

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Marko HRASTELJ

**LETALNI IN SUBLETALNI UČINKI  
IMIDAKLOPRIDA, FOSALONA IN GLIFOSATA PRI  
MEDONOSNI ČEBELI (*Apis mellifera* L.)**

MAGISTRSKO DELO

Ljubljana, 2009

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Marko HRASTELJ

**LETALNI IN SUBLETALNI UČINKI IMIDAKLOPRIDA,  
FOSALONA IN GLIFOSATA PRI MEDONOSNI ČEBELI  
(*Apis mellifera* L.)**

MAGISTRSKO DELO

**LETHAL AND SUBLETHAL EFFECTS OF IMIDACLOPRID,  
PHOSALONE AND GLYPHOSATE ON HONEY BEE  
(*Apis mellifera* L.)**

M.SC. THESIS

Ljubljana, 2009

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete z dne 24.4.2006 je bilo potrjeno, da kandidat izpolnjuje pogoje za magistrski Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti ter opravljanje magisterija znanosti s področja agronomije. Za mentorja je bil imenovan doc. dr. Janko Božič. Magistrsko delo je zaključek podiplomskega študija bioloških in biotehniških znanosti – področje agronomija. Poskusi v laboratoriju so bili opravljeni na Katedri za etologijo Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, čebele so bile odvzete v panjih poleg Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete in v čebelarstvu Marko Hrastelj.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Lea Milevoj  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Janko BOŽIČ  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: prof. dr. Aleš GREGORC  
Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

Datum zagovora: 21.7.2009

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Marko HRASTELJ

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Md
- UDK 638.12:599.799:632.95.024(043.3)
- KG medonosna čebela/trofalaksa/*Apis mellifera carnica*
- Poll./glifosat/fosalon/imidakloprid
- KK AGRIS L74/H01
- AV HRASTELJ, Marko, univ. dipl. inž. agronomije
- SA BOŽIČ, Janko (mentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti, področje agronomije
- LI 2009
- IN LETALNI IN SUBLETALNI UČINKI IMIDAKLOPRIDA, FOSALONA IN GLIFOSATA PRI MEDONOSNI ČEBELI (*Apis mellifera carnica* Poll.)
- TD Magistrsko delo
- OP XI, 73 [15] str., 43 pregl., 19 sl., 11 pril., 48 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Medonosne čebele so zaradi majhne mase telesa in velike količine hrane, ki jo lahko zaužijejo v primerjavi s telesno maso, zelo občutljive na prisotnost nevarnih kemičnih snovi, med katerimi prednjačijo fitofarmacevtska sredstva (FFS). Negativni učinki teh kemikalij se kažejo v številnih letalnih in subletalnih učinkih. V raziskavi smo spremljali vplive glifosata, imidakloprida in fosadona na izmenjavo hrane oziroma trofalakso, hkrati pa smo beležili število mrtvih čebel. Vplive glifosata smo zaradi podobnosti z realno zastrupitvijo merili v koncentraciji 1,2-3,6 L/ha (cca  $5,76 \times 10^5$ - $1,728 \times 10^4$  g/čebelo). Ugotovili smo, da koncentracije 2,4 in več L/ha povzročajo letalne učinke, pri koncentraciji 1,2 L/ha pa so ob statistično značilnih letalnih učinkih statistično značilni tudi subletalni učinki na preživelih čebelah. Subletalne vplive imidakloprida smo merili na zimskih in letnih čebelah, ob tem smo pri zimskih čebelah že med letom spremljali tudi napadenost z varojami (*Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000) v izbranih družinah. Ugotovili smo, da imidakloprid v zelo majhni koncentraciji  $2 \times 10^8$  g/L (cca  $2 \times 10^{13}$  g/čebelo) vpliva na zmanjšanje količine izmenjave hrane. Individualna obravnava vpliva imidakloprida in napadenosti z varojami na nivoju družine sta v poskusu delovala ločeno in oba statistično značilno, interakcija pa ni bila statistično značilna. Zmanjšan obseg izmenjave hrane v skupini 8 čebel v kletkah smo opazili tudi v primeru aplikacije fosadona (Zolone Lique) v koncentraciji 0,002 % (cca  $7 \times 10^8$  g/čebelo).

## KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Md
- UDC 638.12:599.799:632.95.024(043.3)
- CX honey bee/trophallaxis/*Apis mellifera carnica*
- Poll./glyphosate/phosalone/imidacloprid
- CC AGRIS L74/H01
- AU HRASTELJ, Marko
- AA BOŽIČ, Janko (supervisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate Study of Biological and Biotechnical Sciences, Field: Agronomy
- TI LETHAL AND SUBLETHAL EFFECTS OF IMIDACLOPRID, PHOSALONE AND GLYPHOSATE ON HONEY BEE (*Apis mellifera* L.)
- DT M.Sc. Thesis
- NO XI, 73 [15]p., 43 tab., 19 fig., 11 ann., 48 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB The honey bee is one of the most important pollinators in nature. Because of their small size and large quantity of feed they consume in comparison to their body weight they are very sensitive to the presence of dangerous chemicals. Among those honey bees are likely to come in contact with phytopharmaceutical chemicals. Negative effects of these chemicals are shown in many lethal and sublethal effects. Effects of glyphosate, imidacloprid and phosalone on trophallaxis (sublethal effects) were measured in this research and simultaneously individual bee death was recorded. Effects of glyphosate were monitored in 1,2 – 3,6 L per hectare concentration (approximately  $5,76 \times 10^5$ - $1,728 \times 10^4$  g per bee) due to the similarity with the poisoning of the bees in 2004. 2,4 L and 3,6 L of glyphosate per caused significant lethal effects, at 1,2 L per hectare sublethal effects became significant on the survived bees. Sublethal effects of imidacloprid were measured both on winter and summer bees, varroa infestation (*Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000) in winter bees was measured also during the season in selected colonies. A reduction in trophallaxis was established at  $2 \times 10^{-8}$  g/L concentration (approximately  $2 \times 10^{-13}$  g per bee). The effects of varroa infestation of the colonies and individual treatment with imidacloprid were separate and interaction was not significant. A reduced trophallaxis was also established in feeding 0,002 % of phosalone (Zolone Liquide) (approximately  $7 \times 10^{-8}$  g per bee) in saccharose dilution to groups of 8 bees in cages.

## KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	IX
Kazalo prilog	X
Okrajšave in simboli	XI
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
1.1 POVOD ZA RAZISKAVO	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA	1
1.3 NAMEN RAZISKAVE	2
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>3</b>
2.1 MEDONOSNA ČEBELA ( <i>APIS MELLIFERA</i> L., 1758)	3
2.1.1 Čebelja družina	3
2.1.2 Sistematika	4
2.1.3 Kranjska sivka ( <i>Apis mellifera carnica</i> Poll., 1879)	4
2.2 KOMUNIKACIJA MED ČEBELAMI <i>APIS MELLIFERA</i> L., 1758	5
2.2.1 Izmenjava hrane – trofalaksa	5
2.2.2 Potek trofalakse	6
2.2.3 Vpliv različnih dejavnikov na obseg izmenjave hrane	6
2.2.4 Spremljanje odzivov čebel na kemikalije s pomočjo vedenjskih metod	6
2.3 VAROZA ČEBEL (VAROOSIS)	7
2.4 ZASTRUPITVE ČEBEL	8
2.4.1 Imidaklopid	9
2.4.2 Glifosat	11
2.4.3 Fosalon	13
<b>3 MATERIAL IN METODE</b>	<b>16</b>
3.1 LOKACIJA IN ČAS POSKUSA	16
3.2 METODE DELA	17
3.2.1 Inkubator	17
3.2.2 Izlegalna matičnica	18
3.2.3 Nabiranje in štetje čebel	19
3.2.4 Krmljenje čebel z različnimi raztopinami	21
3.2.5 Potek izmenjave hrane v paru matičnic	22
3.2.6 Tehtanje matičnic	23
3.3 STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV	23
3.3.1 Probit analiza	23
3.3.2 Obdelava podatkov	25
3.3.3 Analiza variance	26
3.3.4 Korelacija	26
<b>4 REZULTATI</b>	<b>27</b>
4.1 PROBIT ANALIZA	27
4.1.1 Vhodni podatki	27

4.1.2	<b>Izračun probit vrednosti</b>	27
4.1.3	<b>Korekcija s heterogeno</b>	28
4.2	<b>LETALNI IN SUBLETALNI VPLIVI GLIFOSATA</b>	29
4.2.1	<b>Testi pravilnosti rezultatov</b>	30
4.2.2	<b>Letalni vplivi</b>	31
4.2.3	<b>Subletalni vplivi uživanja glifosata</b>	36
4.3	<b>LETALNI IN SUBLETALNI VPLIVI IMIDAKLOPRIDA</b>	44
4.3.1	<b>Testi pravilnosti rezultatov</b>	45
4.3.2	<b>Letalni vplivi imidakloprida</b>	47
4.3.3	<b>Subletalni vplivi imidakloprida</b>	51
4.4	<b>LETALNI IN SUBLETALNI VPLIVI ETANOLA, IMIDAKLOPRIDA IN FOSALONA</b>	54
4.4.1	<b>Letalni vplivi etanola, imidakloprida in fosalona na medonosno čebelo</b>	55
4.4.2	<b>Subletalni vplivi etanola, imidakloprida in fosalona na medonosno čebelo</b>	56
5	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI</b>	59
5.1	<b>PROBIT ANALIZA</b>	59
5.2	<b>LETALNI IN SUBLETALNI VPLIVI GLIFOSATA</b>	59
5.3	<b>LETALNI IN SUBLETALNI VPLIVI IMIDAKLOPRIDA</b>	62
5.4	<b>SUBLETALNI VPLIVI IMIDAKLOPRIDA IN FOSALONA</b>	62
5.5	<b>SKLEPI</b>	63
6	<b>POVZETEK (SUMMARY)</b>	66
6.1	<b>POVZETEK</b>	66
6.2	<b>SUMMARY</b>	67
7	<b>VIRI</b>	69

**ZAHVALA**  
**PRILOGE**

KAZALO PREGLEDNIC	str.
Preglednica 1: Taksonomska uvrstitev medonosne čebele ( <i>Apis mellifera</i> L., 1758)	4
Preglednica 2: Toksikološki podatki aktivne snovi fosalon (Fito Info, 2007)	14
Preglednica 3: Toksikološki podatki pripravka Zolone Liquide (Fito Info, 2007)	15
Preglednica 4: Vhodni podatki za probit analizo	27
Preglednica 5: Probit tabela	27
Preglednica 6: Parametra regresijske premice in Pearsonov koeficient	27
Preglednica 7: Probit, pričakovan odstotek mrtvih, pričakovano št. mrtvih in št. umrlih čebel	28
Preglednica 8: Opisna statistika povprečij mas čebel v skupinah sprejemnic in dajalk	30
Preglednica 9: T-test enakosti mas čebel v skupinah dajalk in sprejemnic	30
Preglednica 10: Korelacija med začetno in končno maso matičnic	30
Preglednica 11: Korelacija med številom mrtvih čebel v skupini sprejemnic in številom mrtvih čebel v skupini dajalk	31
Preglednica 12: Število parov matičnic vključenih v poskus glede na faktorja varoza in sredstvo	32
Preglednica 13: Enosmerna ANOVA vpliva dejavnikov varoza, sredstvo in njune interakcije na skupno število mrtvih čebel v paru	32
Preglednica 14: Enosmerna ANOVA vpliva dejavnika sredstvo na skupno število mrtvih čebel v paru	33
Preglednica 15: Neposredne primerjave (kontrasti) vplivov različnih sredstev na skupno število mrtvih čebel v paru matičnic	34
Preglednica 16: Razvrstitev v podobnostne skupine glede na število mrtvih čebel zaradi uživanja različnih vrst hrane po dveh testnih statistikah	36
Preglednica 17: Enosmerna ANOVA vpliva dejavnikov varoza, sredstvo in njune interakcije na izmenjavo hrane v paru matičnic	37
Preglednica 18: Korelacija v spremembi mase po 24 urah med skupinama dajalk in sprejemnic	38
Preglednica 19: Korelacija v spremembi mase po 24 urah med skupinama dajalk in sprejemnic, izločeni pari z več kot 4 mrtvimi čebelami	40
Preglednica 20: Korelacija v spremembi mase po 24 urah med skupinama dajalk in sprejemnic, izločeni pari z več kot 3 mrtvimi čebelami	40
Preglednica 21: Korelacija v spremembi mase po 24 urah med skupinama dajalk in sprejemnic, izločeni pari z več kot 2 mrtvima čebelama	41
Preglednica 22: Število parov matičnic v poskusu glede na različne vrste hrane (spremenljivka sredstvo)	41
Preglednica 23: Enosmerna ANOVA vpliva dejavnika sredstvo na izmenjavo hrane v paru matičnic	42
Preglednica 24: Neposredne primerjave (kontrasti) vplivov različnih sredstev na izmenjavo hrane v paru matičnic glede na različne vrste hrane, testna statistika Tukey-ev HSD	43
Preglednica 25: Razvrstitev v podobnostne skupine glede na izmenjavo hrane zaradi uživanja različnih vrst hrane po dveh testnih statistikah (Tukey HSD, Duncan)	44



Preglednica 26: Korelacija med začetno in končno maso matičnic po skupinah dajalk in sprejemnic	45
Preglednica 27: Opisna statistika mase čebel v matičnicah v skupinah dajalk in sprejemnic	46
Preglednica 28: T-test – primerjava enakosti mas v skupini dajalk in sprejemnic	46
Preglednica 29: Korelacija števila mrtvih čebel med skupinama dajalk in sprejemnic	47
Preglednica 30: Enosmerna ANOVA spremenljivk o številu mrtvih čebel glede na prisotnost varoze, krmljenje različnih snovi in njune interakcije	48
Preglednica 31: Medsebojne primerjave števila mrtvih čebel v odvisnosti od vrste hrane – sredstva	50
Preglednica 32: Število parov matičnic, vključenih v test glede na spremenljivki sredstvo in skupina	51
Preglednica 33: Dvosmerna ANOVA vplivov vrste sredstva in skupine na izmenjavo hrane	51
Preglednica 34: Medsebojne primerjave vplivov posameznih vrst hrane na prenos hrane v paru matičnic	53
Preglednica 35: Razvrstitev v podobnostne skupine glede na izmenjavo hrane zaradi uživanja različnih vrst hrane po dveh testnih statistikah	53
Preglednica 36: Korelacije med začetnimi in končnimi masami matičnic	54
Preglednica 37: Korelacija med izgubama hrane v skupinah dajalk in sprejemnic	55
Preglednica 38: Število parov matičnic, vključenih v test glede na različna sredstva	55
Preglednica 39: Enosmerna ANOVA skupnega števila mrtvih čebel glede na krmljeno sredstvo	56
Preglednica 40: Število parov matičnic, vključenih v test glede na različna sredstva	56
Preglednica 41: Opisna statistika za spremenljivko prenos glede na različna sredstva	57
Preglednica 42: Enosmerna ANOVA spremenljivke prenos glede na vrsto sredstva	58
Preglednica 43: Dvosmerna ANOVA spremenljivke prenos glede na porabljeno hrano in različna sredstva	58

KAZALO SLIK	str.
Slika 1: Strukturna formula aktivne snovi fosalon (Fito Info, 2007)	13
Slika 2: Zunanost inkubatorja	17
Slika 3: Notranost inkubatorja	18
Slika 4: Par izlegalnih matičnic (kletk), v katerih smo izvajali poskuse	19
Slika 5: Spremljanje naravnega odpada varoj s pomočjo mrežne podnice	20
Slika 6: Panji na stojišču čebelarstva Biotehniške fakultete	21
Slika 7: Prikaz situacije v paru matičnic	22
Slika 8: Pot hrane v matičnicah	23
Slika 9: Delež mrtvih čebel in desetiški logaritem % mrtvih čebel v odvisnosti od koncentracije Zolone Liquida z vrisano regresijsko premico	29
Slika 10: Povprečje števila mrtvih čebel glede na uživanje sladkorne raztopine z različnimi koncentracijami glifosata (glifosat 1, glifosat 2 in glifosat 3)	31
Slika 11: Povprečje števila mrtvih čebel z minimumom in maksimumom glede na uživanje sladkorne raztopine z različnimi koncentracijami glifosata	35
Slika 12: Obseg izmenjave hrane glede na uživanje sladkorne raztopine z različnimi koncentracijami glifosata (glifosat 1, glifosat 2 in glifosat 3)	37
Slika 13: Korelacije količin parametra sprememba količine hrane v 24 urah med skupinama dajalk in sprejemnic	39
Slika 14: Povprečje števila mrtvih čebel s standardno deviacijo v poskusnem paru v odvisnosti od zdravstvenega stanja čebel	49
Slika 15: Povprečje števila mrtvih čebel s standardno deviacijo v poskusnem paru v odvisnosti od vrste hrane	49
Slika 16: Izmenjava hrane v poskusnem paru v odvisnosti od zdravstvenega stanja čebel	52
Slika 17: Izmenjava hrane v poskusnem paru v odvisnosti od vrste krme	52
Slika 18: Povprečno število mrtvih čebel z minimumom in maksimumom v paru glede na vrsto krme	56
Slika 19: Povprečja prenosov krme v odvisnosti od vrste krme v gramih	57

## KAZALO PRILOG

Priloga A: Naravni odpad varoj po panjih

Priloga B1: Poskus z imidaklopridom 2004 – skupina dajalke

Priloga B2: Poskus z imidaklopridom 2004 – skupina sprejemnice

Priloga B3: Pari čebel v poskusu z imidaklopridom v letu 2004

Priloga C: Skupine in pari matičnic v letu 2005

Priloga D1: Podatki z dne 9.6.2005 – poskus z imidaklopridom in fosalonom

Priloga D2: Podatki z dne 13.6.2005 – poskus z imidaklopridom in fosalonom

Priloga D3: Podatki z dne 14.6.2005 – poskus z imidaklopridom in fosalonom

Priloga D4: Podatki z dne 15.6.2005 – poskus z imidaklopridom in fosalonom

Priloga E: Panji čebelarstva Biotehniške fakultete poleti 2005

Priloga F: Podatki za poskus z glifosatom v letu 2004

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

- ANOVA – analiza variance  
D – oznaka za skupino dajalk  
S – oznaka za skupino sprejemnic  
M1 – masa prazne matičnice  
M2 – masa matičnice s hrano; pri matičnicah donorske skupine je  $M1=M2$   
M3 – masa matičnice s hrano ter 8 živimi čebelami pred vstavljanjem v inkubator  
M4 – masa matičnice s hrano in čebelami po 24 urah v inkubatorju  
M5 – masa matičnice po 24 urah – brez čebel  
LD – letalna doza  
LD50 – letalna doza (aktivne snovi), pri kateri umre 50 % vseh testnih organizmov  
FFS – fitofarmacevtsko sredstvo  
FURS – Fitosanitarna uprava Republike Slovenije  
MKGP – Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano  
KIS – Kmetijski inštitut Slovenije  
ČZS – Čebelarska zveza Slovenije  
HSD- Tukeyev HSD statistični test  
SR – sladkorna raztopina  
VAR – variabilnosti  
VKO – vsota kvadriranih odklonov (ang. SS – sum of squares)  
SKO – srednji kvadrirani odklon  
SP – stopinje prostosti  
N – število posameznih obravnavanj, osebkov itd.  
F – F vrednost pri analizi variance  
p - p vrednost  
DNK – dezoksiribo nukleinska kislina  
°C – stopinj Celzija  
št. – število  
1 M – 1 mol/L

## 1 UVOD

### 1.1 POVOD ZA RAZISKAVO

Medonosne čebele (*Apis mellifera* L., 1758) so med najbolj univerzalnimi opraševalci med žuželkami. To jim med ostalimi insekti daje prav posebno mesto, saj je velik del kmetijske pridelave, vezane na opraševanje žuželk, vezan prav nanje. Pogoste so tudi trditve, da so čebele glavni skrbnik biotske raznovrstnosti v naravi, kar je s stališča ekologije nekoliko pretirano (Gregori, 2009). Čebele z opraševanjem bolj medovitih rastlin posredno dajejo prednost tem rastlinam, s čimer jim dajejo priložnost, da nekoč prevladajo. Zaradi velikega števila različnih rastlin, ki jih čebele obiskujejo med iskanjem medicine, peloda, smol in vode, lahko z opazovanjem nabranih snovi in odziva čebel nanje ugotavljamo različne spremembe v okolju.

Medonosna čebela je pomemben bioindikatorski organizem, saj so njeno vedenje in različne fiziološke spremembe pomembni biomarkerji pojavljanja polutantov v okolju. Zaradi majhne mase posamezne čebele so opazni odgovori tudi pri zelo majhnih koncentracijah polutantov. Na ta način čebele in njihove pridelke občasno uporabljajo raziskovalci, čebelarji pa so tisti, ki so neprestano v stiku s čebelami in spremljajo spremembe v njihovem vedenju, nepravilnosti pri mrtvih čebelah in odstranjeni zalegi.

Na žalost čebelarjev se pogosto ubadamo z zastrupitvami medonosnih čebel, ki siromašijo genetski sklad obstoječe čebelje populacije in povzročajo tako čebelarjem kot državi veliko gmotno škodo. Še posebej pogoste so zastrupitve v bolj sušnih letih, ko imajo čebele na voljo omejene vire hrane. Ob vsaki zastrupitvi ali izgubi čebel med prezimovanjem se med čebelarji pojavljajo hipoteze o škodljivosti fitofarmaceutskih sredstev (FFS). Poročila, ki sledijo takšnim dogodkom, ne dajo vedno točnega odgovora, kaj se je zgodilo, še redkeje pa podajo vpogled v stanje v čebelji družini. Z našo raziskavo želimo vsaj deloma pojasniti dogajanje v čebelji družini, ko je izpostavljena neki moteči kemični snovi.

K raziskavam zastrupitev čebel me je vzpodbudilo poročanje o mnogih zastrupitvah čebel v času mojega delovanja pri Čebelarski zvezi Slovenije v letih 2004 in 2005. Povod za ta sklop raziskav pa je bila zastrupitev čebel pri g. Mateju Blejcu v Mengšu leta 2004.

### 1.2 DELOVNA HIPOTEZA

V raziskavi preizkušamo več delovnih hipotez:

1. Ugotavljanje letalne doze (LD 50) pri aktivni snovi fosalon: Na podlagi meritev umrlih čebel določimo LD 50 po klasični metodi (z ugotavljanjem heterogenice). Predvidevamo skladnost z dosedaj ugotovljenimi LD 50 (Ambrose in sod., 1992). Ugotavljanje LD 50 je naloga metodološkega značaja.

2. Povečana smrtnost čebel pri uživanju FFS: Primerjamo smrtnost čebel v skupinah, ki za hrano dobivajo sladkorno raztopino, sladkorno raztopino s 5% etanola ter sladkorno raztopino z dodatkom nizke koncentracije fitofarmaceutvskih sredstev. V skupinah, ki dobivajo v hrani tudi dodatke FFS, naj bi se smrtnost povečala.
3. Statistično značilni vplivi FFS na trofalakso: Primerjamo izmenjavo hrane pri čebelah v skupinah, ki za hrano dobivajo sladkorno raztopino, sladkorno raztopino s 5% etanola ter sladkorno raztopino z dodatkom nizke koncentracije fitofarmaceutvskih sredstev. Predvidevamo, da obstaja statistično značilen vpliv FFS na zmanjšanje količine izmenjane hrane.
4. Interakcije med vplivi FFS in čebeljimi boleznimi: Primerjamo izmenjavo hrane pri čebelah v skupinah, ki za hrano dobivajo sladkorno raztopino, sladkorno raztopino s 5% etanola ter sladkorno raztopino z dodatkom nizke koncentracije fitofarmaceutvskih sredstev. Čebele so vzorčene v dveh skupinah panjev. Prva skupina ima ugotovljeno večjo okužbo s pršico varojo (*Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000) s pomočjo štetja naravnega odpada varoj v poletju. Predvidevamo, da so čebele, okužene z boleznimi, bolj občutljive tudi na vplive FFS. Predvidevamo, da obstaja interakcija med FFS in čebeljimi boleznimi.

### 1.3 NAMEN RAZISKAVE

Namen raziskave je preučiti nekatere letalne in subletalne vplive imidakloprida, fosalona in glifosata pri medonosni čebeli (*Apis mellifera* L., 1758).

Posebnost te raziskave je spremljanje obsega trofalakse in uporaba teh opazovanj v smislu biomarkerjev. Z raziskavo želimo utrditi metodo spremljanja obsega izmenjave hrane kot metodo, s katero lahko ugotavljamo vplive različnih kemikalij na procese, ki vzdržujejo trdnost socialne strukture v čebelji družini.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 MEDONOSNA ČEBELA (*APIS MELLIFERA* L., 1758)

#### 2.1.1 Čebelja družina

Čebelja družina je pri medonosni čebeli (*Apis mellifera* L., 1758) biološka celota iz čebel delavk, matice in trotov z močnim socialnim vedenjem, ki je nujno za preživetje vrste (Bokal in sod., 2008). Na višku razvoja naj bi čebeljo družino sestavljalo:

- ena matica – spolno razvita samica, večja od čebel delavk, ki v družini zalega oplojena in neoplojena jajčeca (Bokal in sod., 2008),
- nekaj deset tisoč čebel delavk – spolno nerazvitih samic v družini, ki opravljajo dela v panju, nabirajo medicino, mano, cvetni prah, drevesno smolo, prinašajo vodo, oprahujejo večino žužkocvetnih rastlin (Bokal in sod., 2008) in
- približno 1000 trotov – čebeljih samcev, ki se razvijejo iz neoplojenih čebeljih jajčec in po opravitvi matice v zraku umrejo, preostale pa konec poletja ali na začetku jeseni čebele delavke na silo odstranijo iz panja (Bokal in sod., 2008; Winston, 1987).

Matica je v družini navadno ena, le izjemoma več – ob preleganju, rojenju ali pri uporabi večmatičnega sistema čebelarjenja. Pozimi v čebelji družini najdemo le eno matico. Vloga matice v družini je zaleganje jajčec, zato je matica navadno mati vseh osebkov v panju.

Čebele delavke so samice z nerazvitimi spolnimi žlezami, ki zakrniijo kot posledica drugačne prehrane, ki jo dobijo ličinke delavske zalege v primerjavi z ličinkami matic. Njihova vloga je definirana v prvi vrsti s starostjo osebka in sekundarno z razmerami, ki vladajo v okolju. Naloge čebel delavk si sledijo v naslednjem kronološkem zaporedju: čiščenje celic, pokrivanje zalege, oskrbovanje zalege, spremljanje matice, sprejemanje nektarja, odstranjevanje smeti, tlačenje cvetnega prahu, gradnja satja, zračenje, straža, prvi pašni polet in paša (Božič, 2008).

Troti so moški osebki, ki se v čebelji družini pojavljajo praviloma poleti. Njihova prisotnost pozimi navadno nakazuje na anomalije v stanju čebelje družine (odsotnost ali slaba kakovost matice). Populacija trotov znotraj družine doseže približno 1000 osebkov. Njihova posebnost je tudi partenogenetski razvoj iz neoplojenega jajčeca. V primeru brezmatičnosti lahko trotovska jajčeca ležejo tudi čebele delavke. Vloga trotov v čebelji družini ni dokončno opredeljena. Zagotovo lahko trdimo, da troti oprahujejo nesprašene matice.

## 2.1.2 Sistematika

Medonosno čebelo (*Apis mellifera* L., 1758) uvrščamo med žuželke (Insecta) (Winston, 1987).

Preglednica 1: Taksonomska uvrstitev medonosne čebele (*Apis mellifera* L., 1758)  
Table 1: Taxonomy of the honeybee

Taksonomska enota	Uvrstitev (latinsko)
Kraljestvo:	Animalia
Deblo:	Arthropoda
Razred:	Insecta
Red:	Hymenoptera
Podred:	Apocrita
Nadružina:	Apoidea
Družina:	Apidae
Poddružina:	Apinae
Pleme:	Apini
Rod:	<i>Apis</i>
Vrsta:	<i>A. mellifera</i>

## 2.1.3 Kranjska sivka (*Apis mellifera carnica* Poll., 1879)

Kranjska sivka (*Apis mellifera carnica* Poll., 1879) je geografska rasa medonosne čebele (*Apis mellifera* L., 1758), ki se je razvila po zadnji ledeni dobi na širšem območju, ki obsega ozemlja držav Avstrije, Madžarske, Hrvaške, Bosne in Hercegovine, Srbije in Slovenije. Slovenija se pogosto omenja kot središče tega območja, kjer so se izoblikovali najboljše različice te geografske rase. Primerjave širših populacij kranjske sivke z različnih območij so pokazale, da imamo v Sloveniji trenutno eno najbolj homogenih populacij z lastnostmi, ustreznimi kranjski sivki (Rejski ..., 2005).

To populacijo je Republika Slovenija zaščitila pred vdorom tujih genov. Tako je že v Sklepni listini pogodbe o pristopu k Evropski uniji 2003 z Izjavo Republike Slovenije o slovenski avtohtoni čebeli *Apis mellifera carnica* (kranjska čebela) v 42. členu opredelila, da namerava še naprej uporabljati vse ustrezne ukrepe, ki so potrebni za zagotovitev ohranitve avtohtone rase *Apis mellifera carnica* Poll., 1879 na ozemlju Republike Slovenije (Rejski ..., 2005; Celex Test, 2003). Osnova teh ukrepov je Zakon o živinoreji (2002), ki v 8. alineji 2. odstavka 68. člena opredeljuje kranjsko čebelo kot avtohtono pasmo. V 1. odstavku 70. člena tega zakona se nahaja določilo, da sta na ozemlju Republike Slovenije prepovedani reja in promet s plemenskim materialom drugih pasem čebel. Na osnovi tega določila je bila sprejeta zootehniška zakonodaja, ki kranjsko sivko označuje kot pasmo domačih živali. Z Zakonom o živinoreji (2002) in podzakonskimi akti so določena pravila reje kranjske sivke na območju Republike Slovenije. Kot posledica te zakonodaje izhaja dejstvo, da na območju RS ni dovoljeno posedovati oziroma rediti druge pasme oziroma geografske rase medonosne čebele.



Izvedbena pravila te zakonodaje so zbrana v Rejskem programu za kranjsko čebelo (Rejski ..., 2005). Rejski cilj za kranjsko sivko je: živalna, neagresivna, nerojiva čebela, ki prinese veliko medu. Poleg teh primarnih ciljev ima rejski program še nekaj dolgoročnejših ciljev oziroma ciljev, ki bodo uresničeni v prihodnosti, ko bo metoda spremljanja lastnosti v progenem testu vključevala opazovanje čistilnega vedenja in dopolnjen izračun selekcijskih indeksov (Rejski ..., 2005).

## 2.2 KOMUNIKACIJA MED ČEBELAMI *APIS MELLIFERA* L., 1758

Sporazumevanje pri medonosni čebeli poteka na dva glavna načina: z mehanskimi dražljaji in kemično. Kemična komunikacija pri medonosni čebeli temelji na zaznavanju prisotnosti matice, feromonu zalege in Nasonovem feromonu (Božič, 2001a, 2008). K mehanskemu sporazumevanju sodijo otipavanje in izmenjava hrane, zibajoči ples, stresanje, medsebojno obiranje in petje matic (Božič, 2001b). Temelj medsebojnega sporazumevanja čebel je otipavanje, ki lahko poteka zgolj po telesu, če pa so čebele motivirane za izmenjavo hrane, se to otipavanje nadaljuje z bljuvanjem hrane pri eni čebeli in sesanjem pri drugi.

### 2.2.1 Izmenjava hrane – trofalaksa

Socialne žuželke lahko dobijo hrano na več različnih načinov. V naravi zaužito hrano lahko takoj porabijo za prebavo, lahko jo prinesejo v gnezdo in jo tam shranijo in pojedjo pozneje ali pa jo med trofalakso v nespremenjeni ali predelani obliki razdelijo drugim čebelam (Crailsheim, 1992).

Izmenjava hrane oziroma trofalaksa se običajno odvija med delavkami v čebelji družini, pogosta pa je tudi med delavkami in troti ter delavkami in matico. Trofalaksa je izmenjava hrane »usta na usta« med posamezniki iste ali različne skupine pri socialnih žuželah iste družine (Farina in Núñez, 1991).

Trofalaksa je močno povezana s starostjo čebel delavk. Največ hrane izmenjata dve starostni skupini čebel: pravkar izležene čebele vključno do starosti približno 3 dni ter čebele, stare od 8 do 21 dni. Po tej starosti čebele ne izmenjujejo več toliko hrane. Tudi vsaka izmenjava ni enako intenzivna. Količina izmenjane hrane je lahko razmeroma majhna. Izmenjava hrane traja večinoma 1-5 sekund, občasno 6-10 sekund, le redko pa 20 sekund ali več. Čebele hrano bodisi ponujajo bodisi prosijo zanjo. Izredno pomembno je, da sta čebeli med izmenjavo ves čas v stiku s tipalkami (Ambrose in sod., 1992; Božič, 1992).

Ugotovljeno je, da etanol v 1 % koncentraciji vpliva spodbujevalno na izmenjavo hrane, medtem ko v 5 % koncentraciji zavira izmenjavo hrane (Kandolf, 2003).

### 2.2.2 Potek trofalakse

Posamična izmenjava poteka tako, da čebela dajalka na široko odpre mandibule, tipalke pa drži blizu glave obrnjene navzdol. Ob tem se večje število čebel sprejemnic začne dotikati njenega prementuma; pri tem začne donorska čebela deliti nabrani nektar. Ob tem sprejemnice premikajo svoje antene prosti donorski čebeli. Na ta način pride do okušalnega in vohalnega draženja (Ambrose in sod., 1992).

Izmenjavo hrane spremlja tudi izmenjava informacij. Zaradi različnih količin nektarja in različnih prostih skladiščnih količin v medenih golšah sprejemnic donorska čebela odda nektar večim sprejemnicam. Predaja nektarja večim sprejemnicam naj bi bila del strategije novačenja novih pašnih čebel. V vmesnem času med izmenjavami donorska čebela oceni delovno sposobnost ostalih čebel delavk v panju. Ta ocena je potrebna, ker procesi v čebelji družini niso vodeni centralno, pač pa vsaka posamezna čebela delavka ocenjuje potrebe čebelje družine in se jim prilagaja (Ambrose in sod., 1992).

Pašna čebela se v panju srečuje z drugimi čebelami (Frisch, 1965). Ko se vrne v panj z uspešnega pašnega poleta, medičino v golši poda drugim čebelam (Winston, 1987). Kadar informacije o kvaliteti hrane ne izrazi s plesom, je verjetno informacija o kvaliteti hrane kodirana v nekaterih značilnostih trofalakse (Farina in Núñez, 1993).

### 2.2.3 Vpliv različnih dejavnikov na obseg izmenjave hrane

Med dejavnike, ki vplivajo na obseg izmenjave hrane, prištevamo donosnost pašnega vira (Farina in Núñez, 1993), način nabiranja hrane (Farina in Núñez, 1993), čas dneva (Farina in Núñez, 1991, 1993), sorodstvena razmerja (Babnik in sod., 1998) ter starost čebel (Crailsheim, 1990).

Zanimiv pojav, povezan s trofalakso, je opazil raziskovalec Zachary Huang. Po dolgoletnem raziskovalnem delu je odkril, da čebele preko trofalakse posredno vplivajo tudi na regulacijo staranja v družini. V raziskavi (Leoncini in sod., 2004) so ugotovili, da čebele nabiralke med trofalakso, s katero oddajo nabrani nektar panjskim čebelam, le-tem hkrati predajo tudi etil oleat. Ta v čebelji družini deluje kot zaviralec staranja pred začetkom odhodov na pašo. Dodatno podrobnost predstavlja tudi dejstvo, da se v čebelah nabiralkah na novo sintetizira etil oleat. Odsotnost vnosa etil oleata lahko povzroči hitro staranje nekaterih mlajših čebel in spremembo njihove vloge v čebelji družini.

### 2.2.4 Spremljanje odzivov čebel na kemikalije s pomočjo vedenjskih metod

Za spremljanje vedenja čebel, ki pridejo v stik z neko tujo, potencialno nevarno kemikalijo, obstaja več različnih metod. Kandolf (2003) je preučeval vpliv etanola na trofalakso pri medonosni čebeli *Apis mellifera carnica* Poll., 1879 s pomočjo opazovanj čebel,

nameščenih na nosilce, opazovanj izmenjave hrane na umetnem krmišču med prosto gibajočima čebelama in opazovanj izmenjave hrane med skupinami čebel.

Pham – Delegue in sod. (2002) so predlagali 4 vedenjske metode za ugotavljanje pesticidnih učinkov na medonosno čebelo *Apis mellifera* L., 1758: uporabo avtomatskih števecv čebel na vhodu v panj za ugotavljanje ravnovesja med izletelimi in prispelimi čebelami, opazovanje vračanja v panj, analizo informacij, kodiranih v plesu pašnih čebel po vrnitvi v panj ter ugotavljanje individualnih učnih sposobnosti, vključenih v pašno vedenje ujetih čebel s snemanjem pogojenega iztezanja jezička. Te metode so opredelili kot zelo pomembne v razumevanju vplivov insekticidne toksičnosti. Pred uporabo v rutinskih analizah priporočajo še nadaljnje ocene teh metod.

Ramirez-Romero in sod. (2005) so v primerjalni študiji preučevali vplive proteina Cry1Ab, deltametrina in imidakloprida. Ugotavljali so letalne in subletalne vplive. Slednje so beležili kot spremembe v uživanju sladkornega sirupa ter učnih in pašnih sposobnostih. Ugotovili so, da sintetična insekticida deltametrin in imidaklopid za medonosno čebelo predstavljata večje tveganje kot transgena Cry1Ab iz Bt koruze.

### 2.3 VAROZA ČEBEL (VAROOSIS)

Varoza čebel je bolezen, ki jo povzroča zajedalec varoja (*Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000). Parazit je bil znan kot naravni parazit azijske čebele (*Apis cerana* Fabr.). Odrasla zajedavska pršica (samica) meri 1-1,7 x 1,5-1,6 mm. Telo je dorzoventralno sploščeno, pokrito s čvrstim konveksnim, hitinoznim prekrivalom. Po vsem telesu ima hitinske dlačice, ki omogočajo oprijem na čebelji organizem. Na spodnji strani ima 4 pare nog, prvi par služi tipu, ostali trije pa premikanju. Z ustnim aparatom samica prebode opno čebeljega telesa in sesa hemolimfo. Kot posledica sesanja sledi uničevanje gostiteljevega tkiva in telesnih tekočin, nenormalna rast, prisotnost toksinov in mehanskih poškodb. Spomladi in poleti živi 2-3 mesece, jeseni in pozimi pa 6-8 mesecev. Samci so manjši, okroglega telesa s slabotnejšim hitinom. So belosive barve in merijo 0,8-0,97 x 0,7-0,93 mm. Samec ne more sesati hemolimfe, prisotni so le v pokriti zalegi, kjer po parjenju poginejo (Gregorc, 2008).

Varoja se lahko razmnožuje samo v čebelji družini, saj sta njeno razmnoževanje in razvojni krog vezana na razvoj čebele v celici sata. Obstaja velika in značilna razlika med tem, koliko se varoje uspejo razmnožiti v čebelji in koliko v trotovske celici. Meglič in Avguštin (2007) navajata, da znaša ta faktor za čebeljo zalego 1-1,5 in 3-4 za trotovske zalego. Tudi na splošno je napadenost trotovske zalege večja od napadenosti čebelje zalege, zato je trotoovina kot vir novih pršic bistveno nevarnejša kot čebelja zalega.

Pršica se pritrdi na telo čebele in prebode eksoskelet na bolj skritem, hkrati pa gibljivem mestu. Mesto vboda je odvisno od priložnosti, obenem pa tudi starosti posameznega parazita. Mlajše samice, ki prvič pridejo iz celice, se ponavadi prisesajo na pleurit ali sternit čebele, starejše samice pa glede mesta niso več tako občutljive. Tam sesajo

hemolimfo in na ta način slabijo čebelo. Dodatno nevarnost predstavljajo virusi, ki jih prenaša z ene čebele na drugo pri vbodu. Sesanje hemolimfe prizadene tako odrasle čebele kot ličinke in bube znotraj celice. Čebela, na katero je bilo že v celici pritrjenih več varoj, je praviloma breme za čebeljo družino, saj lahko večkrat opazimo morfološko iznakažene čebele, ki niso sposobne panjskih opravil in nabiranja. Ta iznakaženost je lahko posledica delovanja enega izmed 18 virusov. Najpogosteje razširjena deformacija, pogojena z virusnim nastankom, so iznakažena krila ali zadek (Gregorc, 2008), ki jih povzroča virus iznakaženih kril (angleško DWV – deformed wing virus) (Meglič in Auguštin, 2007).

Virusi in varoza (*Varroosis*) čebel so lahko tudi v interakciji, zaradi katere pojav ene bolezni stopnjuje izražanje druge. V izjavah o zastrupitvah čebel v letu 2004 so bile večkrat navedene tudi interakcije in sinergije varoze in zastrupitev čebel s FFS. Pomembna je interakcija varoze čebel in ostalih čebeljih bolezni, predvsem virusov in nose mavosti čebel. Učinki oziroma posledice bolezni škodljivcev se seštevajo ali pa pride celo do interakcije, ki dodatno prizadene čebeljo družino. Ob padcu večjega števila čebel lahko prenehajo oziroma oslabijo korekcijski mehanizmi, ki preprečujejo izbruhe bolezni – odpiranje in čiščenje celic z okuženimi ličinkami, krmljenje zalege, ...

Okužba z varojami ima lahko vpliv na trajanje posameznega pašnega izleta kot tudi na vračanje čebel nazaj v panj (Kralj in Fuchs, 2006). Izlet na pašo zmanjša število varoj na čebeli. Poleg tega so pri čebelah z močnejšo okužbo z varojami opazili, da pogosteje pride do izgubljanja le-teh na paši, takšne čebele pa so pokazale tudi slabše rezultate pri testih orientacije. S pomočjo teh mehanizmov se v čebelji družini lahko zmanjšuje nivo okužbe z varojami.

## 2.4 ZASTRUPITVE ČEBEL

Zastrupitev čebeljih družin je dogodek, pri katerem so čebele iz ene ali več čebeljih družin izpostavljene neki snovi, ki s svojim delovanjem motijo delovanje mehanizmov, ki vzdržujejo celovitost čebelje družine, ali pa povzročajo smrt določenega dela ali celotne čebelje družine. Tega praviloma ne želi nihče, ne čebelar, ne uporabnik FFS, ne proizvajalec FFS, ne zavarovalnice, ne javne institucije, ki so povezane s čebelarstvom. Med vzroki zastrupitev se pogosto izpostavljajo FFS in na drugih celinah tudi gensko spremenjene rastline, čeprav kmetijstvo ni edini vir kemikalij, ki povzročajo zastrupitve. Med FFS so še posebej problematični insekticidi, v zadnjih nekaj letih pa so kritikam in raziskavam zelo podvrženi insekticidi iz skupin neonikotinoidov in piretroidov. Med pogosto obravnavane aktivne snovi spada imidakloprid, čeprav zastrupitve povzroča več različnih aktivnih snovi.

## 2.4.1 Imidaklopid

Imidaklopid je aktivna snov v pripravkih, ki se uporabljajo proti sesajočim in grizočim organizmom. Odvisno od formulacije vsebujejo pripravki različne koncentracije imidakloprida. V poskusu smo uporabljali pripravek Confidor® SL 200, ki vsebuje 200g/l imidakloprida.

Confidor® SL 200 se sme uporabljati za naslednje namene (Seznam FFS, 2009):

a) v hmeljiščih za zatiranje hmeljeve uši (*Phorodon humuli*) v odmerku:

0,4-0,6 l/ha oziroma v 0,02 % koncentraciji (2 mL na 10 L vode) za škropljenje oziroma pršenje; mazanje hmeljnih trt z 10 % raztopino (0,6 L na 6 L vode), 6 litrov raztopine zadostuje za 4000 vodil. Z mazanjem se doseže polni učinek na vršičkih trte šele po 2-3 tednih, zato je treba mazati vsaj dva tedna pred prvim škropljenjem (od začetka do sredine junija). Tretira se na začetku napada, ko na hmeljevem listu opazimo 20-30 uši. Sredstvo ob pravilni uporabi ni fitotoksično za hmelj.

b) v krompirju za zatiranje: koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata*) in listnih uši (Aphididae) v odmerku 0,25-0,50 L/ha (2,5-5 mL na 100 m<sup>2</sup>); strun (Elateridae), ogrcev majskega hrošča (*Melolontha melolontha*), koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata*) in listnih uši (Aphididae) v odmerku 60 mL sredstva + 300 mL vode na 100 kg semenskih gomoljev (6 mL sredstva + 30 mL vode na 10 kg semenskih gomoljev); strun (Elateridae), ogrcev majskega hrošča (*Melolontha melolontha*), koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata*) in listnih uši (Aphididae) v odmerku 1,5 L/ha (15 mL na 100 m<sup>2</sup>) s tretiranjem v brazde, neposredno pred sajenjem krompirja, ob porabi vode 300 L/ha.

c) v sadjarstvu za zatiranje: listnih uši (Aphididae) v 0,025 % koncentraciji (2,5 mL na 10 L vode); sadnega listnega duplinarja (*Leucoptera scitella*) in sadnega listnega zavrtača (*Lyonetia clercella*) v 0,0375-0,05 % koncentraciji (3,75-5 mL na 10 L vode); hruševe bolšice (*Psylla* spp.) v 0,05-0,125 % koncentraciji (5-12,5 mL na 10 L vode); krvave uši (*Eriosoma lanigerum*) v 0,05-0,1 % koncentraciji (5-10 mL na 10 L vode);

d) na vrtninah za zatiranje: listnih uši (Aphididae) in rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum*) na paradižniku, feferonih, papriki, melonah, kumarah, jajčevcih, na prostem in v rastlinjakih, v 0,05-0,125 % koncentraciji (5-12,5 mL na 10 L vode); mokaste kapusove uši (*Brevicoryne brassicae*), kapusove hrčice (*Contarinia nasturtii*), kapusove muhe (*Delia radicum*) in kapusove sovke (*Mamestra brassicae*) s tretiranjem sadik zelja pred presajanjem z namakanjem v insekticidni raztopini v 0,1 % koncentraciji (10 mL na 10 L vode) do 15 minut; čebulne muhe (*Hylemya antiqua*) z namakanjem čebulčka pred saditvijo v 0,3 % insekticidno raztopino (30 mL na 10 L vode);

e) na okrasnih rastlinah za zatiranje listnih uši (Aphididae) in rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum*) v 0,05-0,125 % koncentraciji (5-12,5 mL na 10 L vode) na prostem in v rastlinjakih.

Imidaklopid je aktivna snov iz družine neonikotinoidov. Uporablja se v sistemskih insekticidih za nanašanje s pršenjem in za zaščito semena. Zaradi dobre mobilnosti po ksilemu (Malovrh, 2004) je zelo učinkovit. Isti dokument navaja tudi slabšo floemsko prevodnost.

Za medonosne čebele je imidaklopid nevaren predvsem v nektarju in cvetnem prahu. Za imidaklopid v rastlini, ki izvira iz tretiranega semena, je značilno, da bombaž, jajčevci, krompir in riž absorbirajo od 1,6 do 4,9 % imidakloprida apliciranega na seme, koruza pa 20 %. V cvetni prah in nektar se transportira razmeroma majhen del absorbiranega imidakloprida, v cvetni prah bombaža, jajčevcev, krompirja in riža se transportira 1,2 % imidakloprida, v cvetni prah koruze pa se transportira 1,2 % imidakloprida in njegovih metabolitov (Malovrh, 2004).

Ko govorimo o koncentraciji imidakloprida v cvetnem prahu, moramo ločiti koncentracije v cvetnem prahu v panju oziroma satju od koncentracije v cvetnem prahu rastlin, katerih seme je bilo tretirano z imidaklopidom. Pri vrednotenju vsebnosti raznih snovi v cvetnem prahu je potrebno biti zelo previden in uporabljati cvetni prah izkopanec ali pa prah neposredno s koškov.

Poznani so različni, predvsem letalni vplivi imidakloprida na čebele. Poleg očitnega insekticidnega učinka pri večjih koncentracijah, so zabeleženi tudi primeri zmanjšane pašne aktivnosti za približno 20 % zaradi uživanja imidakloprida, po koncu tretiranja pa je aktivnost porasla za približno 24 % (Ramirez-Romero in sod., 2005).

V Bayerjevih poročilih (Schmuck, 1999) se globalno navaja, da ne obstaja vzročno-posledična zveza med oblogo iz Gaucha in pojavom izginjanja čebel v Franciji. Znotraj poročila pa je navedenih več primerov posameznih pojavov, iz katerih je razvidno, da letalni in subletalni učinki imidakloprida včasih kažejo odstopanja od kontrole, včasih pa ne. Isti avtor navaja, da je oralna LD 50 imidakloprida za medonosno čebelo 3,7-20,6 ng na posamezen osebek oziroma 37 – 206 µg na kg mase čebel. Avtor opisuje in kritično presoja lastne in tuje raziskave o učinkih imidakloprida na sposobnost učenja pri medonosni čebeli, orientacije in pašne aktivnosti ter ostankih imidakloprida in njegovih metabolitov v sončnicah, ki so zrastle iz semena, prevlečenega z imidaklopidom. V drugem delu se posveti ostalim možnim vzrokom podobnih simptomov, kot so bili ugotovljeni v Franciji. Avtor obsežno študijo konča z ugotovitvijo, da ni možno dokazati neposredne vzročno posledične povezave med semenom, obdanim z imidaklopidom in izginjanjem čebel v Franciji.

## 2.4.2 Glifosat

Glifosat je aktivna snov v številnih neselektivnih herbicidih. V obliki izpopropilamino soli se pojavlja v herbicidih Boom efekt, Dominator ultra 360 SL, Roundup in Roundup ultra, v obliki amonijeve soli v herbicidu Touchdown system 4 ter v obliki kalijeve soli v herbicidu Roundup energy (Seznam FFS, 2009).

V raziskavi smo uporabili glifosat v pripravku Glyphogan 480 SL, ki vsebuje 480 g/L glifosata v obliki izpopropilamino soli (Glyphogan ..., 2004). Za razumevanje določanja koncentracij, uporabljenih v raziskavi, navajamo načine uporabe tega pripravka kot neselektivnega herbicida za zatiranje enoletnega in večletnega plevela:

a) Na strniščih, v vinogradih in sadovnjakih (jablane, hruške, breskve, slive, višnje in maline), kanalih (suhih in občasno poplavljenih), močvirjih (ki jih izsušujejo) in na nekmetijskih površinah za zatiranje: enoletnega plevela v odmerku 2-4 L/ha (20-40 mL/100 m<sup>2</sup>); večletnega plevela, in sicer odvisno od vrste v odmerku: 8-10 L/ha (80-100 mL/100 m<sup>2</sup>) za zatiranje prstastega pesjaka (*Cynodon dactylon*), ko doseže višino 15-20 cm, oziroma dvakrat 3-4 L/ha pri deljeni (split) aplikaciji; 5-7 L/ha (50-70 mL/100 m<sup>2</sup>) za zatiranje ostric (*Cyperus* spp.) v času cvetenja, oziroma 2-krat 3 L/ha (2 krat 30 mL/100 m<sup>2</sup>) pri deljeni (split) aplikaciji; 5-7 L/ha (50-70 mL/100 m<sup>2</sup>) za zatiranje njivskega slaka (*Convolvulus arvensis*) med cvetenjem; 6-7 L/ha (60-70 mL/100 m<sup>2</sup>) za zatiranje robid (*Rubus* spp.) v septembru in oktobru; 3,5-5 L/ha (35-50 mL/100 m<sup>2</sup>) za zatiranje divjega sirka (*Sorghum halepense*) v fazi metličanja, njivskega osata (*Cirsium arvense*), kodrolistne kislice (*Rumex crispus*), topolistne kislice (*Rumex obtusifolius*) in navadnega pelina (*Artemisia vulgaris*), ko pleveli dosežejo višino 30-40 cm, navadnega regrata (*Taraxacum officinale*) in navadne regačice (*Aegopodium podagraria*) med cvetenjem; 2,5-3,5 L/ha (25-35 mL/100 m<sup>2</sup>) za zatiranje plazeče pirnice (*Elymus/Agropyron repens*), ko doseže višino 25-30 cm. Navedene odmerke sredstva se uporablja ob porabi vode 100-300 L/ha (1-3 L/100 m<sup>2</sup>), večje količine vode se uporabljajo v neugodnih razmerah za razvoj plevela in pri škropljenju večjih plevelnih rastlin.

b) Pri obnovi travnikov in pašnikov za škropljenje posameznih rastlin, plevelnih gnezd (npr. ščavje, koprive, čmerika) ali celih površin. Tretira se med intenzivno rastjo plevela in travne ruše v odmerkih: 2,5-4 L/ha (25-40 mL/100 m<sup>2</sup>) za enoletni plevel; 5-8 L/ha (50-80 mL/100 m<sup>2</sup>) za večletni plevel;

c) V gozdnih nasadih in sicer v gozdnih drevesnicah smreke in rdečega bora za zatiranje ozkolistnega in širokolistnega plevela: v času mirovanja sadik v 1 % koncentraciji ob porabi vode največ 400 L/ha (40 mL na 4 L vode na 100 m<sup>2</sup>), s tem da se tretira celo površino; med aktivno rastjo sadik v 2 % koncentraciji oziroma 8 L/ha s porabo vode 400 L/ha (80 mL na 4 litre vode na 100 m<sup>2</sup>), s tem, da se tretira med vrstami in obvezno uporablja ščitnike; v mladih nasadih iglavcev (od sajenja do pet let) za zatiranje olesenelih plevelnih listavcev v 2 % koncentraciji oziroma 6-8 L/ha ob porabi vode 300-400 L/ha (100 mL na 5 litrov vode na 100 m<sup>2</sup>), s tem da se med vrstami obvezno uporabi ščitnik; za

zatiranje koreninskih izrastkov in poganjkov iz panjev listavcev (hrast, gaber in bukev) v 15 % koncentraciji (1,5 L na 10 litrov vode) s premazovanjem takoj po sečnji dreves, od maja do decembra; za pripravo zemljišč po goloseku gozdov: škropi se koreninske izrastke in drugo vegetacijo v času intenzivne rasti z 1,5-2 % koncentracijo (150-200 mL na 10 L vode) pri porabi škropilne brozge 300-400 L/ha; škropi se panje dreves takoj po sečnji dreves do oktobra z 2 % koncentracijo (200 mL na 10 L vode) pri porabi škropilne brozge 300-400 L/ha (Glyphogan 480 SL, 2004).

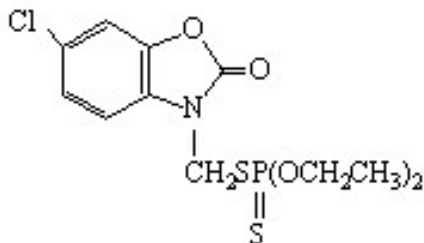
Pripravek ni označen kot škodljiv za čebele. V mnenju (Data evaluation record), ki ga je podala EPA (Vaughn, 1985), je bilo ugotovljeno, da sta 48-urni kontaktna in oralna LD50 doza večji od 100 µg na čebelo, in s tem za čebele praktično neškodljivi. Iz teh razlogov ob uporabi, uporabniki FFS niso dolžni obveščati okoliških čebelarjev.

Nenavadna situacija se je zgodila agusta 2004 (Hribar, 2004), ko je Kmetijski poskusni center Jablje škropil žitno strnišče s kombinacijo Herbocida, Roundup ultra in Dikocida. Zaradi vetra je škropivo zaneslo na sosednje cvetoče polje ajde. Posledično je odmrlo približno 130 čebeljih družin. Zaradi te kombinacije aktivnih snovi smo se odločili v poskuse letalnih in subletalnih učinkov vključiti tudi aktivno snov glifosat.



### 2.4.3 Fosalon

Fosalon je aktivna snov v nekaj insekticidih. Kemijsko je fosalon S-(6-kloro-2,3-dihidro-2-okso-1,3-benzoksazol-3-ilmetil)-O,O-dietilditiofosfat.



Slika 1: Strukturna formula aktivne snovi fosalon (Fito Info, 2007)  
Figure 1: Structural formula of phosalone (Fito Info, 2007)

Fizikalno-kemijske lastnosti fosalona:

- Agregatno stanje: kristalinično;
- Barva: brezbarvna oz. bela;
- Vonj: po česnu;
- Tališče: 45-48°C;
- Parni tlak: 0,01 hPa pri 25°C;
- Topnost (v g/100g pri 20°C); npr. voda: cca. 0,0002, benzen: cca. 100, etanol: cca. 20, metanol: cca. 20, toluen: cca. 100.

Obnašanje v organizmih sesalcev: pri podganah in miših se fosalon po enkratnem prekrmljenju 20 mg/kg zelo hitro izloči, 50 % po 4 do 6 urah in 99,9 % v 24 urah.

Preglednica 2: Toksikološki podatki aktivne snovi fosalon (Fito Info, 2007)  
Table 2: Toxicology data of phosalone (Fito Info, 2007)

	Podgana	Kunec	Morski prašiček	Miš
LD 50 oralno (mg/kg)	120-175		150	93-320
LD 50 dermalno (mg/kg)	390-1500	> 1000		
LC 50 inhalacijsko (mg/l)				
Stik s kožo		ne draži	ne draži	
Stik z očmi		ne draži		
Senzibilizacija kože				

Fosalon je postal v zadnjih nekaj letih sporen zaradi številnih pomislekov o izpostavljenosti ranljivih skupin potrošnikov, potrebe po nadaljnji karakterizaciji nekaterih metabolitov in primesi fosalona ter nevarnosti, ki jo je fosalon predstavljal za ptice, sesalce, vodne organizme, čebele in neciljne členonožce. Zaradi tega je Evropska komisija sprejela odločbo (2006/1010/ES) o preklicu registracije, s katero se fosalona ni vključilo kot aktivne snovi v Prilogo 1 k Direktivi 91/414/EGS (Direktiva Sveta z dne 15. julija 1991 o dajanju fitofarmaceutskih sredstev v promet, 1991).

Preglednica 3: Toksikološki podatki pripravka Zolone Liquide (Fito Info, 2007)  
Table 3: Toxicological data of Zolone Liquide (Fito Info, 2007)

	Podgana	Kunec	Morski prašiček	Miš
LD 50 oralno (mg/kg)	210-530			125-200
LD 50 dermalno (mg/kg)	2100 > 5170			
LC 50 inhalacijsko (mg/l)				
Stik s kožo				
Stik z očmi				
Senzibilizacija kože				

Pri poskusih na živalih je fosalon pokazal odzive v povečani okornosti mišic in izločanju sline, pri ljudeh pa pride lahko do padca vrednosti holinesteraze, kar povzroči miozo, slabost, bruhanje, drisko, bronhialno hipersekrecijo in dispneo (Fito Info, 2007).

Thompson (2001) navaja, da je pri fosalonu za čebele kontaktna LD 50 8,9 µg na čebelo oziroma 89 µg na g čebel. Ista avtorica navaja naslednje subletalne učinke insekticidov: zmanjšano čistilno vedenje, motnje pri vračanju v panj in skrajšano življenjsko dobo.

### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 LOKACIJA IN ČAS POSKUSA

Poskus smo izvedli Ljubljani, v Biološkem središču, Večna pot 101. Poskus je bil izveden v dveh časovnih sklopih, prvi od septembra do novembra leta 2004, drugi pa junija leta 2005.

Na podlagi števila odpadlih varoj (*Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000) oziroma naravnega odpada smo čebelje družine ločili v dve skupini. Skupina z oznako N je imela majhno okužbo z varozo, skupina z oznako V pa močno. Na izbiro v posamezno skupino je vplival tudi posamični odpad. Za poskus smo izbrali reprezentativne družine, ki so kazale sposobnost, da bodo preživele do konca poskusa.

Pri drugem delu poskusa, ki je potekal spomladi in poleti leta 2005, so bile čebelje družine glede na varozo čebel izbrane naključno, saj so imele vse izbrane majhno okužbo z varozo.

## 3.2 METODE DELA

### 3.2.1 Inkubator



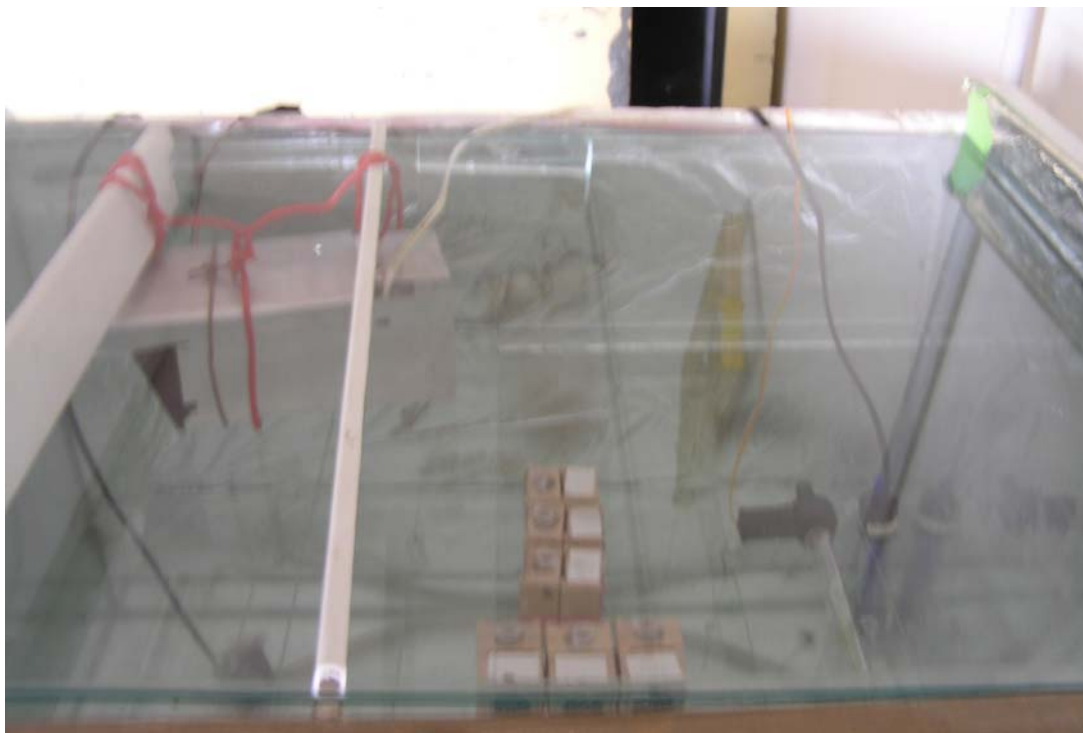
Slika 2: Zunanost inkubatorja

Figure 2: The outside of the incubator

Inkubator je bil zgrajen iz večjega akvarija izoliranega s stiroporom. Prostor v inkubatorju je razdeljen na tri dele:

- Spodnji del je napolnjen s 30 litri vode, v katero sta nameščena potopna črpalka in grelec. Voda služi ohranjanju stalne temperature in zadostne relativne vlažnosti (več kot 60 %). Razmere so bile povzete po inkubatorjih vzrejevalcev čebeljih matic.
- Srednji del ločujejo od spodnjega steklene plošče. To je prostor, namenjen namestitvi matičnic, zato je tu tudi toplotno tipalo. Na zgornjem delu tega prostora so nameščene steklene plošče.
- V zgornjem delu je nameščena grelna žica za ogrevanje zraka in ventilator za mešanje zraka. Inkubator je pokrit s stekleno ploščo in dodatno izoliran s pokrovom iz stiropora.

V inkubatorju smo vzdrževali stalno temperaturo 28 °C.



Slika 3: Notranjost inkubatorja  
Figure 3: The interior of the incubator

### 3.2.2 Izlegalna matičnica

V poskusu smo uporabljali leseno izlegalno matičnico (sl. 4). Zgornjo luknjo, ki se navadno uporablja za vstavljanje matičnika, smo prelepili s tremi plastmi lepilnega traka. V lepilni trak na matičnicah donorske skupine smo naredili okroglo luknjo, premera približno 8 mm, v katero smo vstavili ependorfko. Slednja je imela na spodnjem delu dve luknji, skozi kateri so čebele dostopale do hrane. V ependorfko smo s pomočjo mikropipete vedno dodali 1000  $\mu$ l hrane. Pri dodajanju hrane z mikropipeto smo vedno pazili na menjavanje nastavkov za pipeto, da ni prišlo do kontaminacije raztopin. Slednjo smo preprečevali tudi s shranjevanjem v hladilniku.



Slika 4: Par izlegalnih matičnic (kletk), v katerih smo izvajali poskuse  
Figure 4: A pair of the experimental cages

### 3.2.3 Nabiranje in štetje čebel

Čebele smo nabirali iz različnih, predhodno izbranih panjev. V letu 2004 smo izbrali panje, pri katerih smo predhodno spremljali naravni odpad varoj. Rezultati spremljanja naravnega odpada so predstavljeni v prilogi A.



Slika 5: Spremljanje naravnega odpada varoj s pomočjo mrežne podnice  
Figure 5: Monitoring of the varroa drop by the means of a mash bottom board

Čebele za poskuse so bile vzete iz panjev čebelarstva Biotehniške fakultete in iz čebelarstva Marka Hrastelja. Čebele so bile nabrane pri žrelu panjev v steklene kozarce in zaprte v njih do umiritve (približno 15-20 minut), nato pa se čebele deli po slučajnostnem izboru v matičnice. Imamo dve skupini matičnic: prva (donorska) skupina ima dostop do hrane (sladkorna raztopina (SR), SR z etanolom, SR s FFS), druga (prejemniška) skupina pa dobiva hrano skozi ločilno mrežico od prve skupine, nimajo pa neposrednega dostopa do hrane in so povsem odvisne od izmenjave s čebelami v prvi skupini. V vsako matičnico smo dali osem čebel.





Slika 6: Panji na stojšču čebelarstva Biotehniške fakultete  
Figure 6: Hivestand of the Biotechnical faculty

### 3.2.4 Krmljenje čebel z različnimi raztopinami

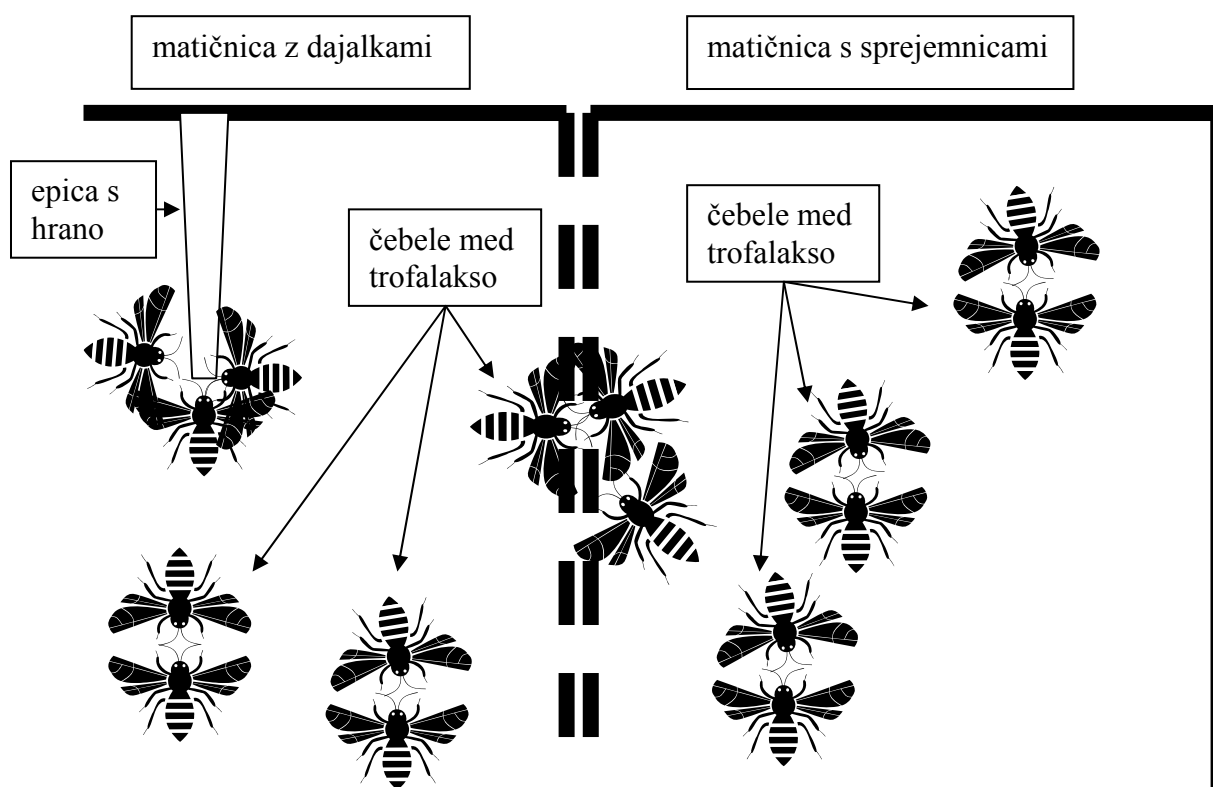
Čebele smo krmili z različnimi raztopinami. V predpostavkah poskusa smo zastavili tezo, da naj bi običajen nivo izmenjave hrane med čebelami predstavljala situacija, ko čebelam damo na voljo 1 M raztopino saharoze. Ta raztopina je bila tudi osnova za izdelavo vseh ostalih raztopin:

- 1 M raztopina saharoze (v nadaljevanju oznaka sladkor),
- 1 M raztopina saharoze z dodatkom 5 % etanola (v nadaljevanju oznaka etanol),
- 1 M raztopina saharoze, ki vsebuje  $2 \times 10^{-8}$  g/L imidakloprida (v nadaljevanju imidakloprid) – na čebelo približno  $2 \times 10^{-13}$  g imidakloprida,
- 1 M raztopina saharoze, ki vsebuje 0,002 % Zolone Liquide (v nadaljevanju fosalon) – na čebelo približno  $7 \times 10^{-8}$  g fosalona,
- 1 M raztopina saharoze, ki vsebuje 1,2 mL Glyphogana 480 SL na 100 mL raztopine (v nadaljevanju glifosat 1) – na čebelo približno  $5,76 \times 10^{-5}$  g glifosata,

- 1 M raztopina saharoze, ki vsebuje 2,4 mL Glyphogana 480 SL na 100 mL raztopine (v nadaljevanju glifosat 2) – na čebelo približno  $1,152 \times 10^{-4}$  g glifosata in
- 1 M raztopina saharoze, ki vsebuje 3,6 mL Glyphogana 480 SL na 100 mL raztopine (v nadaljevanju glifosat 3) – na čebelo približno  $1,728 \times 10^{-4}$  g glifosata.

### 3.2.5 Potek izmenjave hrane v paru matičnic

Spremljanje letalnih vplivov smo omejili na samo spremljanje števila mrtvih čebel v posameznih matičnicah. S statističnimi analizami smo skušali pokazati povezave med številom mrtvih v skupini dajalk in prejemnic. Podobna povezave smo iskali tudi pri proučevanju subletalnih vplivov, ker smo hoteli pokazati tok informacij o prisotnosti FFS v hrani kot spremenjeno količino prenosa hrane iz ene matičnice v drugo.



Slika 7: Prikaz situacije v paru matičnic  
Figure 7: Situation in the pair of cages



Slika 8: Pot hrane v matičnicah  
Figure 8: The route of feed in the experimental cages

### 3.2.6 Tehtanje matičnic

Tehtanje matičnic smo izvedli v prostoru za tehtanje v Biološkem središču na tehtnici EB 300m (Tehtnica Železniki). Pri vsaki meritvi je bila zapisana odčitana teža do miligrama natančno.

Med tehtanjem smo opazovali vplive premikanja čebel v matičnici na izid tehtanja. Premikanje čebel v matičnici ni povzročalo sprememb rezultata tehtanja.

Pred vsakim štetjem čebel smo stehali prazne matičnice oziroma prazne matičnice ter matičnice z dodano hrano. Pred tehtanjem čebel v matičnici smo preverili, ali so bile vse čebele žive in zdrave, saj že sama stresna situacija povzroči nekaj poginov. Nato smo čebele v matičnici stehali, združili ustrezne pare matičnic (iz donorske in prejemniške skupine), odstranili ločilna stekelca in jih dali v inkubator. Te meritve so osnova za izračun količine izmenjane hrane (intenzivnost trofalakse).

Po 24 urah smo matičnice vzeli iz inkubatorja, vrnili na njih po številkah ustrezna stekelca in jih stehali. Nato smo spustili čebele na prosto in matičnice še enkrat stehali.

## 3.3 STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV

### 3.3.1 Probit analiza

S probit analizo preučujemo vplive stimulansov oziroma poživil in strupov na živa bitja (Kotar, 1977). Reakcija organizma je živ ali mrtev. Ostalih (subletalnih) reakcij v tem primeru ne spremljamo, temu služijo drugi testi. Smrt povzroči koncentracija strupa, ki je za vsak organizem specifična. Mejno koncentracijo izpod tega nivoja imenujemo toleranca. Toleranca je slučajnostna spremenljivka, ki splošno gledano nima normalne porazdelitve, vendar z logaritemsko transformacijo porazdelitev preide v normalno. Te transformirane podatke, ki jih analiziramo pri probit analizi, imenujemo dosismetameter.

Če je dosismetameter normalno porazdeljen, je normalno porazdeljena tudi standardizirana spremenljivka

$$Z = (x - \mu) / \sigma \quad \dots (1)$$

Če kumulativno frekvenc nanašamo nad spremenljivko »z«, dobimo sigmoidno krivuljo.

Če transformiramo ordinatno skalo s pomočjo normalnega fraktila (normal equivalent deviation), se ta sigmoidna krivulja preoblikuje v premico. Če operiramo z nenegativnimi števili, tem vrednostim navadno prištejemo 5 ali drugo ustrezno pozitivno celo število.

Vrednosti probit naneseemo nad dosimetetre in jih izravnamo z linearno regresijo. Strmina regresijske premice podaja občutljivost vrste na določeno aktivno snov. Večja strmina pomeni veliko občutljivost vrste na določeno snov.

Pri 50 % smrtnosti je vrednost probit 5. Če to vrednost prevedemo nazaj, najdemo koncentracijo, ki jo označujemo z LD 50.

Za potrebe nadaljnjega postopka moramo opazovanja še dodatno tehtati, ustrezno na njihovo oddaljenost na LD 50. Pri LD 50 je varianca minimalna, če pa % mrtvih osebkov narašča proti 100 % oziroma pada proti 0 %, pa varianca konvergira proti neskončnosti.

Ponderje – uteži računamo po formuli:

$$w_i = \frac{z_i^2}{p_i \cdot q_i} \quad \dots (2)$$

kjer je  $z_i$  ordinata normalne porazdelitve za  $p = p_i$ ,  $p_i$  je verjetnost, da je insekt pri dani dozi mrtev,  $q_i = 1 - p_i$

Po izračunu ponderjev izračunamo

$$\sum n_i w_i (x_i - \bar{x})^2 = \sum n_i w_i x_i^2 - \frac{(\sum n_i w_i x_i)^2}{\sum n_i w_i} \quad \dots (3)$$

Varianca regresijskega koeficienta znaša

$$s_{b_1}^2 = \frac{1}{\sum n_i w_i (x_i - \bar{x})^2} \quad \dots (4)$$

Interval zaupanja za regresijski koeficient znaša

$$b_1 \pm 1,96 \cdot s_{b_1} \quad \dots (5)$$

Označimo LD 50 z  $m$  in  $g$  na naslednji način lahko izračunajmo iz regresijske enačbe

$$m = \frac{5 - b_0}{b_1} \quad \dots (6)$$

m antilogaritmiramo in nato izračunamo še varianco te cenilke

$$s_m^2 = \frac{1}{b_1^2} \cdot \left( \frac{1}{\sum n_i w_i} + \frac{(m - \bar{x})^2}{\sum (n_i w_i (x - \bar{x})^2)} \right) \quad \dots (7)$$

Interval zaupanja za m znaša

$$m \pm 1,96 \cdot s_m \quad \dots (8)$$

Če vrednosti za meje antilogaritmiramo, dobimo meje zaupanja za LD 50.

Do sedaj predstavljeni izračuni predvidevajo, da je reakcija organizmov v skupini tretiranih z enako koncentracijo nepovezana. Kadar to ne drži, govorimo o heterogenosti. V našem primeru ima ta heterogenost še vsebinsko razlago v socialnem življenju imagov medonosne čebele, ki so bili uporabljeni v poskusu.

Heterogenost ugotavljamo z izračunom heterogenčnega faktorja  $\mu$ .

$$\mu = \frac{\chi^2}{k - 2} \quad \dots (9)$$

$$\text{kjer je } \chi^2 = \sum \frac{(r - n \cdot P)^2}{nP(1 - P)} \quad \dots (10)$$

### 3.3.2 Obdelava podatkov

Empirični probit je bil vzet iz tabel, priloženih gradivu za študij predmeta Multivariatne statistične metode (Blejec in sod., priredil Kotar, 1977). Podatki za ordinate standardizirane porazdelitve so vzeti iz tabel za študij statistike v gozdarstvu (Blejec in sod., priredil Kotar, 1977).

Vnos podatkov je bila narejen v programu Microsoft Excel 2003, statistična obdelava pa v programu SPSS ver. 11.0.

Prenos oziroma izmenjavo hrane smo izračunali tako, da smo za vsako skupino naredili izračun M3-M4. Ta spremenljivka pri skupini dajalk pomeni spremembo mase čebel zaradi porabe hrane iz epice, lastnih zalog in potencialen prenos s povratno trofalakso iz matičnice sprejemnic. Pri skupini sprejemnic ta spremenljivka označuje spremembo mase

čebel zaradi porabe lastnih zalog in potencialen prenos skozi trofalakso. Nato smo ti dve količini med sabo po skupinah dajalk in sprejemnic (D-S) še odšteli.

### 3.3.3 Analiza variance

Analiza variance oziroma ANOVA je statistični test, s katerim ugotavljamo morebitne razlike med posameznimi skupinami. Zaradi večanja napak 1. reda moramo izvajati globalni test in ne izvajamo neposredno posameznih primerjav (npr. z-test ali t-test), ker bi tako dobili lažne pozitivne primere. Ko je z ANOVA ugotovljena prisotnost razlik, izvedemo teste za primerjavo parov, da ugotovimo, kje so te razlike med pari (ANOVA, linearna regresija in korelacija, 2009)

F-test, ki je osnova analize variance, testira variance med skupinami glede na varianco znotraj skupin. Ob tem zastavimo ničelno hipotezo:  $H_0$  – varianci sta enaki (razlike med povprečji skupin niso bistveno večje od razlik med posameznimi vrednostmi znotraj katerekoli skupine). Nasproti njej postavimo alternativno hipotezo  $H_1$ , ki predvideva, da obstajajo razlike med povprečji skupin. ANOVA je torej testiranje enakosti povprečij skupin, čeprav dejansko testiramo variance. Zaradi tega razloga je pri ANOVA potrebno še posebej paziti na tri postavke:

- homogenost varianc (F-test je občutljiv na heterogenost varianc, ki jo preverimo z Levenovim testom),
- normalnost porazdelitve odvisne spremenljivke (F-test je dokaj robusten na zmerna odstopanja od normalnosti) in
- neodvisnost opazovanih vrednosti (drugače uporabimo ANOVA za ponavljane meritve) (ANOVA, linearna regresija in korelacija, 2009)

### 3.3.4 Korelacija

Korelacija ali korelacijski koeficient je številska mera, ki predstavlja moč linearne povezanosti dveh spremenljivk. Statistična veda s korelacijo v splošnem označuje odvisnost dveh spremenljivk v statistični populaciji ali populacijah.

Korelacijo je moč meriti z več različnimi koeficienti, prilagojenimi za različne tipe podatkov, ki so na voljo. Izmed korelacijskih koeficientov je najbolj znan Pearsonov korelacijski koeficient, ki je računani na podlagi kovariance in standardnih odklonov serij obeh spremenljivk (Korelacija, 2006). Poleg njega se pogosto uporablja še determinacijski koeficient  $r^2$  oziroma  $R^2$ , ki pove, kolikšen del variance  $y$  pojasnimo s spremenljivko  $x$  in s tem meri moč povezave, ne pove pa ničesar o smeri povezave (Korelacija, 2006; Košmelj, 2001).

Pearsonov korelacijski koeficient računamo po naslednji formuli:

$$r = \frac{\sum (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2 \times \sum (Y_i - \bar{Y})^2}} \quad \dots (11)$$

## 4 REZULTATI

### 4.1 PROBIT ANALIZA

#### 4.1.1 Vhodni podatki

Preglednica 4: Vhodni podatki za probit analizo  
 Table 4: Input data for probit analysis

Oznaka vzorca	Koncentracija %	Log koncentracija + 4	Število čebel v vzorcu - $n_i$	Število umrlih čebel - $r_i$	% umrlih čebel	Delež umrlih čebel
K5	0,0002	0,301029996	100	1	1	0,01
K4	0,002	1,301029996	100	3	3	0,03
K3	0,02	2,301029996	100	16	16	0,16
K2	0,2	3,301029996	100	34	34	0,34
K1	2	4,301029996	100	100	100	0,99*

\*Delež je bil zaradi izračuna ponderjev popravljen iz 1 na 0,99. V nasprotnem primeru pride do deljenja z 0

#### 4.1.2 Izračun probit vrednosti

Preglednica 5: Probit tabela  
 Table 5: Probit spreadsheet

Koncentracija %	Log koncentracija + 4	Število čebel v vzorcu - $n_i$	Število umrlih čebel - $r_i$	% umrlih čebel	delež umrlih čebel	Yi (empirični) probit	(regresijski) probit	Wi
0,0002	0,301029996	100	1	1	0,01	2,673	1,90819667	0,073636364
0,002	1,301029996	100	3	3	0,03	3,119	3,26419667	0,158900344
0,02	2,301029996	100	16	16	0,16	4,005	4,62019667	0,440003813
0,2	3,301029996	100	34	34	0,34	4,587	5,97619667	0,598028828
2	4,301029996	100	100	100	0,99*	8,719	7,33219667	1,78182E-05

\*Delež je bil zaradi izračuna ponderjev popravljen iz 1 na 0,99. V nasprotnem primeru pride do deljenja z 0.

Preglednica 6: Parametra regresijske premice in Pearsonov koeficient  
 Table 6: Regression parameters and Pearson's r

$b_0$	1,5
$b_1$	1,356
r	0,89

$$\sum n_i w_i = 127,0587166$$

$$\sum n_i w_i x_i = 321,5551$$

$$\sum n_i w_i x_i^2 = 912,227507$$

$$\sum n_i w_i (x_i - \bar{x})^2 = 912,227507 - \frac{321,5551^2}{127,0587166} = 98,44898258$$

$$s_{b_1}^2 = 1/98,44898258 = 0,010158$$

$$s_{b_1} = 0,100785$$

$$b_1 = 3,47 \pm 1,96 \cdot 0,10 = 3,47 \pm 0,198 \text{ pri } \alpha = 0,05.$$

### 4.1.3 Korekcija s heterogeno

Preglednica 7: Probit, pričakovan odstotek mrtvih, pričakovano št. mrtvih in št. umrlih čebel  
 Table 7: Probit value, expected percentage of dead bees, expected number of dead bees and measured number of dead bees

Log koncentracija + 4	(regresijski) probit	pričakovan % mrtvih	pričakovano število mrtvih	Število umrlih čebel - r <sub>i</sub>	$\chi^2$
0,30103	1,908	0,1	0,1	1	8,108108
1,30103	3,264	4,1	4,1	3	0,307739
2,30103	4,620	35,2	35,2	16	16,16162
3,30103	5,976	83,55	83,55	34	178,6385
4,30103	7,332	98,9	98,9	100	1,112235
				$\Sigma \chi^2$	204,3282

$$\mu = \frac{\chi^2}{k-2} = \frac{204,3282}{5-2} = 68,109$$

$$\chi_{0,01}^2 = 11,3 \text{ (za } m=3)$$

Ob primerjavi količine  $\mu$  z mejno vrednostjo ugotovimo, da je heterogenca statistično značilna. Zato korigiramo  $s_{b_1}^2$  in  $s_{b_1}$ .

$$s_{b_1}^2 \text{ (korigirana)} = \frac{68,109}{98,449} = 0,6918 \text{ in } s_{b_1} = 0,8318.$$

$$m = \frac{5-b_0}{b_1} = \frac{5-1,5}{1,356} = 2,581$$

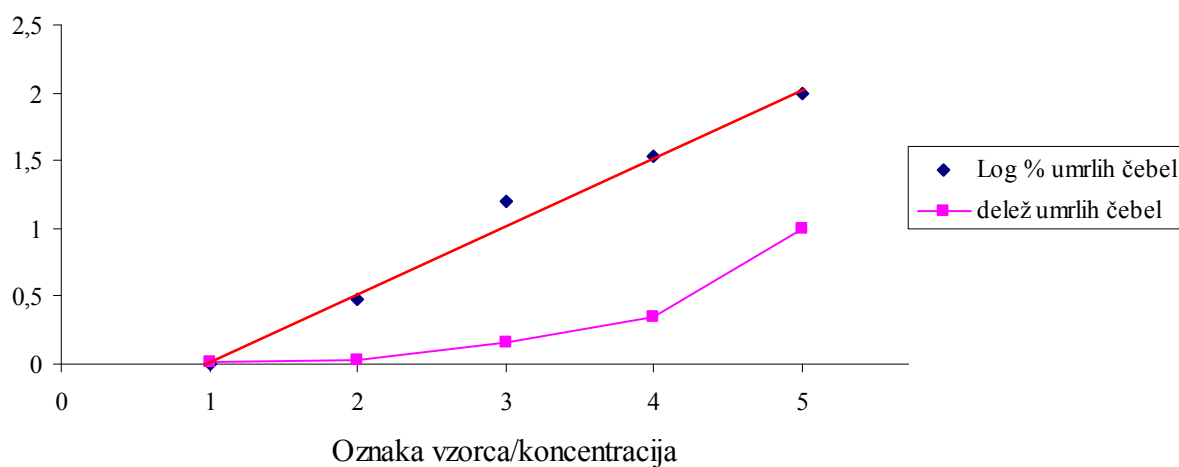
$$LD 50 = \text{antilog}(2,581 - 4) = 0,0381$$



$$s_m^2 = \frac{1}{b_1^2} \cdot \left( \frac{1}{\sum n_i w_i} + \frac{(m - \bar{x})^2}{\sum (n_i w_i (x - \bar{x})^2)} \right) = \frac{1}{1,356^2} \cdot \left( \frac{1}{127,0587} + \frac{(2,581 - 2,301)^2}{98,44898} \right) = 0,00471$$

$$s_m^2 (\text{korigiran}) = 0,00471 \cdot 68,109 = 0,321047$$

### Delež in logaritem deleža v odvisnosti od koncentracije



Slika 9: Delež mrtvih čebel in desetiški logaritem % mrtvih čebel v odvisnosti od koncentracije Zolone Liquida z vrisano regresijsko premico

Figure 9: The fraction of the dead bees and logarithm of the percentage of dead bees in relation to concentration of Zolone Liquide with regression line

## 4.2 LETALNI IN SUBLETALNI VPLIVI GLIFOSATA

Analizo smo izvedli od septembra do novembra 2004 na 96 skupinah čebel. Pri tem smo vedno pazili, da so bile čebele v skupini iz iste čebelje družine, saj je nekaj predhodnih poskusov pokazalo, da čebele znotraj ene skupine ne prenašajo tujk (npr. roparic).

#### 4.2.1 Testi pravilnosti rezultatov

Preglednica 8: Opisna statistika povprečij mas čebel v skupinah sprejemnic in dajalk  
 Table 8: Descriptive statistics of bee body mass in receiver and donor group

	N	Povprečje [g]	Std. deviacija [g]
Čebele S	96	0,800	0,132
Čebele D	96	0,772	0,092

V testu smo pazili na izenačenost skupin čebel, zato smo izvedli test enakosti mas.

Preglednica 9: T-test enakosti mas čebel v skupinah dajalk in sprejemnic  
 Table 9: T-test of mass equality in donor and receiver group

	t	df	p (2-stranska)	razlika povprečij [g]	95% interval zaupanja	
					spodnja meja [g]	zgornja meja [g]
Čebele S	59,196	95	0,000	0,800	0,772	0,826
Čebele D	82,542	95	0,000	0,772	0,754	0,791

Test kaže, da se povprečji mas čebel v skupini dajalk in sprejemnic razlikujeta.

Preglednica 10: Korelacija med začetno in končno maso matičnic  
 Table 10: Correlation between start and end mass of the cages

		M1 S	M5 S	M1 D	M5 D
M1 S	kor. koef. (Pearson)	1	0,996**	0,059	0,093
	stat. znač.		0,000	0,565	0,367
	N	96	96	96	96
M5 S	kor. koef. (Pearson)	0,996**	1	0,061	0,097
	stat. znač.	0,000		0,554	0,348
	N	96	96	96	96
M1 D	kor. koef. (Pearson)	0,059	0,061	1	0,970**
	stat. znač.	0,565	0,554		0,000
	N	96	96	96	96
M5 D	kor. koef. (Pearson)	0,093	0,097	0,970**	1
	stat. znač.	0,367	0,348	0,000	
	N	96	96	96	96

\*\* Korelacija je statistično značilna pri stopnji 0.01 (2-stranska)

Zaradi zagotavljanja korektnih rezultatov smo s korelacijo ugotovljali, ali se masa posamezne matičnice na začetku in na koncu spreminja. Preglednica št. 10 prikazuje visoko stopnjo korelacije med masama M1 S in M5 S (0,996;  $p < 0,001$ ) ter M1 D ter M5 D (0,970;  $p < 0,001$ ). Ti rezultati potrjujejo, da matičnice niso vpliven dejavnik v poskusu oziroma lahko trdimo, da se njihova masa med poskusom ni statistično značilno spreminjala. S tem dejstvom potrjujemo, da ni prihajalo do vpitja hrane v matičnice, oziroma, da smo pravilno izmerili maso hrane.

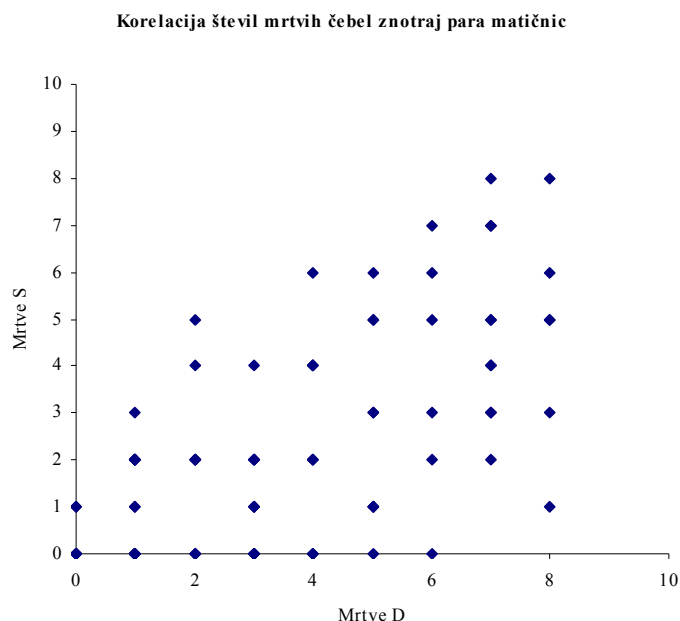
#### 4.2.2 Letalni vplivi

Preglednica 11: Korelacija med številom mrtvih čebel v skupini sprejemnic in številom mrtvih čebel v skupini dajalk

Table: 11: Correlation between the number of dead bees in receiver and the number of dead bees in donor group

		Mrtve S	Mrtve D
Mrtve S	kor. koef. (Pearson)	1	0,662**
	stat. znač.		0,000
	N	96	96
Mrtve D	kor. koef. (Pearson)	0,662**	1
	stat. znač.	0,000	
	N	96	96

\*\* Korelacija je statistično značilna pri stopnji 0.01 (2-stranska)



Slika 10: Povprečje števila mrtvih čebel glede na uživanje sladkorne raztopine z različnimi koncentracijami glifosata (glifosat 1, glifosat 2 in glifosat 3)

Figure 10: Average number of dead bees in a cage in relation to consumption of saccharose dillution with addition of different concentrations of glyphosate (glyphosate 1, 2 and 3)

Letalne vplive uživanja herbicida smo merili s številom mrtvih čebel. Rezultate števila mrtvih čebel smo spremljali v vseh matičnicah, tako v skupini dajalk kot v skupini sprejemnic. Ugotovili smo, da obstaja statistično značilna korelacija med številom mrtvih v skupini dajalk in v skupini sprejemnic. Koeficient korelacije je 0,662, korelacija 0,01,  $p < 0,001$ . Kot merilo letalnih vplivov smo analizirali tudi skupno število mrtvih čebel v paru matičnic.

Preglednica 12: Število parov matičnic vključenih v poskus glede na faktorja varoza in sredstvo  
 Table 12: Number of pairs in the experiment by varroa and by the feed

		N
Varoza	M	48
	V	48
Sredstvo	etanol	9
	glifosat	39
	sladkor	48

Preglednica 13: Enosmerna ANOVA vpliva dejavnikov varoza, sredstvo in njune interakcije na skupno število mrtvih čebel v paru

Table 13: One-way ANOVA of the total number of dead bees in the pair by varroa and by feed

VIR VAR	VKO	SP	SKO	F	stat. znač.
Korigiran model	470,615	5	94,123	6,624	0,000
Zač. vrednost	1332,307	1	1332,307	93,760	0,000
Varoza	0,016	1	0,016	0,001	0,974
Sredstvo	466,563	2	233,282	16,417	0,000
Varoza * Sredstvo	7,165	2	3,582	0,252	0,778
Ostanek	1278,875	90	14,210		
Vsota	4577,000	96			
Korigirana vsota	1749,490	95			

Z metodo enosmerne ANOVA smo ugotovili, da je sredstvo edini dejavnik s statistično značilnim vplivom ( $p < 0,001$ ), prisotnost varoze oziroma morebitna interakcija med sredstvom nista imeli statistično značilnih vplivov (po vrsti  $p = 0,974$  in  $p = 0,778$ ).

Zaradi ugotovitve, da je sredstvo dejavnik s statistično značilnim vplivom, smo se v nadaljnjih analizah podrobneje posvetili tej spremenljivki. Pričakovani rezultati oziroma ničelna hipoteza so predvidevali, da bo prisotnost glifosata v hrani povzročala določeno

stopnjo smrtnosti med čebelami. Rezultati kažejo, da se ta stopnja smrtnosti razlikuje glede na različne koncentracije glifosata v hrani, ki so jo dobivale čebele.

Preglednica 14: Enosmerna ANOVA vpliva dejavnika sredstvo na skupno število mrtvih čebel v paru  
Table 14: One-way ANOVA of the total number of dead bees in the pair by feed

VIR VAR	VKO	SP	SKO	F	stat. znač.
Korigiran model	458,224 <sup>a</sup>	2	229,112	16,501	0,000
Zač. vrednost	1373,310	1	1373,310	98,909	0,000
Sredstvo	458,224	2	229,112	16,501	0,000
Ostanek	1291,265	93	13,885		
Vsota	4577,000	96			
Korigirana vsota	1749,490	95			

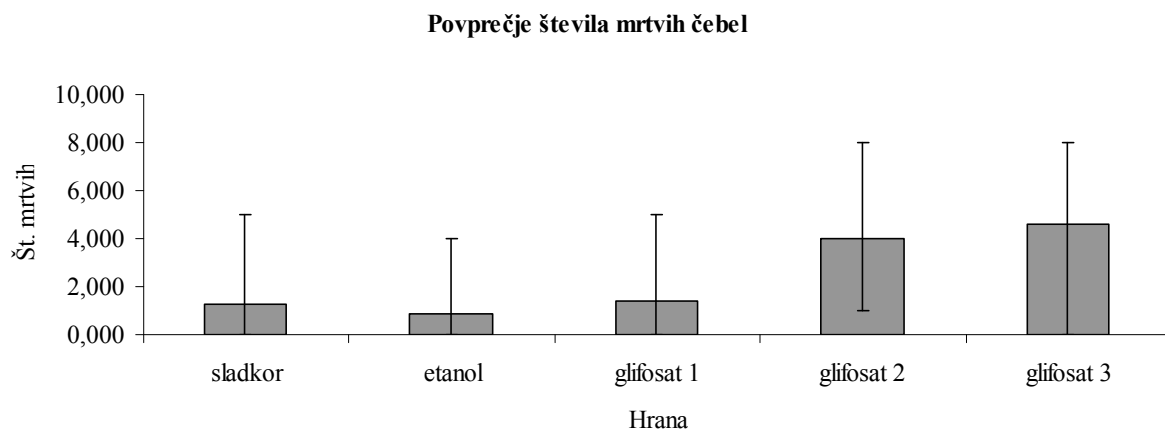
Preglednica 15: Neposredne primerjave (kontrasti) vplivov različnih sredstev na skupno število mrtvih čebel v paru matičnic

Table 15: Post-hoc comparison of different active matters on the total number of dead bees in the pair

(I) Sredstvo	(J) Sredstvo	Razlika		stat. znač.	95% interval zaupanja	
		povprečij (I-J)	Std. dev.		spodnja meja	zgoranja meja
Etanol	glifosat 1	-1,2778	1,47850	0,909	-5,3928	2,8372
	glifosat 2	-6,4444*	1,41372	0,000	-10,3791	-2,5097
	glifosat 3	-7,4444*	1,47850	0,000	-11,5595	-3,3294
	sladkor	-0,8819	1,21792	0,950	-4,2717	2,5078
Glifosat 1	etanol	1,2778	1,47850	0,909	-2,8372	5,3928
	glifosat 2	-5,1667*	1,29858	0,001	-8,7809	-1,5524
	glifosat 3	-6,1667*	1,36883	0,000	-9,9764	-2,3569
	sladkor	0,3958	1,08215	0,996	-2,6160	3,4077
Glifosat 2	etanol	6,4444*	1,41372	0,000	2,5097	10,3791
	glifosat 1	5,1667*	1,29858	0,001	1,5524	8,7809
	glifosat 3	-1,0000	1,29858	0,939	-4,6143	2,6143
	sladkor	5,5625*	0,99181	0,000	2,8021	8,3229
Glifosat 3	etanol	7,4444*	1,47850	0,000	3,3294	11,5595
	glifosat 1	6,1667*	1,36883	0,000	2,3569	9,9764
	glifosat 2	1,0000	1,29858	0,939	-2,6143	4,6143
	sladkor	6,5625*	1,08215	0,000	3,5506	9,5744
Sladkor	etanol	0,8819	1,21792	0,950	-2,5078	4,2717
	glifosat 1	-0,3958	1,08215	0,996	-3,4077	2,6160
	glifosat 2	-5,5625*	0,99181	0,000	-8,3229	-2,8021
	glifosat 3	-6,5625*	1,08215	0,000	-9,5744	-3,5506

\*Razlika povprečij je statistično značilna pri stopnji 0,05

Preglednica št. 15 prikazuje različne kontraste (neposredne primerjave) med vplivi različnih sredstev. Kot testna statistika je uporabljen Tukeyev HSD, ker je število primerjav večje od 3. Za lažjo predstavo, kaj ti testi pomenijo, so različna sredstva (sladkor, etanol in tri različne stopnje herbicida) razdeljena v skupine glede na smrtnost čebel. Uporabljeni sta dve različni testni statistiki, Tukeyev HSD in Duncanov test.



Slika 11: Povprečje števila mrtvih čebel z minimumom in maksimumom glede na uživanje sladkorne raztopine z različnimi koncentracijami glifosata (glifosat 1, glifosat 2 in glifosat 3)

Figure 11: Average number of dead bees with minimum and maximum in a cage in relation to consumption of saccharose dilution with addition of different concentrations of glyphosate (glyphosate 1, 2 and 3)

Preglednica 16: Razvrstitev v podobnostne skupine glede na število mrtvih čebel zaradi uživanja različnih vrst hrane po dveh testnih statistikah

Table 16: Homogenous subsets of the total number of the dead bees by feed

	Sredstvo	N	skupina	
			1	2
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	etanol	9	2,8889	
	sladkor	48	3,7708	
	glifosat 1	12	4,1667	
	glifosat 2	15		9,3333
	glifosat 3	12		10,3333
	Stat. znač.			0,856
Duncan <sup>a,b,c</sup>	Etanol	9	2,8889	
	Sladkor	48	3,7708	
	glifosat 1	12	4,1667	
	glifosat 2	15		9,3333
	glifosat 3	12		10,3333
	Stat. znač.			0,352

a. Uporablja harmonično sredino velikosti vzorca 13,688

b. Velikosti skupin so različne. Uporabljena je harmonična sredina velikosti vzorca

c.  $\alpha = 0,05$

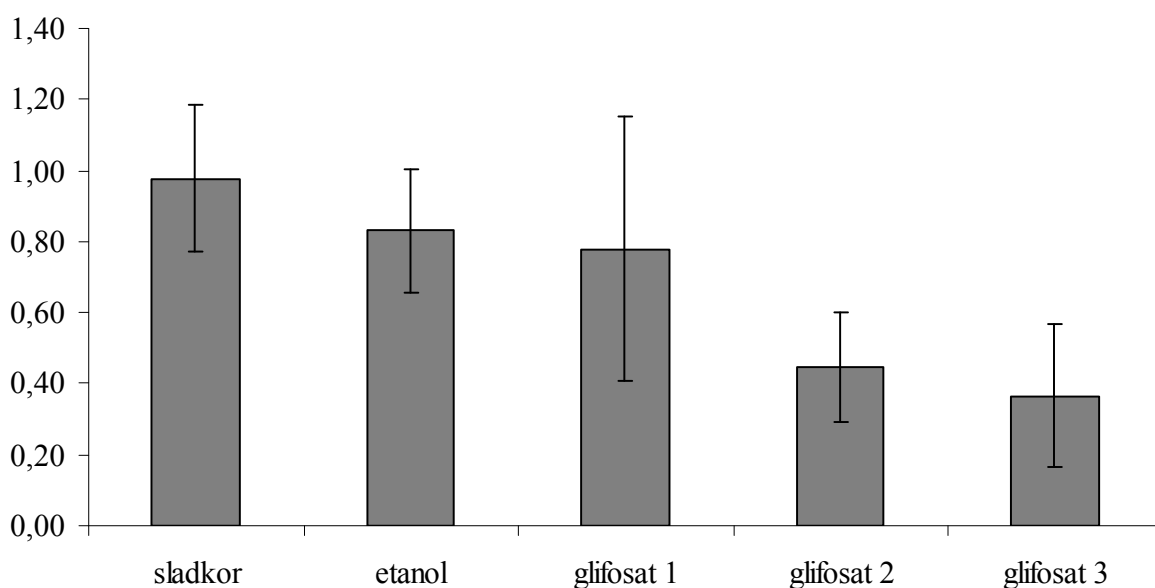
Iz rezultatov je razvidno, da je smrtnost čebel primerljiva v skupinah, ki so bile hranjene s sladkorno raztopino, etanolom in najnižjo koncentracijo glifosata. Smrtnost pri skupinah, ki je prejela povečani koncentraciji glifosata v sladkorni raztopini, je večja. Za iskanje subletalnih vplivov glifosata sta ti dve skupini (glifosat 2, glifosat 3) manj pomembni, saj v njih umre zelo veliko čebel.

#### 4.2.3 Subletalni vplivi uživanja glifosata

Ob vsaki analizi smo preverili, da matičnice ne spreminjajo mase. Izkazalo se je, da so bile mase matičnic pred začetkom poskusa in po koncu vsakega cikla skoraj enake (dajalke:  $r=0,970$ ,  $p<0,001$ , sprejemnice  $r=0,996$ ,  $p<0,001$ ).



### Prenos hrane po skupinah



Slika 12: Obseg izmenjave hrane glede na uživanje sladkorne raztopine z različnimi koncentracijami glifosata (glifosat 1, glifosat 2 in glifosat 3)

Figure 12: Trophallaxis in relation to consumption of saccharose dillution with addition of different concentrations of glyphosate (glyphosate 1, 2 and 3)

Preglednica 17: Enosmerna ANOVA vpliva dejavnikov varoza, sredstvo in njune interakcije na izmenjavo hrane v paru matičnic

Table 17: One-way ANOVA of varroa, feed and their interaction on trophallaxis

VIR VAR	VKO	SP	SKO	F	stat. znač.
korigiran model	4,633 <sup>a</sup>	5	0,927	15,171	0,000
Zač. vrednost	34,430	1	34,430	563,649	0,000
Sredstvo	4,145	2	2,073	33,931	0,000
Varoza	0,041	1	0,041	0,668	0,416
Sredstvo * Varoza	0,178	2	0,089	1,457	0,238
Ostanek	5,497	90	0,061		
Vsota	68,291	96			
Korigirana vsota	10,131	95			

a  $R^2 = ,457$  (korigiran  $R^2 = 0,427$ )

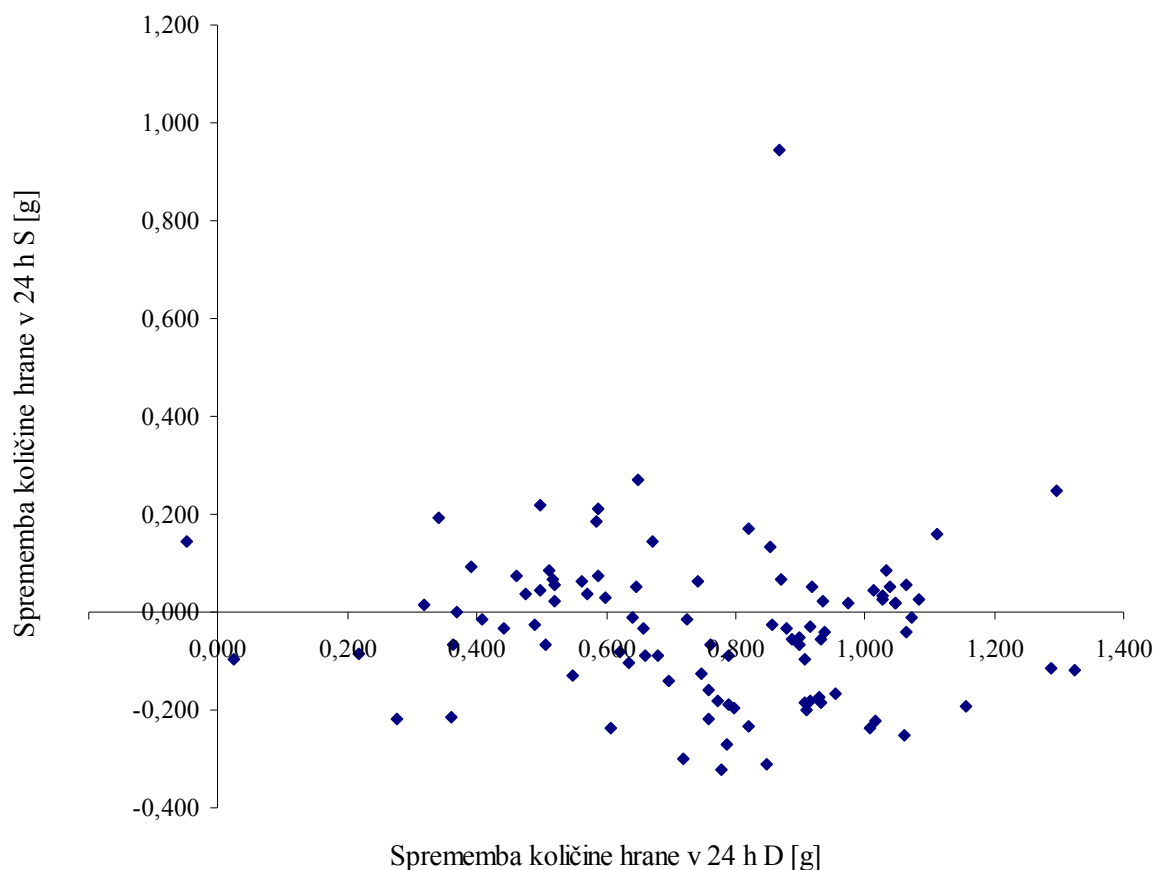
Enosmerna ANOVA je pokazala, da ima na prenos – izmenjavo hrane – izmed preučevanih dejavnikov statistično značilen vpliv samo sredstvo, ki ga krmimo ( $p < 0,001$ ). Prisotnost varoze in morebitna interakcija nista imeli statistično značilnih vplivov (po vrsti  $p = 0,416$  in  $p = 0,238$ ).

Uspešen potek trofalakse deloma nakazuje tudi statistično značilna korelacija med številom mrtvih dajalk in sprejemnic (koeficient korelacije je 0,662, korelacija 0,01,  $p < 0,001$ ). Podobno širjenje informacij skozi prenos hrane želimo pokazati tudi pri subletalnih učinkih.

Preglednica 18: Korelacija v spremembi mase po 24 urah med skupinama dajalk in sprejemnic  
Table 18: Correlation in mass change among donors and recipients

		Prenos 24 D	Prenos 24 S
Prenos 24 D	kor. koef. (Pearson)	1	-0,086
	stat. znač.		0,404
	N	96	96
Prenos 24 S	kor. koef. (Pearson)	-0,086	1
	stat. znač.	0,404	
	N	96	96

### Korelacije sprememb količin hrane po 24 urah



Slika 13: Korelacije količin parametra sprememba količine hrane v 24 urah med skupinama dajalk in sprejemnic  
Figure 13: Correlation between the changes of feed quantity after 24 hours in both donor and receiver group

Iz preglednice št. 18 je razvidno, da pri analizi vseh primerov takšna povezava ne obstaja (koeficient korelacije je  $-0,086$ ,  $p=0,404$ ). To dejstvo je razvidno tudi iz slike 13. Zaradi smrti čebel prenos ne poteka, zato smo v analizo vključili zgolj pare, v katerih skupna smrtnost ni prevelika. Kot mejno število mrtvih smo postavili največje skupno število mrtvih na 4 (okvirno 2 mrtvi čebeli v vsaki matičnici). V nadaljevanju smo to število zmanjšali še na 3 in na 2.

Preglednica 19: Korelacija v spremembi mase po 24 urah med skupinama dajalk in sprejemnic, izločeni pari z več kot 4 mrtvimi čebelami

Table 19: Correlation in the change of mass after 24 hours among donors and recipients, pairs with more than 4 dead bees excluded

		Prenos 24 S	Prenos 24 D
Prenos 24 S	kor. koef. (Pearson)	1	0,093
	stat. znač.		0,517
	N	51	51
Prenos 24 D	kor. koef. (Pearson)	0,093	1
	stat. znač.	0,517	
	N	51	51

Preglednica 20: Korelacija v spremembi mase po 24 urah med skupinama dajalk in sprejemnic, izločeni pari z več kot 3 mrtvimi čebelami

Table 20: Correlation in the change of mass after 24 hours among donors and recipients, pairs with more than 3 dead bees excluded

		Prenos 24 S	Prenos 24 D
Prenos 24 S	kor. koef. (Pearson)	1	0,094
	stat. znač.		0,565
	N	40	40
Prenos 24 D	kor. koef. (Pearson)	0,094	1
	stat. znač.	0,565	
	N	40	40

Preglednica 21: Korelacija v spremembi mase po 24 urah med skupinama dajalk in sprejemnic, izločeni pari z več kot 2 mrtvima čebelama

Table 21: Correlation in the change of mass after 24 hours among donors and recipients, pairs with more than 2 dead bees excluded

		Prenos 24 S	Prenos 24 D
Prenos 24 S	kor. koef. (Pearson)	1	0,023
	stat. znač.		0,911
	N	27	27
Prenos 24 D	kor. koef. (Pearson)	0,023	1
	stat. znač.	0,911	
	N	27	27

Ko smo izločali matičnice oziroma skupine matičnic z več mrtvimi čebelami, smo ugotovili, da se koeficient korelacije zmanjšuje, p vrednost pa raste proti številu 1, zato smo nadaljnje analize v tej smeri opustili, nadaljevali pa smo z analizo spremenljivke Prenos glede na različne vrste hrane – spremenljivka sredstvo (sladkorna raztopina, sladkorna raztopina s 5 % etanola, sladkorna raztopina z nižjo koncentracijo glifosata, sladkorna raztopina s srednjo koncentracijo glifosata in sladkorna raztopina z visoko koncentracijo glifosata).

Preglednica 22: Število parov matičnic v poskusu glede na različne vrste hrane (spremenljivka sredstvo)

Table 22: The number of experimental pairs in relation to different feed

Sredstvo	N
Etanol	9
Glifosat 1	12
Glifosat 2	15
Glifosat 3	12
Sladkor	48

Iz preglednice 22 je razvidno število testiranj po posameznih obravnavanih skupinah. Največ testov smo delali s sladkorno raztopino, saj je bilo potrebno ves čas poskusa zagotavljati, da je izmenjava hrane uspešna.

Preglednica 23: Enosmerna ANOVA vpliva dejavnika sredstvo na izmenjavo hrane v paru matičnic  
Table 23: One-way ANOVA of trophallaxis in relation to feed

VIR VAR	VKO	SP	SKO	F	stat. znač.
Korigiran model	5,587 <sup>a</sup>	4	1,397	27,969	0,000
Zač. vrednost	31,573	1	31,573	632,255	0,000
Sredstvo	5,587	4	1,397	27,969	0,000
Ostanek	4,544	91	0,050		
Vsota	68,291	96			
Korigirana vsota	10,131	95			

a  $R^2 = 0,551$  (korigiran  $R^2 = 0,532$ )

Iz preglednice 23 je razvidno, da ima sredstvo statistično značilen vpliv na količino prenosa hrane ( $F=27,969$ ,  $p<0,001$ ), zato smo naredili kontraste (neposredne primerjave posameznih obravnavanj), ki so razvidni iz preglednice 24. Testna statistika je Tukeyev HSD.

Preglednica 24: Neposredne primerjave (kontrasti) vplivov različnih sredstev na izmenjavo hrane v paru matičnic glede na različne vrste hrane, testna statistika Tukey-ev HSD

Table: 24: Post-hoc comparisons of different feed on trophallaxis, test statistics Tukey's HSD

(I) Sredstvo	(J) Sredstvo	razlika			95% interval zaupanja	
		povprečij (I-J)	std. dev.	stat. znač.	spodnja meja	zgornja meja
Etanol	glifosat 1	0,053	0,099	0,983	-0,221	0,327
	glifosat 2	0,384*	0,094	0,001	0,122	0,646
	glifosat 3	0,465*	0,099	0,000	0,190	0,739
	sladkor	-0,145	0,081	0,387	-0,371	0,081
Glifosat 1	etanol	-0,053	0,099	0,983	-0,327	0,221
	glifosat 2	0,331*	0,087	0,002	0,090	0,572
	glifosat 3	0,412*	0,091	0,000	0,158	0,666
	sladkor	-0,198	0,072	0,055	-0,399	0,003
Glifosat 2	etanol	-0,384*	0,094	0,001	-0,646	-0,122
	glifosat 1	-0,331*	0,087	0,002	-0,572	-0,090
	glifosat 3	0,081	0,087	0,885	-0,160	0,321
	sladkor	-0,529*	0,066	0,000	-0,713	-0,345
Glifosat 3	etanol	-0,465*	0,099	0,000	-0,739	-0,190
	glifosat 1	-0,412*	0,091	0,000	-0,666	-0,158
	glifosat 2	-0,081	0,087	0,885	-0,321	0,160
	sladkor	-0,610*	0,072	0,000	-0,810	-0,409
Sladkor	etanol	0,145	0,081	0,387	-0,081	0,371
	glifosat 1	0,198	0,072	0,055	-0,003	0,399
	glifosat 2	0,529*	0,066	0,000	0,345	0,713
	glifosat 3	0,610*	0,072	0,000	0,409	0,810

\* statistično značilna primerjava

Zaradi boljše preglednosti smo kontraste razdelili na podobnostne skupine kot prikazuje preglednica 25. Uporabili smo dve testni statistiki, prej omenjeni Tukeyev HSD in Duncanov test.

Preglednica 25: Razvrstitev v podobnostne skupine glede na izmenjavo hrane zaradi uživanja različnih vrst hrane po dveh testnih statistikah (Tukey HSD, Duncan)

Table 25: Homogenous subsets on trophallaxis by feed with two test statistics

	Sredstvo	N	Skupina		
			1	2	3
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	glifosat 3	12	0,36592		
	glifosat 2	15	0,44640		
	glifosat 1	12		0,77750	
	etanol	9		0,83056	
	sladkor	48		0,97563	
	stat. znač.			0,880	0,148
Duncan <sup>a,b,c</sup>	glifosat 3	12	0,36592		
	glifosat 2	15	0,44640		
	glifosat 1	12		0,77750	
	etanol	9		0,83056	0,83056
	sladkor	48			0,97563
	Sig.			0,349	0,536

a. Uporablja harmonično sredino velikosti vzorca 13,688.

b. Velikosti skupin so različne. Uporabljena je harmonična sredina velikosti vzorca.

c.  $\alpha = 0,05$ .

Na osnovi Tukeyevega HSD se vplivi različnih sredstev delijo v dve večji, primerljivi skupini. V prvo skupino spadajo pari matičnic, ki so za hrano dobivali sladkorno raztopino, sladkorno raztopino s 5 % etanola in sladkorno raztopino z najnižjo koncentracijo glifosata, v drugo pa pari matičnic, ki so prejeli sladkorno raztopino s srednjo oziroma veliko koncentracijo glifosata.

Na osnovi Duncanovega testa nastanejo tri skupine, in sicer skupina s sladkorno raztopino in etanolom, skupina z najmanjšo koncentracijo glifosata in etanolom ter skupina s srednjo ter visoko koncentracijo glifosata.

#### 4.3 LETALNI IN SUBLETALNI VPLIVI IMIDAKLOPRIDA

Po koncu poskusov z glifosatom v letu 2004 smo izvedli še tipalni poskus z aktivno snovjo imidakloprid. Ta poskus imenujemo tipalni zaradi manjšega števila parov matičnic (20), ki smo jih uporabili v poskusu. Podobno kot v poskusu iz poglavja 4.2 smo uporabili zimske čebele iz dveh skupin čebeljih družin, ene z veliko varoj, druge z malo. Čebele smo krmili



s sladkorno raztopino (sladkor), sladkorno raztopino s 5 % etanola (etanol) in sladkorno raztopino z  $2 \cdot 10^{-8}$  g/L imidakloprida (imidaklopid).

#### 4.3.1 Testi pravilnosti rezultatov

Preglednica 26: Korelacija med začetno in končno maso matičnic po skupinah dajalk in sprejemnic  
 Table 26: Correlation between start and end mass of cages in donor and recipient group

		M1 D	M5 D	M1 S	M5 S
M1 D	kor. koef. (Pearson)	1	0,988**	-0,099	-0,114
	stat. znač.		0,000	0,679	0,632
	N	20	20	20	20
M5 D	kor. koef. (Pearson)	0,988**	1	-0,160	-0,170
	stat. znač.	0,000		0,502	0,473
	N	20	20	20	20
M1 S	kor. koef. (Pearson)	-0,099	-0,160	1	0,998**
	stat. znač.	0,679	0,502		0,000
	N	20	20	20	20
M5 S	kor. koef. (Pearson)	-0,114	-0,170	0,998**	1
	stat. znač.	0,632	0,473	0,000	
	N	20	20	20	20

\*\* Korelacija je statistično značilna pri stopnji 0.01 (2-stranska)

Iz preglednice 26 je razvidno, da se mase matičnic niso statistično značilno spreminjale. Preglednica št. 26 prikazuje visoko stopnjo korelacije med masama M1 S in M5 S (0,998;  $p < 0,001$ ) in M1 D ter M5 D (0,988;  $p < 0,001$ ). Ti rezultati potrjujejo, da matičnice niso vpijale hrane, oziroma da smo v poskusu pravilno izmerili količino hrane.

Preglednica 27: Opisna statistika mase čebel v matičnicah v skupinah dajalk in sprejemnic  
 Table: 27: Descriptive statistics of mass of bees in donor and recipient group

	N	povprečje	std. dev.	pov. std. nap.
Masa čebel D	20	0,847	0,144	0,032
Masa čebel S	20	0,866	0,125	0,028

Preglednica 28: T-test – primerjava enakosti mas v skupini dajalk in sprejemnic  
 Table 28: Mass equality comparison in donor and recipient group

	t	SP	stat. znač. (2- stranska)	razlika povprečij	95% interval zaupanja za razliko	
					spodnja meja	zgornja meja
Masa čebel D	26,405	19	0,000	0,847	0,780	0,915
Masa čebel S	31,050	19	0,000	0,866	0,808	0,925

Iz preglednic št. 27 in št. 28 je razvidno, da se masi čebel v skupinah dajalk in sprejemnic po parih statistično značilno razlikujeta, in sicer je masa sprejemnic večja v povprečju za 0,019 g. Ničelno hipotezo o enakosti povprečij mas vzorcev zavrnamo ( $\alpha=0,05$ ).

### 4.3.2 Letalni vplivi imidakloprida

Na začetku smo želeli ugotoviti, ali obstaja statistično značilna povezava med številom mrtvih čebel v skupini dajalk in sprejemnic.

Preglednica 29: Korelacija števila mrtvih čebel med skupinama dajalk in sprejemnic  
Table 29: Correlation in the number of dead bees in donor and recipient group

		Mrtve S	Mrtve D
Mrtve S	kor. koef. (Pearson)	1	0,382
	stat. znač.		0,096
	N	20	20
Mrtve D	kor. koef. (Pearson)	0,382	1
	stat. znač.	0,096	
	N	20	20

Z analizo smo ugotovili, da v tem primeru ne obstaja statistično značilna korelacija med številom mrtvih čebel v skupinah dajalk in sprejemnic ( $p=0,096$ ). Ker nismo uspeli pokazati statistično značilne korelacije med številom mrtvih čebel v skupinah dajalk in sprejemnic, smo zgenerirali novo spremenljivko »Mrtveskupaj«, ki vključuje skupno število mrtvih čebel v paru matičnic, ob tem pa je potrebno narediti statistično analizo tudi obeh posameznih spremenljivk števil mrtvih čebel.

Preglednica 30: Enosmerna ANOVA spremenljivk o številu mrtvih čebel glede na prisotnost varoze, krmljenje različnih snovi in njune interakcije

Table 30: One-way ANOVA of dead bees number in relation to varroa, feed and their interaction

VIR VAR	odv. Sprem.	VKO	SP	SKO	F	Sig.
Korigiran model	Mrtveskupaj	134,950 <sup>a</sup>	5	26,990	3,041	0,046
	Mrtve S	66,550 <sup>b</sup>	5	13,310	3,451	0,031
	Mrtve D	24,200 <sup>c</sup>	5	4,840	1,514	0,248
Zač. vrednost	Mrtveskupaj	850,781	1	850,781	95,863	0,000
	Mrtve S	420,500	1	420,500	109,019	0,000
	Mrtve D	75,031	1	75,031	23,473	0,000
Sredstvo	Mrtveskupaj	41,575	2	20,787	2,342	0,133
	Mrtve S	43,050	2	21,525	5,581	0,017
	Mrtve D	0,075	2	0,038	0,012	0,988
Skupina	Mrtveskupaj	75,031	1	75,031	8,454	0,011
	Mrtve S	21,125	1	21,125	5,477	0,035
	Mrtve D	16,531	1	16,531	5,172	0,039
Sredstvo * Skupina	Mrtveskupaj	28,575	2	14,288	1,610	0,235
	Mrtve S	5,450	2	2,725	0,706	0,510
	Mrtve D	9,675	2	4,838	1,513	0,254
Ostanek	Mrtveskupaj	124,250	14	8,875		
	Mrtve S	54,000	14	3,857		
	Mrtve D	44,750	14	3,196		
Vsota	Mrtveskupaj	1296,000	20			
	Mrtve S	651,000	20			
	Mrtve D	153,000	20			
Korigirana vsota	Mrtveskupaj	259,200	19			
	Mrtve S	120,550	19			
	Mrtve D	68,950	19			

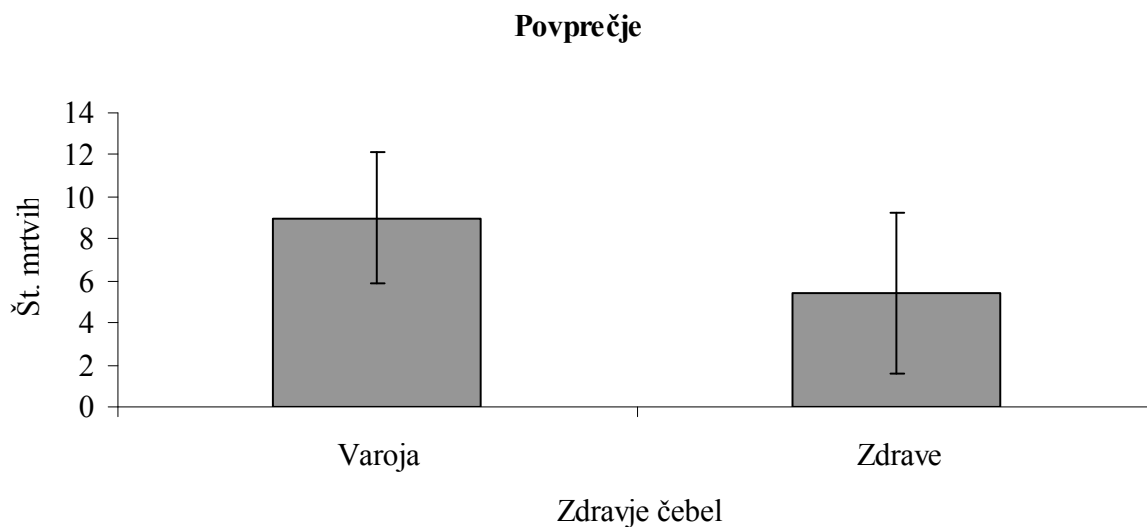
A  $R^2 = ,521$  (korigiran  $R^2 = ,349$ )

B  $R^2 = ,552$  (korigiran  $R^2 = ,392$ )

C  $R^2 = ,351$  (korigiran  $R^2 = ,119$ )

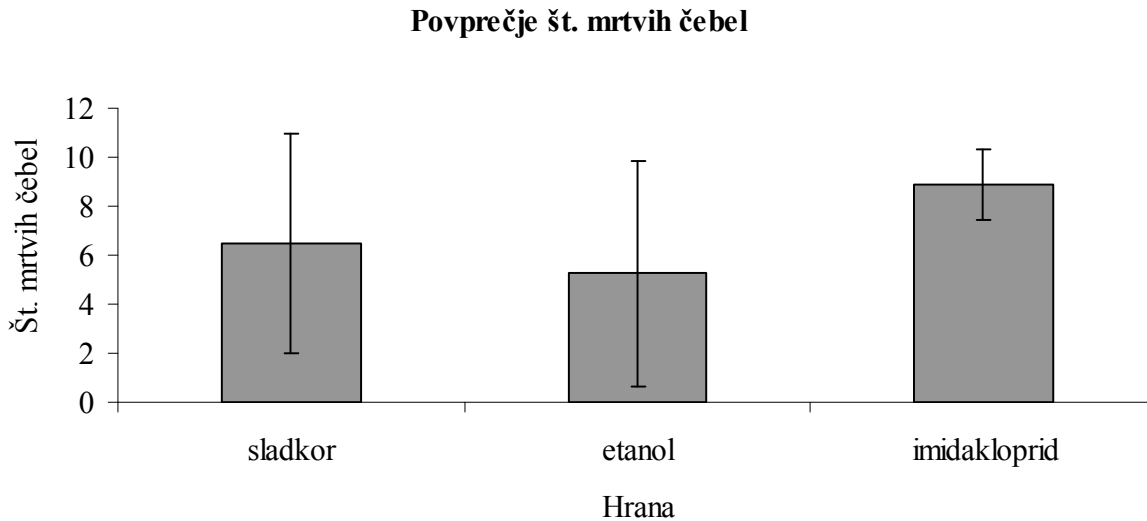
Iz preglednice 30 je razvidno, da je na število mrtvih čebel bolj vplivalo dejstvo, ali pripadajo čebeljim družinam z veliko ali z malo varoj ( $p=0,011$ ;  $0,035$ ;  $0,039$ ) kot pa samo sredstvo, ki so ga čebele dobile ( $p=0,133$ ;  $0,017$ ;  $0,988$ ). Sredstvo je imelo statistično značilen vpliv na število mrtvih sprejemnic ( $p=0,017$ ). Interakcije med krmljenim

sredstvom in okužbo z varozo čebel niso bile statistično značilne (po vrsti  $p=0,235$ ;  $0,510$ ;  $0,254$ ).



Slika 14: Povprečje števila mrtvih čebel s standardno deviacijo v poskusnem paru v odvisnosti od zdravstvenega stanja čebel

Figure 14: The average number of dead bees and standard deviation in the pair of cages in relation to health of bees



Slika 15: Povprečje števila mrtvih čebel s standardno deviacijo v poskusnem paru v odvisnosti od vrste hrane

Figure 15: The average number of dead bees and standard deviation in the pair of cages in relation to feed

Preglednica 31: Medsebojne primerjave števila mrtvih čebel v odvisnosti od vrste hrane – sredstva  
Table 31: Post-hoc comparisons of the number of dead bees in relation to feed

Odkvisna spremenljivka		(I) Sredstvo	(J) Sredstvo	Razlika		stat. znač.	95% interval zaupanja	
				povprečij (I-J)	Std. napaka		spodnja meja	zgoranja meja
Mrtves kupaj	Tukey	etanol	imidakloprid	-3,625	1,82431	0,152	-8,3997	1,1497
			sladkor	-1,250	1,82431	0,776	-6,0247	3,5247
	HSD	imidakloprid	etanol	3,625	1,82431	0,152	-1,1497	8,3997
			sladkor	2,375	1,48955	0,280	-1,5236	6,2736
		sladkor	etanol	1,250	1,82431	0,776	-3,5247	6,0247
			imidakloprid	-2,375	1,48955	0,280	-6,2736	1,5236
Mrtve S D	Tukey	etanol	imidakloprid	-3,630*	1,203	0,024	-6,77	-0,48
			sladkor	-1,12	1,203	0,628	-4,27	2,02
	HSD	imidakloprid	etanol	3,63*	1,203	0,024	0,48	6,77
			sladkor	2,50	0,982	0,057	-0,07	5,07
		sladkor	etanol	1,12	1,203	0,628	-2,02	4,27
			imidakloprid	-2,50	0,982	0,057	-5,07	0,07
Mrtve D	Tukey	etanol	imidakloprid	0,00	1,095	1,000	-2,87	2,87
			sladkor	-0,13	1,095	0,993	-2,99	2,74
	HSD	imidakloprid	etanol	0,00	1,095	1,000	-2,87	2,87
			sladkor	-0,13	0,894	0,989	-2,46	2,21
		sladkor	etanol	0,13	1,095	0,993	-2,74	2,99
			imidakloprid	0,13	0,894	0,989	-2,21	2,46

\* Razlika povprečij je značilna pri stopnji 0,05.

Iz preglednice 31 lahko ugotovimo, da je glede na sredstvo pri številu mrtvih čebel v skupini sprejemnic statistično značilna razlika imidakloprid – etanol ( $p=0,024$ ), število mrtvih sprejemnic pa je za 3,63 večje pri čebelah, ki so dobile kot hrano sladkorno raztopino z imidaklopridom.

### 4.3.3 Subletalni vplivi imidakloprida

Pri analizi subletalnih vplivov imidakloprida smo analizirali vpliv imidakloprida in varoze čebel na spremenljivko prenos. Postopek računanja te spremenljivke je prikazan v poglavju 3.3.2.

Preglednica 32: Število parov matičnic, vključenih v test glede na spremenljivki sredstvo in skupina  
 Table 32: The number of pairs in relation to feed and health of bees.

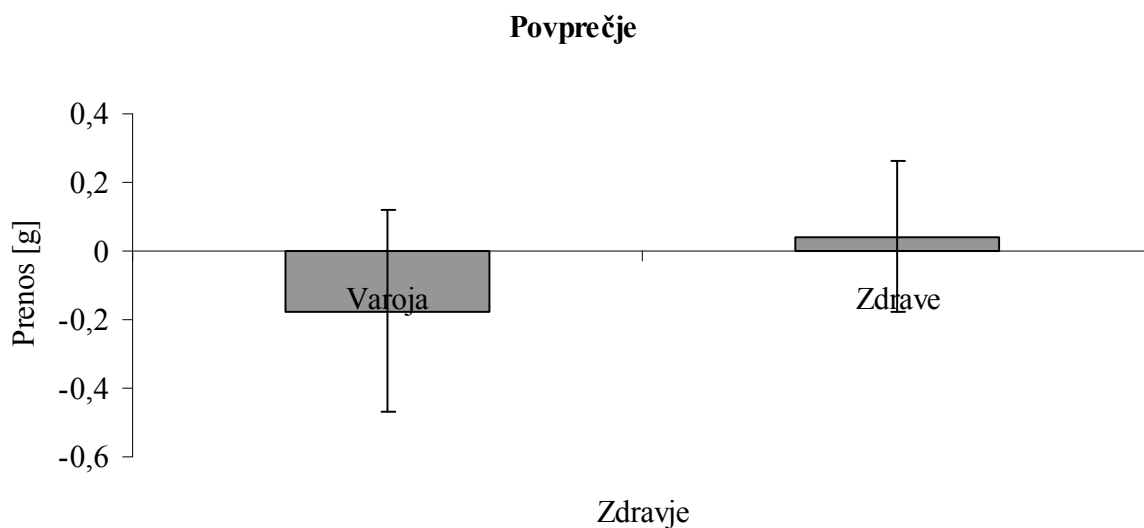
		N
Sredstvo	etanol	4
	imidaklopid	8
	sladkor	8
Skupina	Varoza	10
	Zdrave	10

Preglednica 33: Dvosmerna ANOVA vplivov vrste sredstva in skupine na izmenjavo hrane  
 Table 33: Two-way ANOVA of trophallaxis in relation to feed and health of bees

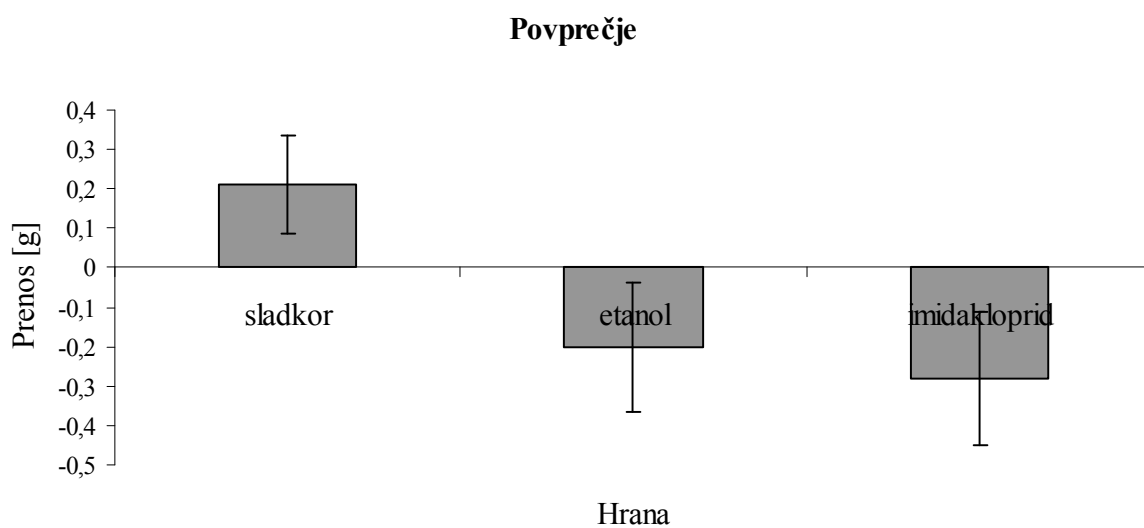
VIR VAR	VKO	SP	SKO	F	stat. znač.
korigiran model	1,314 <sup>a</sup>	5	0,263	26,928	0,000
Zač. vrednost	0,147	1	0,147	15,062	0,002
Sredstvo	1,059	2	0,530	54,260	0,000
Skupina	0,208	1	0,208	21,327	0,000
Sredstvo * Skupina	0,021	2	0,010	1,056	0,374
Ostanek	0,137	14	0,010		
Vsota	1,543	20			
korigirana vsota	1,451	19			

a  $R^2 = 0,906$  (korigiran  $R^2 = 0,872$ )

Preglednica št. 33 nam prikazuje, da imata na količino prenosa statistično značilen vpliv sredstvo, ki ga krmimo ( $F= 54,260$ ,  $p<0,001$ ) in zdravje čebel – skupina ( $F=21,327$ ,  $p<0,001$ ). Interakcija vplivov teh dejavnikov ni statistično značilna ( $F=1,056$ ,  $p=0,374$ ).



Slika 16: Izmenjava hrane v poskusnem paru v odvisnosti od zdravstvenega stanja čebel  
Figure 16: Trophallaxis in the pair of cages in relation to health of bees



Slika 17: Izmenjava hrane v poskusnem paru v odvisnosti od vrste krme  
Figure 17: Trophallaxis in the pair of cages in relation to the type of feed



Preglednica 34: Medsebojne primerjave vplivov posameznih vrst hrane na prenos hrane v paru matičnic  
 Table 34: Post-hoc comparisons of the influence of individual feed on trophallaxis

	(I) Sredstvo	(J) Sredstvo	razlika povprečij		95% interval zaupanja		
			(I-J) [g]	std. napaka	stat.znač.	spodnja meja	zgornja meja
Tukey HSD	etanol	imidaklopid	0,078	0,061	0,425	-0,080	0,236
		sladkor	-0,414*	0,061	0,000	-0,573	-0,256
	imidaklopid	etanol	-0,078	0,061	0,425	-0,236	0,080
		sladkor	-0,492*	0,049	0,000	-0,621	-0,363
	sladkor	etanol	0,414*	0,061	0,000	0,256	0,573
		imidaklopid	0,492*	0,049	0,000	0,363	0,621

\*Razlika povprečij je statistično značilna pri stopnji 0,05.

Post-hoc analize spremenljivke sredstvo kažejo, da sta vpliva etanola in imidakloprida primerljiva. Preglednica št. 34 prikazuje, da je prenos hrane večji pri skupini čebel, ki se je prehranjevala izključno s sladkorno raztopino, v primerjavi s čebelami iz skupine etanol (0,414,  $p < 0,001$ ) in v primerjavi s čebelami iz skupine imidaklopid (0,492,  $p < 0,001$ ).

Preglednica 35: Razvrstitev v podobnostne skupine glede na izmenjavo hrane zaradi uživanja različnih vrst hrane po dveh testnih statistikah

Table 35: Homogenous subsets with two test statistics by different type of feed in regard to trophallaxis

	Sredstvo	N	skupina	
			1	2
Tukey HSD	imidaklopid	8	-0,28037	
	etanol	4	-0,20250	
	sladkor	8		0,21175
	stat.znač.		0,385	1,000
Duncan	imidaklopid	8	-0,28037	
	etanol	4	-0,20250	
	sladkor	8		0,21175
	stat.znač.		0,194	1,000

Tudi razdelitev na skupine po dveh testnih statistikah, Tukeyevem HSD in Duncanovem testu, kot jo vidimo v preglednici 35, pokaže delitev na dve skupini podobnost glede na odvisno spremenljivko prenos.

#### 4.4 LETALNI IN SUBLETALNI VPLIVI ETANOLA, IMIDAKLOPRIDA IN FOSALONA

V letu 2005 smo naredili analizo rezultatov iz leta 2004 in ugotovili, da je potrebno poleg ostalih mas spremljati tudi količino porabljene hrane in jo vseskozi primerjati z izračunano porabo.

Preglednica 36: Korelacije med začetnimi in končnimi masami matičnic  
 Table 36: Correlation between the start and the end mass of cages in the experiment

		M1 S	M5 S	M1 D	M5 D
M1 S	kor. koef. (Pearson)	1	0,981**	-0,097	-0,099
	stat. znač.		0,000	0,447	0,438
	N	64	64	64	64
M5 S	kor. koef. (Pearson)	0,981**	1	-0,083	-0,064
	stat. znač.	0,000		0,516	0,616
	N	64	64	64	64
M1 D	kor. koef. (Pearson)	-0,097	-0,083	1	0,990**
	stat. znač.	0,447	0,516		0,000
	N	64	64	64	64
M5 D	kor. koef. (Pearson)	-0,099	-0,064	0,990**	1
	stat. znač.	0,438	0,616	0,000	
	N	64	64	64	64

\*\* Korelacija je statistično značilna (0.01, dvostranska).

Iz preglednice 36 je razvidno, da se matičnicam v poskusu masa ni statistično značilno spreminjala. Korelacije med M1 D in M5 D ter M1 S in M5 S so statistično značilne. S to povezavo smo pokazali tudi pravilnost meritev mase hrane.

Preglednica 37: Korelacija med izgubama hrane v skupinah dajalk in sprejemnic  
 Table 37: Correlation between the loss of feed in donor and receptor group

Kontrolne spremenljivke			Izguba hrane D	Izguba hrane S	Epica D
Skupina sprejemnice	Izguba hrane D	kor. koef. (Pearson)	1,000	0,442	-0,222
		stat. znač.	.	0,000	0,080
		SP	0	61	61
	Izguba hrane S	kor. koef. (Pearson)	0,442	1,000	-0,247
		stat. znač.	0,000	.	0,051
		SP	61	0	61
	Epica D	kor. koef. (Pearson)	-0,222	-0,247	1,000
		stat. znač.	0,080	0,051	.
		SP	61	61	0

Iz preglednice 37 vidimo, da obstaja statistično značilna povezava ( $r=0,442$ ,  $p<0,001$ ) med izgubo hrane v obeh skupinah (dajalke in sprejemnice). Tudi ostale povezave so na meji statistične značilnosti.

#### 4.4.1 Letalni vplivi etanola, imidakloprida in fosalona na medonosno čebelo

Preglednica 38: Število parov matičnic, vključenih v test glede na različna sredstva  
 Table 38: The number of pairs of cages in relation to different feed

Sredstvo	N
Etanol	16
Fosalon	16
Imidaklopid	16
Sladkor	16

Preglednica 39: Enosmerna ANOVA skupnega števila mrtvih čebel glede na krmljeno sredstvo

Table 39: One-way ANOVA of the total number of dead bees in the pair of cages in relation to feed

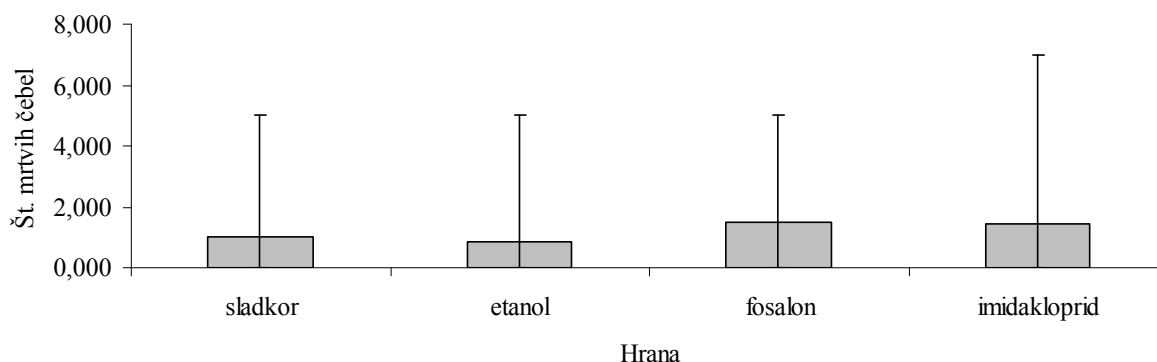
VIR VAR	VKO	SP	SKO	F	stat. znač.	moč preizkusa <sup>b</sup>
Korigiran model	4,672 <sup>a</sup>	3	1,557	0,557	0,645	0,158
Zač. vrednost	92,641	1	92,641	33,148	0,000	1,000
Sredstvo	4,672	3	1,557	0,557	0,645	0,158
Ostane	167,688	60	2,795			
Vsota	265,000	64				
Korigirana vsota	172,359	63				

a.  $R^2 = 0,027$  (korigiran  $R^2 = -0,022$ )

b. izračunano z  $\alpha = ,05$

Iz preglednice 39 je razvidno, da sredstvo nima statistično značilnega ( $p=0,645$ ) vpliva na skupno število mrtvih čebel.

Povprečje števila mrtvih čebel



Slika 18: Povprečno število mrtvih čebel z minimumom in maksimumom v paru glede na vrsto krme  
Figure 18: The average number of dead bees with minimum and maximum in the pair in relation to the type of feed

#### 4.4.2 Subletalni vplivi etanola, imidakloprida in fosalona na medonosno čebelo

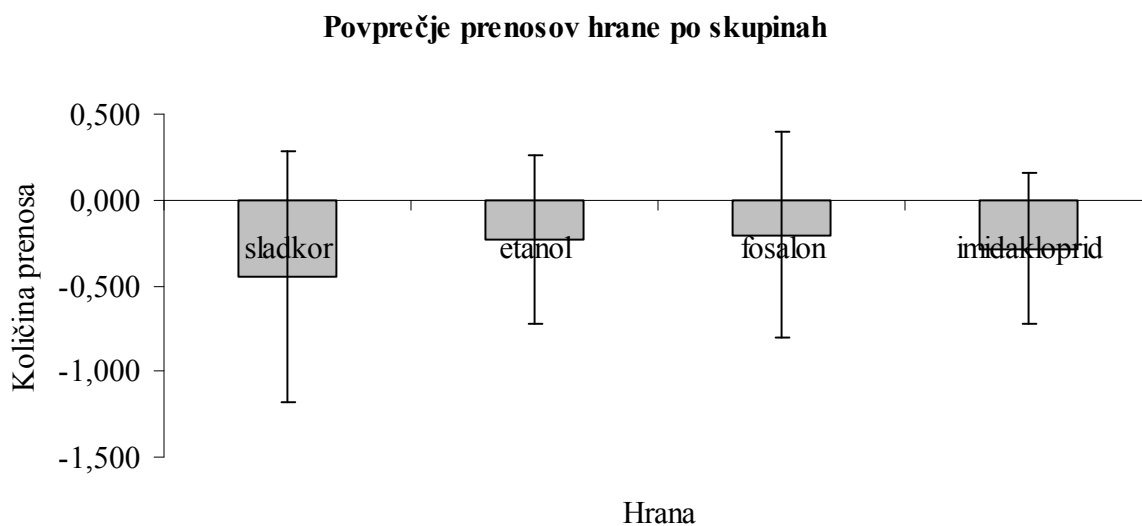
Preglednica 40: Število parov matičnic, vključenih v test glede na različna sredstva  
Table 40: The number of pairs of cages in relation to different feed

Sredstvo	N
Etanol	16
Fosalon	16
Imidaklopid	16
Sladkor	16

Analizo subletalnih vplivov smo delali na 64 parih matičnic. Spremljali smo spremenljivko prenos hrane iz matičnice s čebelami dajalkami v matičnico s čebelami sprejemnicami. Ta spremenljivka meri količino izmenjane hrane med čebelami znotraj para matičnic.

Preglednica 41: Opisna statistika za spremenljivko prenos glede na različna sredstva  
 Table 41: Descriptive statistics of trophallaxis in relation to different feed

Sredstvo	Povprečje	Std. deviacija	N
Etanol	-0,228	0,492	16
Fosalon	-0,205	0,600	16
Imidaklopid	-0,284	0,436	16
Sladkor	-0,448	0,731	16
Skupaj	-0,291	0,570	64



Slika 19: Povprečja prenosov krme v odvisnosti od vrste krme v gramih  
 Figure 19: The average level of trophallaxis in relation to the type of feed (gram)

Preglednica 42: Enosmerna ANOVA spremenljivke prenos glede na vrsto sredstva  
 Table 42: One-way ANOVA of trophallaxis in relation to the type of feed

VIR VAR	VKO	SP	SKO	F	stat. znač.
Korigiran model	0,575 <sup>a</sup>	3	0,192	0,578	0,631
Zač. vrednost	5,425	1	5,425	16,361	0,000
Sredstvo	0,575	3	0,192	0,578	0,631
Ostanek	19,897	60	0,332		
Vsota	25,897	64			
Korigirana vsota	20,472	63			

a  $R^2 = 0,028$  (korigiran  $R^2 = -0,020$ )

Preglednica 43: Dvosmerna ANOVA spremenljivke prenos glede na porabljeno hrano in različna sredstva  
 Table 43: Two-way ANOVA of trophallaxis in relation to the consumption of feed and type of feed

VIR VAR	VKO	SP	SKO	F	stat. znač.
Korigiran model	12,492 <sup>a</sup>	4	3,123	23,092	0,000
Zač. vrednost	15,170	1	15,170	112,164	0,000
Izguba D	11,917	1	11,917	88,112	0,000
Sredstvo	4,701	3	1,567	11,585	0,000
Ostanek	7,980	59	0,135		
Vsota	25,897	64			
Korigirana vsota	20,472	63			

a  $R^2 = 0,610$  (korigiran  $R^2 = 0,584$ )

Glede na rezultate iz leta 2004 smo v letu 2005 spremljali tudi izgubo/porabo hrane iz epice. Ta spremenljivka se je pokazala kot pomembna kovariata v poskusu, saj je z njeno vključitvijo v poskus postala bolj jasna tudi vloga spremenljivke sredstvo.

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

V pregledu literature smo ugotovili, da so ugotovitve različnih znanstvenikov o vplivu insekticidov na medonosno čebelo (*Apis mellifera* L., 1758) zelo različne. Nekateri navajajo vplive insekticidov na medonosne čebele že pri izredno majhnih koncentracijah insekticidov, drugi pa navajajo višje koncentracije. Rezultati naših raziskav se nahajajo v sredini med prvimi in drugimi.

### 5.1 PROBIT ANALIZA

Računski postopek je prikaz računanja probita kot ga delamo, če nimamo na voljo modula v statističnem programu. Če rutinsko izvajamo takšne analize, je modul za probit zelo koristen, predvsem zaradi avtomatske detekcije heterogenosti in njeno korekcijo. Pri računanju probit vrednosti je cilj doseči čim večjo linearizacijo podatkov s pomočjo logaritmiranja. To nam je v nalogi tudi uspelo. Slika 9 prikazuje, da smo podatke, ki prikazujejo eksponentni trend, uspeli linearizirati, saj vrednosti ne odstopajo preveč od premice. Vrednosti za LD 50 nismo ugotavljali, saj glede na podatke o anatomiji čebele (Babnik in sod., 1998) in sprejemu hrane pri aktivni snovi fosalon čebelam nismo krmili hrane z ustrežno koncentracijo (Thompson, 2001). Predvidoma bi morali krmiti 10-15 % raztopino, odvisno od odvzema krme zato bi bila v dani situaciji potrebna ekstrapolacija podatkov, kar pa je s stališča statistike sporno. Ta tipalni poskus nam je vseeno pokazal koncentracijo fosalona (0,002 %) pri kateri so bili letalni vplivi zanemarljivi in omogoča preučevanje subletalnih vplivov te aktivne snovi.

### 5.2 LETALNI IN SUBLETALNI VPLIVI GLIFOSATA

Glifosat je aktivna snov v totalnih herbicidih, ki na splošno ne velja za posebej nevarnega za čebele. Pri pripravkih na osnovi aktivne snovi glifosat navadno niso navedeni podatki o toksičnosti za čebele. Ta aktivna snov je bila izbrana za poskus zaradi zastrupitve pri g. Blejcu leta 2004 (Hribar, 2004). V poskusu so bile uporabljene velike koncentracije glifosata, da bi simulirali podobno situacijo, kot je bila v primeru zastrupitve pri g. Blejcu. Takrat je šlo za zanos FFS iz škropljenja po strnišču na sosednje polje, na katerem je cvetela ajda. Pred panji je bilo ogromno mrtvih čebel oziroma takih, ki so še komaj lazile.

Ugotavljali smo, ali obstaja statistično značilna korelacija med začetno (M1) in končno (M5) maso posamezne matičnice. V vseh testih začetne in končne mase matičnice smo ugotovili zelo veliko stopnjo korelacije. V tem specifičnem testu je bila povezava v skupini dajalk 0,970 ( $p < 0,001$ ), v skupini sprejemnic pa 0,996 ( $p < 0,001$ ). Ta podatek je zelo pomemben za nadaljnje rezultate testa, saj dokazuje, da se masa matičnice skoraj ne spreminja. Matičnice so iz lesa in bi se jim zaradi velike relativne zračne vlažnosti, polite hrane ali morebitnih iztrebkov lahko spreminjala masa, kar bi zelo vplivalo na rezultate meritev mase čebel. Hkrati je ta statistično značilna korelacija tudi dober pokazatelj točnosti in ponovljivosti dela na tehtnici.

Pod pojmom letalni vplivi razumemo umiranje oziroma pogin čebel. Ta proces je v naravi oziroma v čebelji družini vseskozi prisoten. Tudi na bradi panja oziroma pred njo lahko opazimo mrtve čebele, ki so jo čistilke odstranile iz panja. Ta pojav je v kletkah še bolj opazen, ker mrtvice ostajajo znotraj kletke. Kletka omogoča tudi štetje mrtvic. Spremljanje letalnih učinkov sredstev je v naših poskusih predstavljalo sekundarno nalogo, saj smo primarno iskali subletalne učinke. Smrt posamezne čebele v poskusu je lahko rezultat enega ali večih vzrokov:

- strupenosti sredstva,
- različne dovzetnosti čebel za strupe,
- ravnanja s čebelami pri lovljenju in
- stresne situacije zaradi osamitve skupine od čebelje družine.

Statistično značilna korelacija, kot jo vidimo v preglednici 11 v poglavju 4.2.2, ustreza situaciji, ki je prikazana na sliki 7 v poglavju 3.2.5. Zaradi širjenja vpliva aktivne snovi obstaja statistično značilna korelacija ( $r=0,662$ ,  $p<0,001$ ) med številom mrtvic v skupini dajalk in skupini sprejemnic.

Podatke smo naknadno obdelali z ANOVA, kot je prikazano v preglednici 13. Ta analiza je pokazala, da je izmed dejavnikov, vključenih v analizo, statistično značilen le vpliv dejavnika sredstvo ( $p<0,001$ ). Vpliva dejavnikov prisotnosti varoze ( $p=0,974$ ) in interakcije obeh dejavnikov ( $p=0,778$ ) nista statistično značilna.

Nato smo opravili še enosmerno ANOVA na isti populaciji samo z dejavnikom sredstvo, ki se je zopet izkazal za statistično značilnega ( $p<0,001$  – glej preglednico 14). Na osnovi te ANOVA smo naredili tudi post-hoc analize oziroma kontraste na osnovi Tukeyevega HSD.

Na osnovi te statistike sta bili generirani dve skupini s podobnimi učinki glede na število mrtvih čebel, in sicer skupina 1: sladkor, etanol in glifosat 1 ter skupina 2: glifosat 2 in glifosat 3.

Če podrobneje pogledamo rezultate etanola, vidimo, da je v obeh primerih v povprečju povzročal najmanj mrtvih čebel. To potrjuje navedbe iz poglavja 4, da občasno etanol ne zavre prenosa hrane, ampak ima druge učinke. V tem primeru lahko razumemo zgornje rezultate tudi tako, da je del smrti povzročen tudi zaradi stresa, ker so bile čebel zaprte v kletkah. Tega je v primeru etanola nekoliko manj, zato lahko govorimo celo o nekem poživljajočem učinku, ki je sicer značilen za sladkorne raztopine z dodatkom etanola v koncentraciji približno 1 % (Kandolf, 2003).

Subletalne vplive smo merili s spremenjenim prenosom hrane po 24 urah od čebel v skupini dajalk v skupino sprejemnic. Glede na predhodne poskuse (Kandolf, 2003) smo določili dve kontrolni skupini. Prva je dobivala sladkorno raztopino, druga pa sladkorno raztopino s 5 % etanola. Rezultati skupine, ki je kot hrano prejemale sladkorno raztopino,



so v tem poskusu merilo neovirane izmenjave hrane. Rezultati druge skupine, ki je za hrano prejemala sladkorno raztopino s 5 % etanola, naj bi predstavljala zmanjšano izmenjavo hrane (Kandolf, 2003). Skozi naše poskuse pa sladkorna raztopina s 5 % etanola ni vedno zmanjšala prenosa. Občasno se je dogajalo, da je imela takšna raztopina tudi stimulativen učinek na izmenjavo hrane. Za dokaz prisotnosti subletalnih vplivov bi morala testna raztopina (sladkorne raztopine z različnimi koncentracijami glifosata) pokazati rezultate, ki bi se statistično značilno ujemali z rezultati prenosa hrane pri etanolu.

Podobno kot pri analizi letalnih vplivov tudi pri analizi subletalnih vplivov dejavnika varoza ( $p=0,416$ ) in interakcija varoze in sredstva ( $p=0,238$ ) nista imela statistično značilnih vplivov na prenos oziroma izmenjavo hrane. Edini statistično značilen vpliv na prenos hrane je imel dejavnik sredstvo ( $p<0,001$ ), zato smo v nadaljevanju analizirali le-to spremenljivko.

Pred testi smo preverili povezavo oziroma tok hrane od dajalk k sprejemnicam. Ta korelacija (glej preglednico 18) ni statistično značilna ( $r=0,86$ ,  $p=0,404$ ). Tudi ob izločanju parov matičnic z večjim številom mrtvic (glej preglednice 19, 20, 21) nismo uspeli zaznati statistično značilnih prenosov. Zaradi velikih koncentracij glifosata v raztopinah glifosat 2 in glifosat 3 je bila večina vplivov letalnih.

Hkrati rezultati kontrastov kažejo, da poskus v smislu zaznavanja subletalnih vplivov ni povsem uspel (testi zaznajo razlike, vendar le-te niso statistično značilne). Pri skupini, ki smo jo krmili s sladkorno raztopino brez dodatkov, smo zaznali največji prenos. Pri kontrolni skupini z dodatkom etanola smo sicer zaznali za 0,14507 g manjši prenos, vendar pa ta razlika ni statistično značilna. Prav tako nismo zaznali statistično značilnega zmanjšanja prenosa v primerjavi s skupino glifosat 1. To informacijo še bolje prikaže preglednica 25, kjer smo poleg Tukeyevega HSD uporabili tudi Duncanov test. Ta je za razliko od Tukeyevega HSD rezultate razdelil v tri skupine, in sicer:

- skupina 1: glifosat 2 in glifosat 3
- skupina 2: glifosat 1 in etanol ter
- skupina 3: etanol in sladkor.

Ta razdelitev bi v primeru statistične značilnosti bila blizu našim začetnim trditvam, sladkorna raztopina – standard za neovirano trofalakso, etanol in testirana substanca s primerljivimi letalnimi in subletalnimi učinki.

Glede na slabše fiziološko stanje čebeljih družin, od katerih ne glede na različne stopnje okužbe z varozo nobena ni preživela zime, so rezultati pričakovani. V primeru fiziološko slabših čebel, ki so na stojišču z veliko relativno zračno vlago v jeseni dobile še nose mavost, so bile te čebele nesposobne presnoviti tako velike količine moteče aktivne snovi. Zelo poučen je tudi podatek o tem, da je bilo najmanj smrti pri skupini, ki je

prejemala etanol v hrani, kar pomeni, da je etanol deloval kot blažilec stresa v čebelji družini.

### 5.3 LETALNI IN SUBLETALNI VPLIVI IMIDAKLOPRIDA

Tudi pri testu, ki je natančneje opisan z rezultati v poglavju 4.3.1, smo ugotovili, da masa matičnic ni motila tehtanja čebel, kar dokazuje močna statistično značilna korelacija ( $r=0,989$ ,  $p<0,001$  za dajalke in  $r=0,998$ ,  $p<0,001$ ) med začetno in končno maso matičnic. Korelacija med številom mrtvih dajalk in številom mrtvih sprejemnic ni bila statistično značilna ( $r=0,382$ ,  $p=0,093$ ). Zaradi tega smo pri ANOVA analizirali tako posamezni števili mrtvih čebel kot skupno število mrtvih čebel v paru.

Spremenljivka sredstvo je imela statistično značilen vpliv ( $p=0,017$ ) na število mrtvih čebel v skupini sprejemnic. Dejavnik skupina je imel statistično značilen vpliv na obe posamezni skupini (po vrsti dajalke  $p=0,035$  in sprejemnice  $p=0,039$ ) ter skupno število mrtvih čebel ( $0,017$ ). Interakcija med dejavnikoma sredstvo in skupina ni statistično značilna (po vrsti mrtve skupaj  $p=0,235$ , sprejemnice  $p=0,510$  in dajalke  $p=0,254$ ). Zadnja informacija je zelo zgovorna, saj govori o tem, da toksično sredstvo in prisotnost varoze delujeta ločeno in ne kot povezana dejavnika. Enako velja za analizo subletalnih vplivov, kjer sta bila statistično značilna vpliva dejavnika sredstvo ( $p<0,001$ ) – prisotnost imidakloprida in varoza ( $p<0,001$ ). Vpliv interakcije ni bil statistično značilen ( $p=0,374$ ) tudi pri analizi subletalnih dejavnikov. Do odsotnosti statistično značilne interakcije je prišlo navkljub popolni dvofaktorski zasnovi poskusa.

Če bi v prihodnjih podobnih poskusih prišli do podobnih rezultatov, bi to lahko nakazovalo dva pomembna napotka. Prvega čebelarjem, naj pred kazanjem s prstom na morebitne ostanke neonicotinooidov v sladkorju za krmljenje raje sami dobro očistijo čebelje družine varoj. Drugega pa predvsem kmetijski stroki in kmetijski inšpekciji, da naj v primeru suma na zastrupitev ločeno od okužbe z varozo čebel (*Varroosis*) preuči delovanje aktivne snovi na čebele, ki kažejo znake zastrupitve. Predvsem v opozorilo čebelarjem navajamo dejstvo, da je prisotnost imidakloprida že v izredno nizkih koncentracijah imela statistično značilne subletalne vplive (primerjava izmenjavo hrane s sladkorjem  $p<0,001$ , primerjava z uživanjem etanola ni dala statistično značilnih razlik –  $p=0,425$ ). Te poskuse bi bilo potrebno ponoviti v večjem obsegu, da bi z večjo gotovostjo lahko dajali takšne izjave, vendar pa so s tem poskusom ti vplivi postali bolj znani.

### 5.4 SUBLETALNI VPLIVI IMIDAKLOPRIDA IN FOSALONA

Tudi v tem poskusu se matičnicam masa ni statistično značilno spreminjala (korelacija mas v skupini dajalk  $r=0,990$ ,  $p<0,001$ , v skupini sprejemnic pa  $r=0,981$ ,  $p<0,001$ ). Preglednica 37 daje zelo poučne rezultate, saj kaže statistično značilno korelacijo med izgubo hrane v skupinah dajalk in sprejemnic ( $r=0,442$ ,  $p<0,001$ ). Ti rezultati pomenijo, da lahko na osnovi porabljene hrane v skupini dajalk določimo tudi okvirno porabo hrane v skupini sprejemnic. Predvsem statistična značilnost povezave je zelo vzpodbudna in skladna s

predpostavkami v začetnih hipotezah, kaže pa tudi na napredek, ki je nastal pri dodelavi metode ugotavljanja vplivov raznih kemikalij na izmenjavo hrane.

Analiza letalnih vplivov je pokazala, da sredstvo ni imelo statistično značilnega vpliva na število mrtvih čebel (glej preglednico 39,  $p=0,645$ ). V poskus sta bili vključeni aktivni snovi imidakloprid in fosalon. Obe smo dodali v takšnih koncentracijah, da ne bi povzročali preveč mrtvih čebel, zato je odsotnost letalnih vplivov v skladu s pričakovanji.

Pri analizi subletalnih vplivov so bili rezultati v skladu z našimi izhodišči. Iz preglednice 43 je razvidno, da je vpliv dejavnika sredstvo statistično značilen ( $p<0,001$ ), če je v poskus kot kofaktor vključena tudi izguba mase dajalk. Preglednica 42 prikazuje, da vpliv dejavnika sredstvo ni statistično značilen, če izgube mase dajalk ne vključimo v poskus. Ta spremenljivka prikazuje porabo posameznega sredstva in pove, koliko hrane so čebele iz skupine dajalk zaužile. V tem se nadalje skrivajo tako podatki o toksičnosti posamezne snovi, kot o njeni privlačnosti oziroma repelentnih učinkih. Pri čebelah, ki zaužijejo večjo količino aktivne snovi, so subletalni učinki večji.

## 5.5 SKLEPI

Rezultati poskusov so zelo poučni in prinašajo nekaj novih ugotovitev. Ena izmed glavnih novosti, ki jih prinaša delo, je uporaba trofalakse kot merila subletalnih vplivov pri medonosni čebeli (*Apis mellifera* L., 1758), saj se s tem veča nabor možnih testov subletalnih učinkov (Pham – Deleque in sod., 2002; Ramirez – Romero in sod., 2005). Kot pomembnejšo ugotovitev analiz lahko zaključimo tudi, da je čebela zelo primeren biomarker, saj je zaradi svoje majhnosti (povprečne mase okrog 100 mg) zelo občutljiva za zaznavanje nevarnih kemičnih snovi iz narave ali v laboratorijskih testih.

V primeru analize letalnih in subletalnih vplivov glifosata na čebele smo ugotovili, da je zanje zelo nevarno, če pridejo v stik s škropivom z veliko koncentracijo glifosata (4-8 L/ha Glyphogana). Takšna koncentracija se pogosto uporablja za čiščenje plevelov na strnišču. Kadar se na njivi pojavljajo zelo trdovratni pleveli, manjše koncentracije (1-2 L/ha) glifosatnih pripravkov ne zadoščajo oziroma učinek zatiranja plevelov ni zadovoljiv. Zaradi tega se poveča hektarski odmerek, poleg tega pa se strnišča škropi v obdobju, ko so pleveli še vitalni, saj pride le tako do zadostnega prenosa aktivne snovi po rastlini plevela. To se izvaja navadno avgusta, ko zaradi nekoliko manjših temperatur in večje količine padavin rastline intenzivneje rastejo. Mesec avgust je zelo pomemben za pripravo čebel na zimo, predvsem zaradi zbiranja cvetnega prahu in manjših količin nektarja, ki ju iščejo na pašnikih in travnikih z belo deteljo (*Trifolium repens* L.) in glavinci (*Centaurea* spp.) ter na poljih ajde (*Fagopyrum esculentum* Moench.) avgusta. Na njivah je nekaj paše tudi na plevelih na strniščih, predvsem čebele privlačijo dresni (*Polygonum* spp.). Ob kemičnem čiščenju strnišč, predvsem ob napačnem času dneva ali ob bolj vetrovnem vremenu, so čebele v veliki nevarnosti, da pridejo v stik s FFS. Če gre v tem primeru še za močno koncentracijo, je zastropitev neizogibna.

Kmetijska praksa kemičnega čiščenja strnišč naj bi bila čim redkejša; če se le da, bi bilo potrebno pridelovalcem poljščin priporočiti setev strniščnih dosevkov ali ozelenitev, ki sami čistijo njivo in s svojo rastjo preprečujejo pojav prerazmnožitve plevelov na njivah. Ugotovili smo, da učinki manjše koncentracije (1,2 L/ha) na spremljanih znakih niso odstopali od učinkov krmljenja z navadno sladkorno raztopino ali sladkorno raztopino s 5 % etanola. Vsekakor lahko na osnovi ugotovljenih rezultatov damo priporočilo, da bi se pri uporabi totalnih glifosatnih herbicidov delalo z manjšimi koncentracijami, če obstaja nevarnost kontakta s čebelami.

Zelo pomembno dejstvo je detekcija subletalnih vplivov pri nizkih koncentracijah insekticidov. Pri uporabi imidaklopridnih insekticidov so se že dolgo pojavljali sumi o letalnih učinkih, ki so dokaj logični in pričakovani. Manjša skupina čebelarjev in čebelarskih znanstvenikov je trdila, da poleg letalnih znakov zastupitve z imidaklopridom prihaja tudi do subletalnih učinkov imidakloprida, ki niso vedno povezani z letalnimi učinki. Primer takšnih subletalnih učinkov smo uspeli pokazati v manjšem obsegu tudi v naših poskusih. Imidakloprid smo uporabili na zimskih in letnih čebelah. Pri obeh skupinah smo ugotovili značilne učinke, rezultati pa kažejo, da so zimske čebele, kar se letalnih učinkov tiče, bolj občutljive za čebelje bolezni.

V slovenski literaturi zasledimo zelo malo objavljenih domačih znanstvenih prispevkov o subletalnih učinkih fitofarmacevstskih sredstev. Rezultati, prikazani in pojasnjeni v poglavjih 4 in 5, v določeni meri prikazujejo izmerjene subletalne učinke. Merjenja in analize sprememb smo se lotili zato, ker je trofalaksa eden izmed najpomembnejših mehanizmov, ki ustvarjajo in vzdržujejo združbo, ki jo imenujemo čebelja družina. Njeno pomembnost lahko enačimo s prisotnostjo feromonov v čebelji družini. Hkrati pa rezultati dajejo informacijo o vplivih FFS na kranjsko sivko (*Apis mellifera carnica* Poll., 1879), na populacijo čebel na območju Republike Slovenije, ki se jo je država v Sklepni listini pogodbe o pristopu k Evropski uniji 2003 zavezala zavarovati.

Ob izvajanju poskusa smo razmišljali tudi o nadgradnji poskusov, ki so sedaj temeljili na spremembah mase. Možne bi bile individualne meritve prenosa hrane oziroma trofalakse, ki se izvajajo v individualnih kletkah. Prav tako bi bilo možno meriti koncentracijo FFS v vsebini prebavil čebel s HPLC. Z analizo video posnetkov bi bilo možno spremljati čase trajanja izmenjave hrane pri različnih snoveh. Te čase bi lahko korelirali z izmenjano količino hrane pri izmenjavi. Prav tako bi bilo smiselno pri izbiri čebel, ki bi jih dali v kletke, uporabiti še faktor starosti posameznih čebel. Stopnja izmenjave hrane je odvisna tudi od starosti čebel in njihove vloge v čebelji družini.

Subletalni učinki FFS na trofalakso verjetno niso edini subletalni učinki FFS na medonosno čebelo. Nedvomno obstaja še veliko drugih mest oziroma znakov na čebelah, kjer bi bila možna detekcija subletalnih vplivov. Na področju vedenja se subletalni učinki FFS lahko kažejo tudi v spremembi plesnega vedenja čebel, ki je eden izmed pogojev, da do izmenjave hrane sploh pride. Pašne čebele morajo ostalim članicam družine sporočiti,

kje se paša nahaja, da zaradi večje količine nabrane hrane pride do izmenjave hrane v večjem obsegu.

Vprašanje zaznavanja subletalnih vplivov je zelo pomembno z različnih vidikov. Poleg neposrednih letalnih in subletalnih vplivov FFS na čebele se takoj pojavi vprašanje o vplivih teh FFS na človeka. Ena izmed aktivnih snovi (fosalon), ki smo jo uporabili v testu, je v tem času že bila prepovedana zaradi negativnih učinkov na ljudi. Tudi neonikotinoidni insekticidi so v letu 2008 v Republiki Sloveniji doživeli začasno prepoved zaradi zastrupitve čebel v času setve koruze. Ker je medonosna čebela eden izmed bioindikatorjev in je njen obstoj zelo pomemben za človeka, moramo vsako zastrupitev čebel vzeti kot resno opozorilo za zdravje ljudi. Pri interpretaciji rezultatov in njihovi nevarnosti za človeka moramo upoštevati tudi različno anatomijo ne preveč sorodnih živalskih vrst, predvsem pa zelo velik pretvorbeni faktor (približno  $10^6$ ) zaradi razlik v masi odraslega človeka in odrasle čebele delavke.

Dopustiti moramo tudi možnost, da je zastrupitev čebel lahko tudi strokovna napaka čebelarja pri izbiri stojišča za dovoz ali napačen termin dovoza oziroma odvoza čebel v primeru čebelarjev prevažalcev. Tudi čebelarji, ki imajo čebele na stalnem mestu sredi intenzivnih kmetijskih površin, se morajo ves čas zavedati tveganja, ki ga predstavlja čebelarjenje na določeni lokaciji. Veliko bolj verjetno pa gre pri zastrupitvah za strokovne napake uporabnikov FFS ali pa za premajhno zavedanje tistih, ki izdajajo dovoljenja za promet s FFS.

Ob tem je potrebno dodati, da je proizvodnja hrane in krme za živali zelo visoko na prioritetni listi, da omogoča preživetje tako tistim, ki hrano uživajo, kot tistim, ki proizvajajo hrano kot vir dohodka. Zaradi teh dejstev je pritisk zainteresiranih strani na registracijo obstoječih in novih FFS razumljiv. Tudi čebelarji se morajo ob vsem spoštovanju do skrbi za čebele zavedati, da je proizvodnja hrane zahteven proces, pri katerem velik končni pridelek ni sam po sebi umeven.

## 6 POVZETEK (SUMMARY)

### 6.1 POVZETEK

Medonosna čebela (*Apis mellifera* L., 1758) je eden izmed najpomembnejših opraševalcev med žuželkami (Insecta). Zaradi svoje majhnosti je posamezen osebek zelo hitro podvržen delovanju različnih kemičnih snovi, tudi FFS. Pri proizvodnji varne hrane navadno spremljamo predvsem koncentracije FFS, ki bi bile lahko nevarne ljudem, manj pozornosti pa je namenjene vplivu na manj opazne člane ekosistemov. Pri socialnih žuželkah je razvitih več različnih kompleksnih oblik vedenja. Zaradi tega je medonosna čebela zelo primeren bioindikator sprememb, ki so lahko nevarne tudi človeku.

V poskusu smo uporabili različne kombinacije aktivnih snovi iz FFS, z varozo različno okužene čebele ter zimske in letne čebele. Letalne in subletalne vplive glifosata, imidakloprida in fosalona na medonosno čebelo smo primerjali z znanimi učinki krmljenja čebel s sladkorno raztopino in etanolom.

Za merilo letalnih vplivov smo uporabili število mrtvih čebel v matičnicah. Subletalne vplive smo ugotavljali preko zmanjšane prenosa hrane znotraj para matičnic, kjer smo imeli v vsaki matičnici 8 čebel.

Ugotovili smo, da glifosat povzroča večje število mrtvih čebel v koncentracijah nad 1,2 L/ha v primerjavi s kontrolo. Koncentracija glifosat 1 (1,2 L/ha) ni povzročala statistično značilnih razlik v primerjavi s krmljenim sladkorjem. To nakazuje na skladnost z navedbami, da je glifosat razmeroma neškodljiva aktivna snov. Večji obseg letalnih učinkov se je začel kazati pri koncentracijah nad 2,4 L/ha, ki so v praksi tudi običajnejše. To pa že predstavlja resno nevarnost za čebele. Glede na rezultate bi bilo dobro dodatno opozoriti tako uporabnike FFS kot čebelarje o nevarnosti, ki jo predstavlja glifosat za čebele. V testu sta se vpliva glifosata in okuženosti z varojami ločila, interakcije pa niso bile statistično značilne.

Pri preizkušanju letalnih in subletalnih vplivov majhnih koncentracij imidakloprida ( $2 \times 10^{-8}$  g/L) smo ugotovili, da takšna koncentracija v primerjavi z učinki etanola daje podobne subletalne vplive – zmanjšanje količine izmenjave hrane. Te ugotovitve so skladne z ugotovitvami drugih raziskovalcev (Schmuck, 1999). Ob tem se v primeru krmljenja čebel z imidaklopridom nekoliko poveča število mrtvih čebel, vendar razlika ni statistično značilna.

Na poletnih čebelah smo preizkušali aktivni snovi fosalon in imidaklopid. Ugotovili smo, da sredstvo oziroma hrana ni dejavnik, ki bi imel statistično značilen vpliv na število mrtvih čebel, ki ga povzročata majhni koncentraciji imidakloprida in fosalona. Ugotovili smo tudi, da ob skupnem obravnavanju sredstva in porabe hrane v skupini dajalk obstajajo statistično značilni vplivi obeh dejavnikov na izmenjavo hrane oziroma trofalakso. Vpliv sredstva je značilen, če upoštevamo še količino hrane, ki jo čebela zaužije. Ta podatek je

zelo pomemben zaradi razumevanja možnih zastrupitev čebel na intenzivnih pašah, pri katerih čebele izmenjajo velike količine nove hrane, s katero se v telesu čebele kopiči vedno večja količina aktivne snovi. Takšne razmere se pojavljajo v primerih intenzivnih nektarnih paš na poljih, kot sta sončnica in oljna ogrščica, na katerih bi lahko čebele nabrale večje količine onesnaženega nektarja.

## 6.2 SUMMARY

The honey bees are one of the most important pollinators in nature. Because of their small size they are very sensitive to the presence of dangerous chemicals. When chemical residuals are monitored in food production usually concentrations dangerous to people are monitored. Less attention is being placed to the influence on other members of the ecosystems. Honey bee's sensitivity due to its small size makes it very suitable for a biomarker.

Social insects developed several complex forms of behaviour. One of them is trophallaxis or food exchange. Several chemical and mechanical signals are being spread via trophallaxis. Trophallaxis is one of the most important processes for keeping colony's coherency. We measured the change in trophallaxis as a response to several different chemicals.

Several active ingredients, honey bees of different health and winter and summer bees were included in the experiment. Lethal and sublethal effects of glyphosate, imidacloprid and phosalone were compared to the known effects of feeding sucrose solution and sucrose solution with 5 % ethanol.

The number of dead bees in the pair of cages was used as a measure of lethal effects. Reduced level of trophallaxis was used as a measure of sublethal effects.

Our research results show that glyphosate is causing an increased number of dead bees in concentrations higher than 1,2 L per ha. Feeding glyphosate 1 solution (1,2 L per ha) did not result in statistically significant increase of dead bees in comparison to feeding sucrose solution. This fact confirms the statements of glyphosate producers, that glyphosate is a relatively safe to honey bees. However higher concentrations are usually used in agricultural practice. These higher concentrations (above 2,4 L per ha) were causing significantly bigger number of dead bees in cages and present serious danger for honey bees. In view of these results beekeepers and users of herbicides should be notified of the danger glyphosate presents to honey bees. Effects of glyphosate and the health of bees were separate and their interaction was not significant.

In the test of the effects of imidacloprid and varroa infestation on winter bees we established that  $2 \times 10^{-8}$  g/L of imidacloprid results in similar reduction in trophallaxis as feeding 5 % ethanol solution i.e. a significantly reduced trophallaxis in comparison to

sucrose solution. The number of dead bees increased when bees were fed imidacloprid feed but the increase was not significant.

The effects of phosalone and imidacloprid were tested also on summer bees. The type of feed was not a significant factor. However when adding feed consumption as a covariate in the experiment the effects of the type of feed both the type of feed and feed consumption became significant. This means that besides what bees consume it is important to know how much they consume. This is very important information in the case of intensive forage in the fields such as rape or sunflower where bees could collect large quantities of contaminated nectar.



## 7 VIRI

Ambrose J.T., Atkins E.L., Avitabile A., Ayers G.S., Blum M.S., Buchmann S.L., Caron D.M., Crane E., Dadant C.C., Dietz A., Erickson E.H., Furgala B., Gary N.E., Harman J.R., Herbert E.W. Jr., Hoopgarner R.A., Killion E.E., Knox D.A., Laidlaw H.H. Jr., McCutcheon D.M., Page R.E., Rodenberg H., Sanford M.T., Schmidt J.O., Shimunaki H., Shuel R.W., Snodgrass R.E., Southwick E.E., Tew J.E., Waller G.D., White J.W. Jr., Williams J.L., Winston M.L. 1992. The hive and the honey bee. Hamilton, Dadant&Sons: 1324 str.

ANOVA, linearna regresija in korelacija. 2009.

[http://stari.ffa.uni-](http://stari.ffa.uni-lj.si/index.php/content/download/3559/13500/file/BIOM%20Vaja%206%2007-08.ppt)

[lj.si/index.php/content/download/3559/13500/file/BIOM%20Vaja%206%2007-08.ppt](http://stari.ffa.uni-lj.si/index.php/content/download/3559/13500/file/BIOM%20Vaja%206%2007-08.ppt)

Babnik J., Božič J., Božnar A., Debelak M., Gregorc A., Jenko-Rogelj M., Jelenc J., Kresal D., Meglič M., Poklukar J., Rihar J., Senegačnik J., Stark J., Strmole B., Šivic F., Vidmar U., Zdešar P. 1998. Od čebele do medu. Ljubljana, Kmečki glas: 472 str.

Bokal L., Gregori J., Grajzar F., Mihelič J., Majdič V., Hočevar J., Atelšek S., Debelak M., Humar M., Starman B., Čufer A. 2008. Čebelarški terminološki slovar. Lukovica, Čebelarška zveza Slovenije: 261 str.

Bonmatin J.M., Marchand P., Chavret R., Colin M.E. 2004. Fate of systemic insecticides in fields (imidacloprid and fipronil) and risks for pollinators. <http://web.uniud.it/eurbee/Proceedings/FullPapers/Bonmatin-extended.pdf>

Bortolotti L., Montanari R., Marcelino J., Medrzycki P., Maini S., Porrini C. 2003. Effect of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees. *Bulletin of Insectology*, 56(1): 63-67

Božič J. 1992. Socialne interakcije pašnih čebel v panju. Magistrska naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 78 str.

Božič J. 2001a. Kemična komunikacija pri čebelah.

<http://rcul.uni-lj.si/~bfbee/cic/kemkomun.htm> (30.12.2001)

Božič J. 2001b. Sporazumevanje čebel z mehanskimi dražljaji.

<http://rcul.uni-lj.si/~bfbee/cic/mehkomun.htm> (30.12.2001)

Božič J. 2008. Življenje čebel. V: Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje 1. Lukovica, Čebelarška zveza Slovenije: 112-137

Crailsheim K. 1990. Protein synthesis in the honeybee (*Apis mellifera* L.) and trophallactic distribution of jelly among imagos in laboratory experiments. *Zoologische Jahrbücher (Physiologie)*, 94: 303-312

Crailsheim K. 1991. Interadult feeding of jelly in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Journal of Comparative Physiology*, 161: 55-60

Crailsheim K. 1992. The flow of jelly in honeybee colony. *Journal of Comparative Physiology*, 162: 681-689

Direktiva Sveta z dne 15. julija 1991 o dajanju fitofarmaceutskih sredstev v promet. 1991  
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=DD:03:11:31991L0414:SL:PDF>

Elzen P.J., Lester G.E.. 2004. Compatibility of an organically based insect control program with honey bee (Hymenoptera: Apidae) pollination in cataloupes. *Journal of Economic Entomology*, 97 (5): 1513 – 1516

Farina W. M., Núñez J.A. 1991. Trophallaxis in the honeybee, *Apis mellifera* (L.) as related to the profitability of food sources. *Animal Behaviour*, 42: 389-394

Farina W. M., Núñez J.A. 1993. Trophallaxis in honey bees: transfer delay and daily modulation. *Animal Behaviour*, 45: 1227-1231

Frisch K. s v. 1965. *Tanzsprache und Orientierung der Bienen*. Berlin-Heidelberg, Springer Verlag: 578 str.

Fito Info, 2007. Priročnik FFS 2007.  
<http://www.fito-info.bf.uni-lj.si/SI/Prirocnik/akt/093.htm>, 1.1.2007

Glyphogan 480 SL. Navodilo za uporabo. 2004. Dutovlje, Karsia.

Gregorc A. 2008. Bolezni čebel. V: Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje 1. Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 143-226

Gregori J. 2002. Slovenska avtohtona pasma: Kranjska čebela (*Apis mellifera carnica*, Poll. 1879). Domžale, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko.  
[http://www.bfro.uni-lj.si/zoo/publikacije/KranjskaCebela/kranjska\\_cebela.htm](http://www.bfro.uni-lj.si/zoo/publikacije/KranjskaCebela/kranjska_cebela.htm)

Gregori J. 2009. Uvodnik. Slovenski čebelar, 2: 37-38

Hribar T. 2005. Zastrupitev čebel v Mengšu avgusta 2004. Mengšan, 2: 24

Iwasa T., Motoyama N., Ambrose J.T., Roe R.M. 2004. Mechanism for differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee (*Apis mellifera* L., 1758). Crop protection, 23 (5): 371-378

Kandolf A. 2003. Vpliv uživanja etanola na trofalakso pri medonosni čebeli (*Apis mellifera carnica* Poll.). Diplomsko naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 61 str.

Končno poročilo kmetijske inšpekcije v zadevi pomora čebel na obali in v okolici Bleda. 2004. Ljubljana, MKGP: 64 str.

Košmelj K. 2001. Uporabna statistika. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 249 str.

Kotar M. 1977. Statistične metode. Izbrana poglavja za študij gozdarstva. Probit analiza. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo: 21 str.

Kralj J., Fuchs S. 2006. Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. Apidologie, 37: 577–587

Leoncini I., Le Conte Y., Costagliola G., Plettner E., Toth A.L., Wang M., Huang Z., Be'card J., Crauser D., Slessor K.N., Robinson G.E. 2004. Regulation of behavioral maturation by a primer pheromone produced by adult worker honey bees. PNAS, 101:17561-17564

Malovrh M. 2004. Ocena tveganja imidakloprida za čebele. Ljubljana, MKGP: 34 str.

Maus C., Cure G., Schmuck R. 2003. Safety of imidacloprid seed dressing to honey bees: a comprehensive overview and compilation of the current state of knowledge. Bulletin of Insectology, 56(1): 51-57

Meglič M., Auguštin V. 2007. Varoja, čebela, čebelar. Čebelarska zveza Slovenije, Lukovica. 182 str.

Pham-Delègue M-H., Decourtye A., Kaiser L., Devillers J. 2002. Behavioural methods to assess the effects of pesticides on honey bees. Apidologie, 33: 425–432

Pravilnik o dolžnostih uporabnikov fitofarmaceutskih sredstev. Ur.l. RS, št. 62/03 in 30/2009.

<http://www.zakonodaja.gov.si> (13.12.2004 in 17.4.2009)

Pravilnik o katastru čebelje paše, čebelarskem pašnem redu, prometu s čebelami in programu napovedi medenja. Ur.l. RS, št. 94/03.  
<http://www.zakonodaja.gov.si> (13.12.2004)

Ramirez-Romero R., Chaufaux J., Pham-Delegue M-H. 2005. Effects of Cry1Ab protoxin, deltamethrin and imidacloprid on the foraging activity and the learning performances of the honeybee *Apis mellifera*, a comparative approach. *Apidologie*, 36: 601–611

Rejski program za kranjsko čebelo (*Apis mellifera carnica*, Pollmann 1879). 2005. Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije, Kmetijski inštitut Slovenije: 73 str.

Schmuck R. 1999. No causal relationship between Gaucho seed dressing in sun-flowers and the French bee syndrome. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 52, 3: 257-299

Seznam FFS. 2009. Fito Info.  
<http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/index.htm>. 30.3.2009

Sklepna listina pogodbe o pristopu k Evropski uniji 2003. 2003.  
<http://eur-lex.europa.eu/sl/treaties/dat/12003T/htm/L2003236SL.095700.htm> (29.3.2009)

Suchail S., Guez D., Belzunces L.P. 2001. Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 11: 2482-2486

Thompson H. M., Wilkins S., Battersby A. H., Waite R. J., Wilkinson D. 2005. The effects of four insect growth-regulating (IGR) insecticides on honeybee (*Apis mellifera* L.) colony development, queen rearing and drone sperm production. *Ecotoxicology*, 14: 757–769

Thompson H. M. 2001. Assessing the exposure and toxicity of pesticides to bumblebees (*Bombus* sp.). *Apidologie*, 32: 305-321

Vaughn A. W. 1985. Data evaluation record. EPA: 4 str.  
<http://www.epa.gov/pesticides/foia/reviews/103601/103601-197.pdf> (10.4.2009)

Korelacija. 2006.  
<http://sl.wikipedia.org/wiki/korelacija> (10.3.2009)

Winston M. L. 1987. The biology of honey bee. Cambridge, Massachusetts, London, Harvard University Press: 281 str.

Zakon o živinoreji. Ur.l. RS, št. 18/02.

<http://www.zakonodaja.gov.si> (13.12.2004)

## ZAHVALA

Za neprecenljivo pomoč pri izvedbi poskusov in izdelavi magistrske naloge se zahvaljujem mentorju doc.dr. Janku Božiču, univ. dipl. biol.

Za tehnično pomoč pri izvedbi poskusa se zahvaljujem Niki Fon Leben, univ. dipl. biol. Zahvaljujem se tudi predstojniku katedre za nevrotologijo prof. dr. Tinetu Valentinčiču za dovoljenje za uporabo človeških, prostorskih in materialnih virov katedre.

Andreji Kandolf, univ. dipl. biol., se zahvaljujem za deljenje izkušenj o izdelavi njenega diplomskega dela. Tatjani Mavsar se zahvaljujem za lektoriranje teksta, prof. dr. Lei Milevoj in prof. dr. Alešu Gregorcu pa za strokovne napotke pri pisanju tega dela.

Posebno zahvalo dolgujem pokojnima prijateljema, Petru Luzarju, dipl.ing.agr., za spodbujanje v času študija in doc.dr. Janezu Poklukarju, univ. dipl. ing. zoot., za pomoč in mentorstvo na začetku podiplomskega študija.

Na koncu se zahvaljujem še staršem ter Barbari in Jakobu za potrpežljivost med mojim podiplomskim študijem, sošolcem na podiplomskem študiju pa za pomoč med pripravami na izpite.

## PRILOGA A

### Naravni odpad varoj po panjih

Št. panja	Datum						Skupno št. odp. varoj
	30.8.04	3.9.04	8.9.04	23.9.04	8.10.04	15.10.04	
10	10	30	9	105	propadla	propadla	154
11	3	2	145	36	220	150	556
15	0	1	108	16	210	200	535
14	120	96	350	250	450	130	1396
13	0	3	11	9	120	150	293
20	2	3	13	190	330	130	668
6	45	34	148	156	130	90	603
7	90	49	70	110	140	130	589
8	120	65	185	250	600	140	1360
9	110	95	250	200	180	90	925
	15	12	49	95	160	100	431
1	100	120	186	250	350	220	1226
4	3	7	107	145	200	110	572
5	10	19	25	83	190	80	407
	100	59	105	85	350	propadla	699
18	130	115	600	200	160	60	1265
17	130	119	450	250	300	140	1389
2	100	89	132	200	350	150	1021
16	100	71	250	95	90	60	666
3	100	75	230	200	300	propadla	905
x3	70	37	123	100	450	180	960
x2	20	49	135	72	300	140	716
I	20	48	87	78	300	120	653
II	10	1	26	57	250	90	434
III	5	3	32	18	100	50	208
IV	10	21	250	76	90	40	487

## PRILOGA B

### Priloga B1: Poskus z imidaklopridom 2004 – skupina dajalke

Skupina	Matičnica	M1	M2	M3	M4	M5	Mrtve
Varoza	19	27,977	29,05	30,002	29,045	27,977	2
Varoza	7	26,848	27,92	28,85	27,724	26,743	0
Varoza	50	26,14	27,229	28,113	27,165	26,361	7
Varoza	51	26,525	27,553	28,509	27,352	26,526	5
Varoza	48	27,137	28,137	29,177	28,537	27,454	3
Varoza	49	31,147	32,15	33,14	32,543	31,557	4
Varoza	30	26,814	27,822	28,89	28,447	27,28	3
Varoza	32	26,95	27,923	28,943	28,475	27,335	1
Varoza	34	29,973	30,976	31,97	31,424	30,291	0
Varoza	18	26,796	27,779	28,744	28,263	27,271	4
Zdrave	42	29,625	30,656	31,405	30,297	29,443	2
Zdrave	43	30,807	31,826	32,508	31,421	30,505	0
Zdrave	44	26,521	27,482	28,11	27,087	26,31	0
Zdrave	45	27,232	28,347	29,076	27,83	27,07	1
Zdrave	47	27,139	28,124	28,861	28,073	27,084	0
Zdrave	46	27,62	28,614	29,3	28,601	27,626	1
Zdrave	36	28,619	29,649	30,4	29,91	28,896	1
Zdrave	38	26,955	27,973	28,693	28,055	27,09	3
Zdrave	40	29,228	30,27	31,017	30,324	29,299	2
Zdrave	21	29,962	31,049	31,769	31,361	30,279	2



Priloga B2: Poskus z imidaklopridom 2004 – skupina sprejemnice

Skupina	Matičnica	M1	M2	M3	M4	M5	Mrtve
Varoza	8	27,605	27,605	28,575	28,556	27,578	4
Varoza	16	26,684	26,684	27,708	27,719	26,585	4
Varoza	60	27,793	27,793	28,762	28,616	27,74	7
Varoza	61	29,048	29,048	30,017	29,843	28,986	7
Varoza	10	26,092	26,092	27,047	26,622	25,897	8
Varoza	12	24,813	24,813	25,83	25,809	24,742	2
Varoza	31	23,891	23,891	24,893	24,729	23,893	7
Varoza	33	27,395	27,395	28,417	28,331	27,38	8
Varoza	35	27,853	27,853	28,805	28,66	27,812	7
Varoza	13	25,092	25,092	26,069	25,894	24,983	7
Zdrave	62	26,082	26,082	26,858	26,831	25,95	6
Zdrave	63	27,477	27,477	28,206	28,049	27,18	3
Zdrave	64	27,528	27,528	28,251	28,148	27,266	2
Zdrave	65	28,336	28,336	29,08	28,976	28,101	2
Zdrave	5	25,709	25,709	26,439	26,457	25,56	0
Zdrave	14	27,2	27,2	27,95	27,838	26,994	3
Zdrave	37	28,547	28,547	29,306	29,131	28,399	8
Zdrave	39	27,863	27,863	28,594	28,369	27,614	4
Zdrave	41	26,868	26,868	27,646	27,373	26,609	6
Zdrave	20	27,082	27,082	27,83	27,456	26,859	8

Priloga B3: Pari čebel v poskusu z imidaklopridom v letu 2004

Sredstvo	Št. v paru	Izvor čebel
Sladkor	8+19	Biotehniška fakulteta
Sladkor	7+16	Biotehniška fakulteta
Sladkor	50+60	Biotehniška fakulteta
Sladkor	51+61	Biotehniška fakulteta
Etanol	49+10	Biotehniška fakulteta
Etanol	48+12	Biotehniška fakulteta
Imidakloprid	30+31	Biotehniška fakulteta
Imidakloprid	32+33	Biotehniška fakulteta
Imidakloprid	34+35	Biotehniška fakulteta
Imidakloprid	18+13	Biotehniška fakulteta
Sladkor	43+63	Čebelarstvo Marko Hrastelj
Sladkor	42+62	Čebelarstvo Marko Hrastelj
Sladkor	44+64	Čebelarstvo Marko Hrastelj
Sladkor	45+65	Čebelarstvo Marko Hrastelj
Etanol	46+14	Čebelarstvo Marko Hrastelj
Etanol	47+5	Čebelarstvo Marko Hrastelj
Imidakloprid	20+21	Čebelarstvo Marko Hrastelj
Imidakloprid	36+37	Čebelarstvo Marko Hrastelj
Imidakloprid	38+39	Čebelarstvo Marko Hrastelj
Imidakloprid	40+41	Čebelarstvo Marko Hrastelj

## Priloga C

### Skupine in pari matičnic v letu 2005

Skupina	Vsebina
1	sladkor
2	etanol
3	fosalon
4	imidaklopid

Pari matičnic	Skupina
16 in 38	1
32 in 62	1
18 in 61	1
46 in 41	1
50 in 17	2
42 in 35	2
21 in 64	2
5 in 40	2
20 in 43	3
19 in 65	3
51 in 39	3
10 in 34	3
49 in 12	4
7 in 31	4
44 in 33	4
45 in 60	4

## PRILOGA D

### Priloga D1: Podatki z dne 9.6.2005 – poskus z imidaklopridom in fosalonom

Skupina	Matičnica	M1	M2	M3	M4	M5	Epica	Mrtve
1	41	26,504		27,21	26,911	26,078		0
1	61	28,831		29,543	29,136	28,181		0
1	62	25,577		26,215	26,023	25,14		4
1	16	26,264		26,951	26,671	25,735		0
2	64	27,082		27,705	27,321	26,595		2
2	5	25,301		26,053	25,735	24,838		0
2	35	27,34		28,041	27,746	26,931		0
2	17	24,565		25,255	24,976	24,178		0
3	10	25,805		26,572	26,213	25,355		1
3	39	27,516		28,236	27,999	27,077		0
3	20	26,573		27,267	26,761	26,087		0
3	65	28,019		28,749	28,382	27,522		1
4	33	27,001		27,673	27,226	26,458		1
4	60	27,481		28,118	27,442	26,971		1
4	31	23,577		24,29	23,716	23,94		1
4	12	24,509		25,163	24,803	23,924		0
1	18	26,226	27,249	27,937	26,806	25,834	0,966	0
1	32	26,517	27,55	28,224	27,128	26,294	1,138	1
1	38	26,665	27,726	28,443	27,238	26,256	0,953	0
1	46	27,258	28,365	29,028	27,567	26,792	0,904	0
2	21	29,682	30,669	31,432	30,551	29,655	1,396	0
2	50	25,912	26,932	27,647	26,555	25,591	1,065	0
2	40	28,661	29,675	30,347	29,293	28,493	1,138	0
2	42	29,205	30,196	30,9	29,878	28,957	1,185	0
3	43	30,306	31,385	32,103	30,871	30,174	0,976	0
3	19	27,444	28,626	29,357	28,056	27,309	1,112	2
3	51	26,18	27,201	27,863	26,614	25,994	1,218	4
3	34	29,562	30,597	31,333	30,117	29,463	1,316	4
4	49	30,744	31,654	32,346	31,155	30,351	0,933	0
4	7	26,345	26,856	27,509	26,77	26,003	0,926	3
4	44	26,105	26,739	27,429	26,4	25,645	0,904	0
4	45	26,868	27,676	28,429	27,507	26,426	0,967	0

Priloga D2: Podatki z dne 13.6.2005 – poskus z imidaklopidom in fosalonom

Skupina	Matičnica	M1	M2	M3	M4	M5	Epica	Mrtve
1	41	26,532		27,381	27,555	26,528		0
1	61	28,613		29,422	29,614	28,634		0
1	62	25,57		26,388	26,618	25,572		0
1	16	26,18		27,035	27,110	26,192		0
2	64	27,012		27,802	27,831	27,021		1
2	5	25,147		25,947	26,056	25,22		0
2	35	27,28		28,137	28,392	27,372		0
2	17	24,484		25,315	25,501	24,568		0
3	10	25,543		26,411	26,535	25,631		0
3	39	27,276		28,104	28,157	27,363		0
3	20	26,36		27,106	27,121	26,468		1
3	65	27,857		28,708	28,721	27,967		0
4	33	26,691		27,518	27,861	26,917		0
4	60	27,339		28,09	28,216	27,352		0
4	31	23,505		24,299	24,397	23,556		0
4	12	24,401		25,211	25,265	24,405		0
1	18	26,176	27,299	28,063	26,751	26,209	0,986	0
1	32	26,622	27,723	28,565	27,447	26,53	0,989	0
1	38	26,651	27,768	28,6	27,658	26,767	1,057	0
1	46	27,236	28,354	29,17	28,1	27,239	0,902	0
2	21	29,918	30,96	31,7	31,145	30,335	1,721	0
2	50	25,794	26,884	27,689	27,036	26,129	1,219	0
2	40	28,783	29,9	30,734	30,081	29,248	1,485	0
2	42	29,208	30,314	31,112	30,424	29,57	1,402	0
3	43	30,408	31,515	32,27	31,587	30,77	1,27	0
3	19	27,591	28,657	29,439	28,988	28,129	1,515	0
3	51	26,292	27,375	28,126	27,361	26,48	1,28	0
3	34	29,652	30,772	31,512	30,852	30,055	1,535	0
4	49	30,759	31,83	32,607	31,967	30,929	1,096	0
4	7	26,325	27,342	28,039	27,42	26,507	1,016	0
4	44	25,984	27,106	27,833	27,204	26,264	1,054	0
4	45	26,908	27,978	28,692	28,095	27,093	1,159	0

Priloga D3: Podatki z dne 14.6.2005 – poskus z imidaklopidom in fosalonom

Skupina	Matičnica	M1	M2	M3	M4	M5	Epica	Mrtve
1	41	26,528		27,292	27,534	26,586		0
1	61	28,634		29,4	29,632	28,742		1
1	62	25,572		26,279	26,839	25,659		2
1	16	26,192		26,981	27190	26,27		0
2	64	27,021		27,79	28,004	27,061		1
2	5	25,22		26,002	26,13	25,263		1
2	35	27,372		28,071	28,243	27,43		1
2	17	24,568		25,392	25,57	24,714		0
3	10	25,631		26,349	26,736	25,831		0
3	39	27,363		28,142	28,341	27,506		0
3	20	26,468		27,164	26,839	26,549		0
3	65	27,967		28,725	28,942	28,044		0
4	33	26,917		27,631	27,745	26,981		1
4	60	27,352		28,086	28,196	27,453		0
4	31	23,556		24,28	24,357	23,625		1
4	12	24,405		25,196	25,438	24,478		0
1	18	26,209	27,226	27,917	27,088	26,243	0,938	0
1	32	26,53	27,494	28,185	27,194	26,639	1,006	0
1	38	26,767	27,818	28,583	27,745	26,781	0,988	0
1	46	27,239	28,32	29,165	28,248	27,3	0,899	0
2	21	30,335	31,381	32,204	31,597	30,659	1,95	0
2	50	26,129	27,194	28,055	27,384	26,4	1,427	0
2	40	29,248	30,084	30,91	30,31	29,396	1,551	0
2	42	29,57	30,616	31,379	30,88	30,018	1,805	0
3	43	30,77	31,762	32,476	31,852	30,928	1,372	0
3	19	28,129	28,974	29,671	28,951	28,128	1,484	0
3	51	26,48	27,478	28,281	27,619	26,862	1,559	1
3	34	30,055	31,02	31,712	31,032	30,257	1,567	2
4	49	30,929	31,934	32,702	31,942	30,939	1,05	0
4	7	26,507	27,54	28,182	27,565	26,605	1,049	0
4	44	26,264	27,329	28,18	27,419	26,521	1,276	0
4	45	27,093	28,164	28,899	28,316	27,34	1,342	0

Priloga D4: Podatki z dne 15.6.2005 – poskus z imidaklopidom in fosalonom

Skupina	Matičnica	M1	M2	M3	M4	M5	Epica	Mrtve
1	41	26,586		27,372	2,507	26,676		2
1	61	28,742		29,517	29,749	28,876		4
1	62	25,659		26,5	26,734	25,765		2
1	16	26,27		27,133	27,415	26,415		0
2	64	27,061		27,862	28,038	27,184		3
2	5	25,263		26,035	26,207	25,393		5
2	35	27,43		28,208	28,462	27,571		0
2	17	24,714		25,593	25,861	24,797		0
3	10	25,831		26,722	26,889	25,89		2
3	39	27,506		28,301	28,598	27,738		2
3	20	26,549		28,288	27,63	26,808		1
3	65	28,044		28,891	29,109	28,141		1
4	33	26,981		27,734	27,934	27,167		2
4	60	27,453		28,302	28,446	27,592		3
4	31	23,625		24,441	24,662	23,752		3
4	12	24,478		25,241	25,25	24,551		7
1	18	26,243	27,199	27,922	27,347	26,426	0,962	0
1	32	26,639	27,698	28,462	27,647	26,671	0,95	0
1	38	26,781	27,729	28,485	27,802	26,878	0,975	0
1	46	27,3	28,299	29,069	28,307	27,435	0,895	0
2	21	30,659	31,633	32,551	32,061	30,875	2,093	0
2	50	26,4	27,399	28,19	27,52	26,585	1,491	0
2	40	29,396	30,379	31,098	30,709	29,829	1,893	0
2	42	30,018	31,011	31,806	31,31	30,299	1,939	0
3	43	30,928	31,681	32,378	31,845	30,956	1,205	0
3	19	28,128	28844	29,542	28,873	28,102	1,373	0
3	51	26,862	27064	27,885	27,206	26,421	0,972	0
3	34	29,829	30,61	31,367	30,542	29,739	1,009	2
4	49	30,939	31,956	32,664	32,357	31,358	1,377	0
4	7	26,605	27,674	28,401	27,775	26,825	1,153	0
4	44	26,521	27,523	28,302	27,657	26,732	1,332	0
4	45	27,34	28,371	29,087	28,599	27,723	1,604	0

## Priloga E

### Panji čebelarstva Biotehniške fakultete poleti 2005





## Priloga F

### Podatki za poskus z glifosatom v letu 2004

Datum	D/S	Panj R	Št.m. R	M1 R	M2 R	M3 R	M4 R	M5 R	Mrtve R	Sredstvo	Konc.	D/S	Panj D	Št.m. D	M1 D	M2 D	M3 D	M4 D	M5 D	Mrtve D
10.11.2004	sprejemnice	V4	31	23,882	23,882	24,664	24,609	23,713	1,000	sladkor	1,00	donor	V4	30	26,836	27,834	28,612	27,548	26,666	0
10.11.2004	sprejemnice	M5	33	27,345	27,345	28,175	28,447	27,358	0,000	sladkor	1,00	donor	M5	32	26,907	27,925	28,690	27,904	26,931	0
10.11.2004	sprejemnice	M5	35	27,911	27,911	28,715	28,682	27,733	0,000	sladkor	1,00	donor	M5	34	30,021	31,052	31,821	30,795	29,874	0
10.11.2004	sprejemnice	V4	37	28,567	28,567	29,301	29,091	28,371	7,000	glifosat	3,60	donor	V4	36	29,023	30,061	30,840	30,254	29,456	7
10.11.2004	sprejemnice	V4	39	27,895	27,895	28,599	28,405	27,719	7,000	glifosat	3,60	donor	V4	38	27,448	28,331	29,086	28,745	28,005	8
10.11.2004	sprejemnice	M5	41	26,834	26,834	27,607	27,633	26,892	7,000	glifosat	3,60	donor	M5	40	29,628	30,562	31,332	30,842	29,968	4
8.11.2004	sprejemnice	M2	31	23,875	23,875	24,783	24,836	23,882	4,000	sladkor	1,00	donor	M2	30	26,818	27,845	28,638	27,740	26,836	2
8.11.2004	sprejemnice	V4	33	27,384	27,384	28,188	28,102	27,345	6,000	sladkor	1,00	donor	V4	32	27,012	28,062	28,821	27,788	26,907	5
8.11.2004	sprejemnice	V4	35	27,867	27,867	28,686	28,775	27,911	7,000	sladkor	1,00	donor	V4	34	29,949	30,990	31,691	30,901	30,021	5
8.11.2004	sprejemnice	M2	37	28,534	28,534	29,351	29,364	28,567	8,000	glifosat	3,60	donor	M2	36	28,529	29,526	30,354	29,947	29,023	3
8.11.2004	sprejemnice	M2	39	27,827	27,827	28,795	28,710	27,895	6,000	glifosat	3,60	donor	M2	38	27,035	28,016	28,917	28,404	27,448	3
8.11.2004	sprejemnice	V4	41	26,826	26,826	27,671	27,739	26,834	7,000	glifosat	3,60	donor	V4	40	29,137	30,122	30,925	30,561	29,628	7
8.11.2004	sprejemnice	V4	10	26,120	26,120	26,908	26,888	25,885	0,000	etanol	5,00	donor	V4	20	27,971	29,023	29,798	28,751	27,756	0
8.11.2004	sprejemnice	M2	8	27,608	27,608	28,673	28,424	27,384	1,000	sladkor	1,00	donor	M2	19	27,973	29,035	30,084	28,787	27,814	0
8.11.2004	sprejemnice	V4	5	25,711	25,711	26,537	26,519	25,610	4,000	sladkor	1,00	donor	V4	13(17)	25,897	26,951	27,742	26,695	25,813	4
8.11.2004	sprejemnice	M2	14	27,224	27,224	28,169	28,104	27,057	0,000	etanol	5,00	donor	M2	18	26,783	27,752	28,698	27,828	26,710	0
8.11.2004	sprejemnice	V4	16	26,666	26,666	27,539	27,578	26,581	2,000	sladkor	1,00	donor	V4	7	26,977	27,960	28,853	27,790	26,890	5
8.11.2004	sprejemnice	M2	12	24,830	24,830	25,908	25,748	24,657	1,000	etanol	5,00	donor	M2	21	30,083	31,107	32,182	31,072	30,280	0
7.11.2004	sprejemnice	V3	31	23,775	23,775	24,618	24,737	23,705	1,000	sladkor	1,00	donor	V3	30	26,885	28,225	29,012	27,687	26,688	0
7.11.2004	sprejemnice	M3	33	27,232	27,232	28,123	28,347	27,298	1,000	sladkor	1,00	donor	M3	32	27,041	28,223	29,086	28,070	27,002	2
7.11.2004	sprejemnice	M3	35	27,701	27,701	28,617	28,870	27,850	1,000	sladkor	1,00	donor	M3	34	29,972	31,255	32,088	31,026	29,968	0

Hrastelj M. 2009. Letalni in subletalni učinki imidakloprida, fosalona in glifosata pri medonosni čebeli (*Apis mellifera* L.).  
Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2009

7.11.2004	sprejemnice	V3	37	28,408	28,408	29,230	29,167	28,376	4,000	glifosat	3,60	donor	V3	36	29,106	29,939	30,738	30,175	29,390	6
7.11.2004	sprejemnice	V3	39	27,677	27,677	28,485	28,517	27,698	2,000	glifosat	3,60	donor	V3	38	27,694	28,574	29,354	28,913	28,034	2
7.11.2004	sprejemnice	M3	41	26,826	26,826	27,720	27,683	26,706	1,000	glifosat	3,60	donor	M3	40	28,973	30,357	31,270	30,794	29,800	0
29.10.2004	sprejemnice	M3	10	26,143	26,143	26,971	27,068	26,035	3,000	etanol	5,00	donor	M3	20	28,098	28,999	29,721	28,815	27,958	1
29.10.2004	sprejemnice	V3	8	27,548	27,548	28,312	28,328	27,489	3,000	sladkor	1,00	donor	V3	19	27,979	28,992	29,671	28,947	27,902	0
29.10.2004	sprejemnice	M3	5	25,782	25,782	26,575	26,556	25,594	1,000	sladkor	1,00	donor	M3	13(17)	26,003	26,980	27,726	26,752	25,839	0
29.10.2004	sprejemnice	V3	14	26,981	26,981	27,963	28,018	27,099	0,000	etanol	5,00	donor	V3	18	26,847	27,935	28,617	27,686	26,815	0
29.10.2004	sprejemnice	M3	16	26,771	26,771	27,497	27,363	26,580	5,000	sladkor	1,00	donor	M3	7	27,493	28,523	29,306	28,452	27,437	1
29.10.2004	sprejemnice	V3	12	24,764	24,764	25,512	25,523	24,701	1,000	etanol	5,00	donor	V3	21	30,234	31,282	32,003	31,363	30,439	2
29.10.2004	sprejemnice	M3	31	23,987	23,987	24,706	24,653	23,768	1,000	sladkor	1,00	donor	M3	30	26,829	27,835	28,545	27,507	26,635	2
29.10.2004	sprejemnice	V3	33	27,270	27,270	28,025	28,066	27,262	1,000	sladkor	1,00	donor	V3	32	26,831	27,915	28,600	27,661	26,774	1
29.10.2004	sprejemnice	V3	35	27,729	27,729	28,484	28,572	27,716	5,000	sladkor	1,00	donor	V3	34	29,867	30,898	31,583	30,904	29,857	0
29.10.2004	sprejemnice	M3	37	28,570	28,570	29,381	29,196	28,445	7,000	glifosat	3,60	donor	M3	36	28,426	29,420	30,216	29,631	28,754	4
29.10.2004	sprejemnice	M3	39	27,873	27,873	28,603	28,457	27,764	8,000	glifosat	3,60	donor	M3	38	26,949	27,938	28,216	28,265	27,303	6
29.10.2004	sprejemnice	V3	41	26,711	26,711	27,442	27,399	26,686	5,000	glifosat	3,60	donor	V3	40	28,953	30,030	30,808	30,310	29,525	5
28.10.2004	sprejemnice	V2	10	26,076	26,076	26,766	26,906	26,143	5,000	etanol	5,00	donor	V2	20	27,916	28,957	29,651	28,955	28,098	1
28.10.2004	sprejemnice	M2	8	27,649	27,649	28,434	28,463	27,548	3,000	sladkor	1,00	donor	M2	19	28,061	29,092	29,890	28,975	27,979	2
28.10.2004	sprejemnice	V2	5	25,634	25,634	26,343	26,655	25,782	1,000	sladkor	1,00	donor	V2	13(17)	25,985	27,027	27,695	26,846	26,003	1
28.10.2004	sprejemnice	M2	14	27,323	27,323	28,125	27,956	26,981	4,000	etanol	5,00	donor	M2	18	26,637	27,674	28,408	27,589	26,847	4
28.10.2004	sprejemnice	V2	16	26,613	26,613	27,321	27,558	26,771	3,000	sladkor	1,00	donor	V2	7	27,463	28,539	29,189	28,582	27,493	0
28.10.2004	sprejemnice	M2	12	24,805	24,805	25,565	25,534	24,764	4,000	etanol	5,00	donor	M2	21	29,955	31,002	31,753	31,155	30,234	0
28.10.2004	sprejemnice	V2	31	23,789	23,789	24,543	24,864	23,987	5,000	sladkor	1,00	donor	V2	30	26,739	27,694	28,370	27,592	26,829	3
28.10.2004	sprejemnice	M2	33	27,415	27,415	28,207	28,180	27,270	1,000	sladkor	1,00	donor	M2	32	27,034	28,052	28,800	27,774	26,831	2
28.10.2004	sprejemnice	M2	35	27,718	27,718	28,523	28,707	27,729	0,000	sladkor	1,00	donor	M2	34	29,865	30,942	31,794	30,888	29,867	1
28.10.2004	sprejemnice	V2	37	28,457	28,457	29,172	29,387	28,570	5,000	glifosat	2,40	donor	V2	36	28,336	29,345	30,066	29,706	28,899	5
28.10.2004	sprejemnice	V2	39	27,708	27,708	28,418	28,638	27,873	7,000	glifosat	2,40	donor	V2	38	26,809	27,811	28,501	28,226	27,402	5

Hrastelj M. 2009. Letalni in subletalni učinki imidakloprida, fosalona in glifosata pri medonosni čebeli (*Apis mellifera* L.).  
Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2009

28.10.2004	sprejemnice	M2	41	26,752	26,752	27,511	27,455	26,711	7,000	glifosat	2,40	donor	M2	40	29,078	30,032	30,785	30,265	29,455	3
27.10.2004	sprejemnice	V2	10	26,168	26,168	26,912	26,837	26,076	3,000	glifosat	2,40	donor	V2	11(20)	28,581	29,633	30,431	29,969	28,939	2
27.10.2004	sprejemnice	M2	8	27,593	27,593	28,329	28,524	27,649	3,000	sladkor	1,00	donor	M2	19	28,073	29,111	29,872	29,075	28,061	0
27.10.2004	sprejemnice	V2	5	25,827	25,827	26,553	26,621	25,634	1,000	sladkor	1,00	donor	V2	(13)17	25,982	27,045	27,821	26,922	25,985	3
27.10.2004	sprejemnice	M2	14	27,194	27,194	27,986	28,082	27,323	6,000	glifosat	2,40	donor	M2	9(18)	27,021	27,982	28,721	28,697	27,732	6
27.10.2004	sprejemnice	V2	16	26,655	26,655	27,418	27,486	26,613	4,000	sladkor	1,00	donor	V2	7	27,406	28,435	29,168	28,407	27,463	2
27.10.2004	sprejemnice	M2	12	24,772	24,772	25,542	25,527	24,805	8,000	glifosat	2,40	donor	M2	6(21)	30,414	31,396	32,153	31,835	30,996	8
27.10.2004	sprejemnice	V2	31	24,037	24,037	24,760	24,716	23,789	2,000	sladkor	1,00	donor	V2	30	26,999	28,042	28,792	27,778	26,739	0
27.10.2004	sprejemnice	M2	33	27,452	27,452	28,236	28,437	27,415	2,000	sladkor	1,00	donor	M2	32	27,078	28,153	28,935	28,024	27,034	2
27.10.2004	sprejemnice	M2	35	27,903	27,903	28,648	28,595	27,718	1,000	sladkor	1,00	donor	M2	34	29,972	31,017	31,787	30,868	29,865	2
27.10.2004	sprejemnice	V2	37	28,565	28,565	29,360	29,286	28,457	5,000	glifosat	2,40	donor	V2	36	28,405	29,418	30,165	29,579	28,751	3
27.10.2004	sprejemnice	V2	39	27,911	27,911	28,696	28,476	27,708	6,000	glifosat	2,40	donor	V2	38	26,842	27,884	28,597	28,100	27,342	7
27.10.2004	sprejemnice	M2	41	26,842	26,842	27,607	27,515	26,752	7,000	glifosat	2,40	donor	M2	40	29,018	30,000	30,782	30,390	29,493	3
26.10.2004	sprejemnice	M2	10	26,171	26,171	26,976	26,938	26,168	5,000	glifosat	2,40	donor	M2	11(20)	27,964	28,965	29,730	29,159	28,581	6
26.10.2004	sprejemnice	V2	8	27,539	27,539	28,442	28,547	27,593	4,000	sladkor	1,00	donor	V2	19	27,920	29,002	29,907	29,271	28,073	0
26.10.2004	sprejemnice	V2	5	25,734	25,734	26,663	26,882	25,827	3,000	sladkor	1,00	donor	V2	13(17)	25,888	26,944	27,808	27,049	25,982	1
26.10.2004	sprejemnice	M2	14	27,374	27,374	28,099	27,955	27,194	6,000	glifosat	2,40	donor	M2	9(18)	26,681	27,708	28,453	27,782	27,021	2
26.10.2004	sprejemnice	V2	16	26,664	26,664	27,555	27,489	26,655	2,000	sladkor	1,00	donor	V2	7	26,794	27,814	28,811	28,295	27,406	4
26.10.2004	sprejemnice	M2	12	24,972	24,972	25,763	25,494	24,772	8,000	glifosat	2,40	donor	M2	6(21)	30,037	31,019	31,770	31,120	30,414	5
20.10.2004	sprejemnice	M2	10	26,346	26,346	27,114	27,168	26,252	1,000	glifosat	1,20	donor	M2	11(20)	28,004	29,052	29,843	28,955	28,032	0
20.10.2004	sprejemnice	V2	8	27,832	27,832	28,707	28,943	27,768	0,000	sladkor	1,00	donor	V2	19	28,273	29,397	30,263	29,254	28,180	0
20.10.2004	sprejemnice	V2	5	25,899	25,899	26,703	26,883	25,854	0,000	sladkor	1,00	donor	V2	13(17)	26,119	27,158	27,976	27,062	26,037	0
20.10.2004	sprejemnice	M2	14	27,428	27,428	28,205	28,232	27,351	0,000	glifosat	1,20	donor	M2	9(18)	26,804	27,837	28,633	27,776	26,901	1
20.10.2004	sprejemnice	V2	16	26,886	26,886	27,713	27,886	26,804	0,000	sladkor	1,00	donor	V2	7	27,059	28,110	28,952	28,024	26,964	0
20.10.2004	sprejemnice	M2	12	25,080	25,080	25,836	25,813	24,970	2,000	glifosat	1,20	donor	M2	6(21)	30,241	31,181	32,005	31,070	30,179	2
21.10.2004	sprejemnice	M2	10	26,252	26,252	27,072	27,140	26,250	3,000	glifosat	2,40	donor	M2	11(20)	28,032	29,026	29,884	29,378	28,393	1

Hrastelj M. 2009. Letalni in subletalni učinki imidakloprida, fosalona in glifosata pri medonosni čebeli (*Apis mellifera* L.).  
Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2009

21.10.2004	sprejemnice	V2	8	27,768	27,768	28,476	28,509	27,678	1,000	sladkor	1,00	donor	V2	19	28,180	29,260	29,991	29,113	28,199	2
21.10.2004	sprejemnice	V2	5	25,854	25,854	26,651	26,886	25,829	1,000	sladkor	1,00	donor	V2	13(17)	26,037	27,095	27,921	27,102	26,067	0
21.10.2004	sprejemnice	M2	14	27,351	27,351	28,190	28,279	27,290	1,000	glifosat	2,40	donor	M2	9(18)	26,901	27,938	28,726	28,067	27,148	2
21.10.2004	sprejemnice	V2	16	26,804	26,804	27,559	27,640	26,789	4,000	sladkor	1,00	donor	V2	7	26,964	28,111	28,839	28,217	27,324	2
21.10.2004	sprejemnice	M2	12	24,970	24,970	25,688	25,667	24,921	3,000	glifosat	2,40	donor	M2	6(21)	30,179	31,208	31,876	31,355	30,449	2
6.10.2004	sprejemnice	M1	16	26,793	26,793	27,523	27,522	26,833	8,000	sladkor	1,00	donor	M1	7	26,988	28,119	28,797	28,428	27,434	1
6.10.2004	sprejemnice	M1	5	25,786	25,786	26,528	26,656	25,886	7,000	glifosat	1,20	donor	M1	6(21)	29,811	30,838	31,543	30,994	30,134	2
6.10.2004	sprejemnice	V1	10	26,189	26,189	26,967	27,157	26,240	2,000	glifosat	1,20	donor	V1	11(20)	28,119	28,932	29,726	28,938	28,031	2
6.10.2004	sprejemnice	M1	8	27,701	27,701	28,440	28,525	27,837	8,000	glifosat	1,20	donor	M1	9(18)	26,640	27,535	28,250	28,032	27,178	5
6.10.2004	sprejemnice	V1	14	27,701	27,701	28,016	28,315	27,376	3,000	sladkor	1,00	donor	V1	19	28,060	29,101	29,862	29,144	28,195	2
6.10.2004	sprejemnice	V1	12	24,933	24,933	25,728	25,908	24,968	3,000	sladkor	1,00	donor	V1	17(13)	26,023	27,109	27,878	27,105	26,059	0
18.10.2004	sprejemnice	M2	8	27,883	27,883	28,593	28,605	27,761	4,000	sladkor	1,00	donor	M2	19	28,276	29,420	30,138	29,066	28,255	4
18.10.2004	sprejemnice	M2	5	25,935	25,935	26,632	26,606	25,786	4,000	sladkor	1,00	donor	M2	17(13)	26,152	27,278	28,006	26,922	26,055	0
18.10.2004	sprejemnice	V2	14	27,460	27,460	28,374	28,565	27,372	1,000	glifosat	1,20	donor	V2	9(18)	27,092	28,092	28,898	27,743	26,747	0
18.10.2004	sprejemnice	V2	12	25,065	25,065	25,853	25,980	25,022	3,000	glifosat	1,20	donor	V2	6(21)	30,046	31,104	31,931	31,185	30,244	4
18.10.2004	sprejemnice	V2	10	26,386	26,386	27,180	27,365	26,283	0,000	glifosat	1,20	donor	V2	11(20)	28,117	29,144	30,002	29,069	27,961	0
18.10.2004	sprejemnice	M2	16	26,938	26,938	27,677	27,793	26,811	2,000	sladkor	1,00	donor	M2	7	27,385	28,526	29,242	27,955	26,984	0
5.10.2004	sprejemnice	M2	16	26,857	26,857	27,592	27,752	26,793	3,000	sladkor	1,00	donor	M2	7	26,089	28,080	28,867	28,110	26,988	0
5.10.2004	sprejemnice	M2	5	25,956	25,956	27,701	26,758	25,786	1,000	glifosat	1,20	donor	M2	21	28,856	30,890	31,586	30,717	29,811	0
5.10.2004	sprejemnice	V2	10	26,349	26,349	27,113	27,049	26,189	5,000	glifosat	1,20	donor	V2	20	26,994	29,016	29,836	29,094	28,119	1
5.10.2004	sprejemnice	M2	8	27,836	27,836	28,594	28,629	27,701	3,000	glifosat	1,20	donor	M2	18	25,515	27,591	28,334	27,676	26,640	0
5.10.2004	sprejemnice	V2	14	27,354	27,354	28,084	28,252	27,225	2,000	sladkor	1,00	donor	V2	19	27,283	29,435	30,171	29,216	28,060	0
5.10.2004	sprejemnice	V2	12	25,062	25,062	25,866	25,815	24,933	6,000	sladkor	1,00	donor	V2	17	25,125	27,084	27,825	27,179	26,023	0