrebna obsežnejša raziskava, v kateri bi se spremljalo večje število matic in kasnejše lastnosti matic, ki bi bile uporabljene v testnih skupinah.

Ključne besede: *Apis mellifera carnica,* vzreja matic, zamikanje paritvenih letov

Opomba: Tema diplomske naloge; mentor: doc. dr. Janez Prešern

Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana, Slovenija
Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija



Slika 1: Uspeh oprašitve uspešno sprejetih matic.

Slika 2: Poskusna postaja.

SPLETNA APLIKACIJA ZA USKLAJEN NADZOR VAROZE

Dino Mrvalj

dino.mrvalj@gmail.com

Izvleček

V čebelarstvu med težavami izstopa varoza, ki jo povzroča parazitska pršica Varroa destructor. Veliko pozornosti se namenja tretiranju proti varoji, sorazmerno malo pa preprečevanju reinvaziji varoje v čebelje družine.

Možnost reinvazije želimo zmanjšati z usklajenim nadzorom varoje. V ta namen smo razvili spletno aplikacijo, ki čebelarjem olajša usklajevanje datumov tretiranja proti varoji. Omogoča tudi zbiranje podatkov, ki so pomembni za nadzor varoje. Možno uporabo podatkov smo prikazali z modelom, ki določi reinvazijski potencial čebelnjaka.

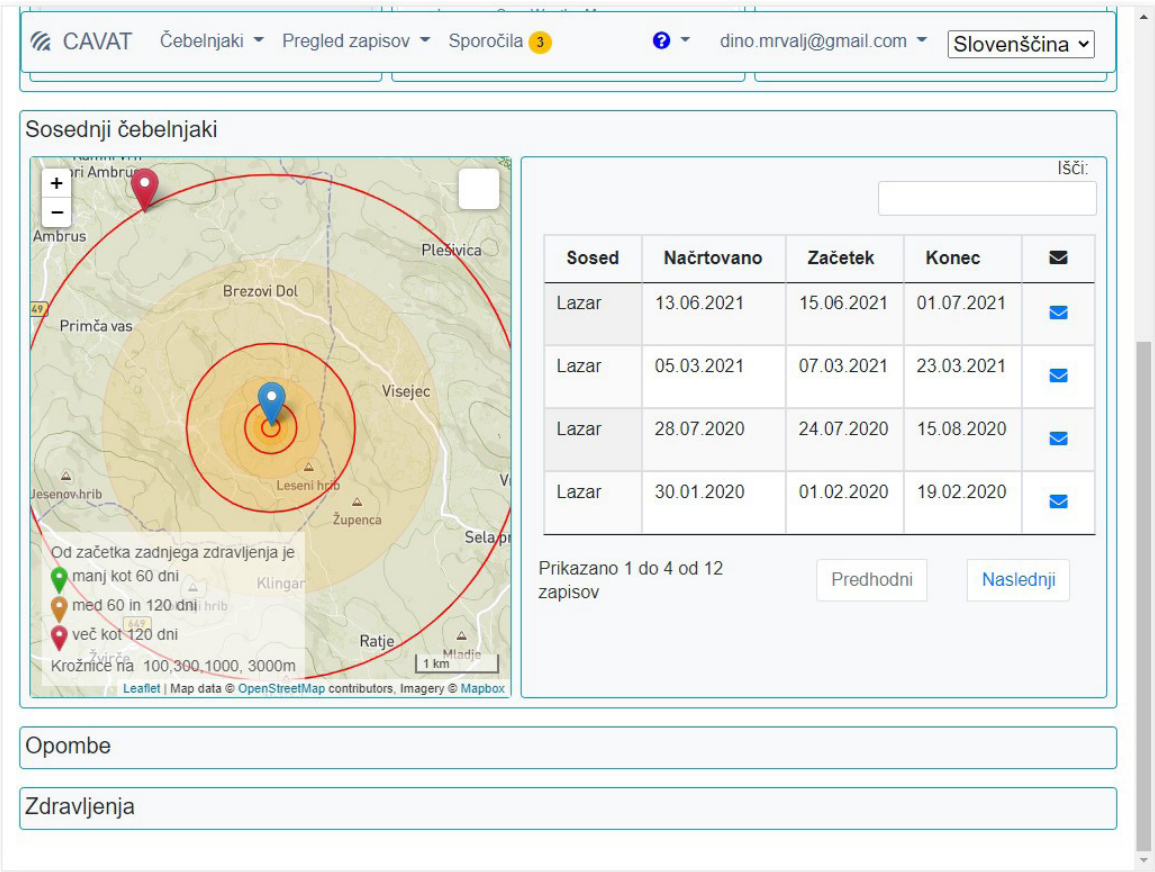
S prikazom razvoja in demonstracijo končnega izdelka smo prikazali uporabo spletne aplikacije za usklajen nadzor varoj. Pri razvoju smo se posvetili predvsem fazi analize, kjer smo določili funkcionalne zahteve za razvoj aplikacije. Manj pozornosti je namenjeno tehnološkemu vidiku razvoja. Demonstracija izdelka je narejena s prikazom spletnih strani, na katerih so opisane nekatere funkcionalnosti in rešitve za uporabniku prijazno aplikacijo.

V diskusiji smo omenili nekatere probleme, na katere smo naleteli med razvojem.

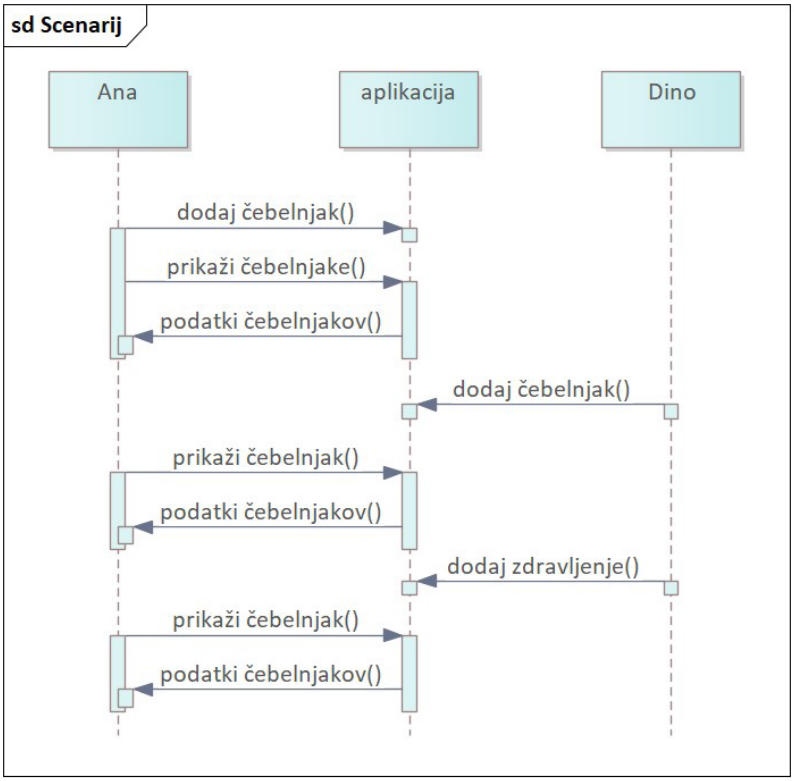
Ključne besede: Čebelarstvo, Varoja, Reinvazija, Nadzor, Spletna aplikacija

Opomba: Magistrsko delo; mentor: doc. dr. Borut Werber

Univerza v Mariboru, Fakulteta za organizacijske vede, Kranj, Slovenija



Slika1: Prikaz stanja v okolici čebelnjaka.



Slika 2: Proces vnosa in prikaza podatkov o čebelnjakih.

UTJECAJ PREHRANE NA ZDRAVLJE I IMUNITET ZAJEDNICA MEDONOSNE PČELE (*Apis mellifera* L.)

Arnold Majoroš[1], Maja Ivana Smodiš Škerl[2], Ivana Tlak Gajger[3]

marnold.vet@gmail.com[1], maja.smodis.skerl@kis.si[2], ivana.tlak@vef.unizg.hr[3]

Sažetak

Medonosne pčele (*Apis mellifera* L.) stalno reguliraju prehrambene potrebe zajednice i prilagođavaju svoje metaboličke aktivnosti prema pašnim prilikama i uspješnosti u skupljanju hrane iz prirode. U proljeće su vremenski uvjeti nepredvidljivi, a svaki dulji prekid unosa peluda u košnicu utječe na pojavu smanjene površine saća s položenim pčelinjim leglom što je povezano sa smanjenjem koncentracije vitelogenina u mladih pčela i posljedično njihovog znatno skraćenog životnog vijeka. Pritome, pomanjkanje unosa peluda uz istodobni stres izazvan utjecajem vanjskih nepovoljnih čimbenika (uzročnici bolesti, pesticidi, nametnici, niska genetska raznolikost,...) dodatno ograničava dostupnost hranjivih tvari u pčelinjoj zajednici jer negativno utječe na skupljačku aktivnost pčela i ravnotežu njihove prehrane. Hrana za prihranjivanje pčelinjih zajednica obogaćena dodacima (pelud, proteini, vitamini) uobičajeno se koristi u pčelarstvu u rano proljeće i tijekom bespašnih razdoblja u kasno ljeto. Polazeći od činjenice da u literaturi postoje malobrojni i nedovoljno potvrđeni rezultati o učinkovitosti primjene prihranjivanja pčelinjih zajednica pogačama različitog sastava, a koji se redovito preporučuju i koriste, cilj ovog rada je istražiti učinak prihranjivanja pogačama odraslih pčela radilica u laboratorijski kontroliranim uvjetima na niz fizioloških i imunoloških pokazatelja kao i pčelinjih zajednica u terenskim uvjetima na njihovu jačinu, razvoj i sposobnost prezimljavanja. U svrhu utvrđivanja razlika u imunološkim i fiziološkim promjenama biti će uspostavljen niz pokusa prihranjivanja proljetnih i ljetnih pčela u kavezima. Osim preživljavanja pčela, uzorkovat će im se hemolimfa za analiziranje proteinskog, lipidnog i ugljikohidratnog sastava. Pretpostavka je da dodaci hrani mogu utjecati na fiziološki status i/ili modulirati imunološki odgovor različito ovisno o dobi i zadacima pčela. Iz toga aspekta, svrha je utvrditi razlike među skupinama pčela različite dobi u odnosu na proljetne i ljetne pčele u laboratorijski kontroliranim uvjetima. U pčelinjaku će se prihranjivati proizvodne zajednice, a određivati će se njihova jačina, potrošnja dodane hrane te invadiranost nametnicima *Nosema* spp. i *Varroa dectructor*.

Ključne riječi: pčelinja zajednica, *Apis mellifera*, dodatci hrani, pogače, prihranjivanje, patogeni uzročnici bolesti, zimski gubici

Napomena: Prihvaćena tema doktorskog rada; mentorice: prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger, doc. dr. Maja Ivana Smodiš Škerl

[1] Luna Vet, Teremin, Srbija
[2] Kmetijski Inštitut Slovenije, Ljubljana, Slovenija
[3] Veterinarski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Slika 1: Uzorkovanje pčela, hemolimfe, crijeva i glave za analize nakon pokusa prihranjivanja pogačama u laboratorijskim uvjetima u lipnju 2022, Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana.

Slika 2: Priprema na pokus u pčelinjaku, ocjenjivanje, uzorkovanje i prihranjivanje različitim pogačama u travnju 2022, Sotin (Vukovar), Hrvatska.