



3. Delno poročilo aplikativne raziskave Optimizacija tehnologije pridelave strupa

V skladu z Uredbo o izvajanju Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2020-2022 (Uradni list RS, št. 78/19)

Izvajalec:
Čebelarska zveza Slovenije
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za strojništvo (podizvajalec)

Lukovica, julij 2022

Naslov: Delno poročilo aplikativne raziskave

Optimizacija tehnologije pridelave čebeljega strupa

Naročnik: REPUBLIKA SLOVENIJA,
MINISTRSTVO ZA KMETIJSTVO, GOZDARSTVO IN
PREHRANO
Dunajska cesta 22
1000 Ljubljana

Oznaka pogodbe: POGODBA št. 2330-20-000102

Izvajalec: Čebelarska zveza Slovenije
Brdo pri Lukovici 8
1225 Lukovica

Podizvajalci: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za strojništvo (FS), (podizvajalec)

Vodja projekta: dr. Peter Kozmus (ČZS)

Skrbnik pogodbe: Simon Golob (ČZS)

Sodelavci: Simon Golob (ČZS), dr. Andreja Kandolf Borovšak, dr. Peter Kozmus(ČZS),
Petra Stropnik (ČZS), Zlatica Kovačevič (ČZS), Ines Zajc Žunič (ČZS), doc.
dr. Andrej Žerovnik (FS); doc. dr. Miha Ambrož (FS)

Avtorji poročila: Simon Golob, dr. Peter Kozmus

Rezultati so nastali v okviru Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2020-2022 (Uradni list RS, št. 78/19), ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije.

Lukovica, 29. 7. 2022

Boštjan Noč, predsednik ČZS

KAZALO VSEBINE

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | UVOD | 8 |
| 2 | CILJI APLIKATIVNE RAZISKAVE | 9 |
| 3 | PREGLED OBJAV o čebeljem strupu in njegovem pridobivanju | 10 |
| 3.1 | TRAJANJE IN OBDOBJE PRIDOBIVANJA ČEBELJEGA STRUPA | 10 |
| 3.1.1 | Obdobje pridobivanja čebeljega strupa..... | 10 |
| 3.1.2 | Razmak med posameznimi pridobivanji čebeljega strupa..... | 10 |
| 3.1.3 | Trajanje pridobivanja čebeljega strupa | 10 |
| 3.1.4 | Ura pridobivanja čebeljega strupa | 11 |
| 3.2 | MEDSEBOJNI VPLIV ČEBELJE DRUŽINE IN PRIDOBIVANJA ČEBELJEGA STRUPA | 11 |
| 3.3 | KOLIČINA PRIDOBLENEGA STRUPA..... | 12 |
| 3.4 | KVALITETA ČEBELJEGA STRUPA | 13 |
| 4 | MATERIALI IN METODE | 14 |
| 4.1 | NAČRT DELA | 14 |
| 4.2 | IZBIRA IN PRIPRAVA ČEBELJIH DRUŽIN..... | 16 |
| 4.3 | NAPRAVE ZA PRIDOBIVANJE UPORABLJENE V RAZISKAVI..... | 17 |
| 4.3.1 | Pridobivanje strupa za sati v AŽ panju..... | 20 |
| 4.3.2 | Pridobivanje strupa v LR panju zgoraj | 20 |
| 4.4 | PRIDOBIVANJE IN OBDELAVA STRUPA | 21 |
| 4.5 | OCENJEVANJE KVALITETE OZIROMA ČISTOSTI PRIDOBLENEGA ČEBELJEGA STRUPA | 24 |
| 4.6 | OCENJEVANJE STANJA ČEBELJIH DRUŽIN | 25 |
| 4.7 | Obdelava podatkov | 25 |
| 5 | Rezultati in razprava | 26 |
| 5.1 | PRIMERJAVA MED AŽ IN LR PANJSKIM SISTEMOM..... | 28 |
| 5.2 | VPLIV TRAJANJA PRIDOBIVANJA..... | 30 |
| 5.3 | OCENA KVALITETE PRIDOBLENEGA STRUPA | 31 |
| 5.4 | VPLIV ČEBELJE DRUŽINE NA PRIDOBIVANJE STRUPA..... | 33 |
| 5.5 | VPLIV PRIDOBIVANJA STRUPA NA LASTNOSTI ČEBELJIH DRUŽIN . | 35 |
| 5.5.1 | Vpliv pridobivanja strupa na moč čebeljih družin..... | 35 |
| 5.5.2 | Vpliv pridobivanja strupa na mirnost čebeljih družin | 36 |
| 5.5.3 | Vpliv pridobivanja strupa na kvaliteto in obseg zalege..... | 37 |
| 5.5.4 | Vpliv pridobivanja strupa na zaloge hrane | 38 |
| 5.5.5 | Vpliv pridobivanja strupa na zalogo cvetnega prahu..... | 38 |

| | | |
|----------|-----------------------|-----------|
| 6 | ZAKLJUČEK..... | 39 |
| 7 | VIRI..... | 41 |

KAZALO PREGLEDNIC

| | |
|--|----|
| Preglednica 1: Spremljani parametri | 9 |
| Preglednica 2: Načrt dela-primerjava med AŽ in LR panjskim sistemom | 14 |
| Preglednica 3: Načrt dela-primerjava med AŽ in LR panjskim sistemom | 15 |
| Preglednica 4: Spremljani parametri čebeljih družin | 15 |
| Preglednica 5: priprava vzorcev za laboratorijsko analizo..... | 25 |
| Preglednica 6: Skupne in povprečne količine pridobljenega strupa | 26 |
| Preglednica 7: Skupne in povprečne količine pridobljenega čebeljega strupa | 27 |
| Preglednica 8: Primerjava v količini strupa med panjskimi sistemi | 28 |
| Preglednica 9: Vpliv trajanja pridobivanja (povprečne količine na čebeljo družino)..... | 30 |
| Preglednica 10: Vizualna ocena kvalitete čebeljega strupa glede na barvo in prisotnost nečistoč..... | 31 |
| Preglednica 11: Analiza vzorcev čebeljega strupa | 32 |
| Preglednica 12: Korelacija med količino pridobljenega strupa in lastnostmi čebeljih družin . | 34 |
| Preglednica 13: Primerjava pogostosti pojavljanja težav v čebeljih družinah | 37 |

KAZALO SLIK

| | |
|--|----|
| Slika 1: Posušen čebelji strup | 8 |
| Slika 2: Lokacija čebeljih panjev | 14 |
| Slika 3: Ocenjevanje lastnosti čebeljih družin | 16 |
| Slika 4: Elementi v notranjosti naprave | 17 |
| Slika 5: Pobiralne plošče naprave | 17 |
| Slika 6: Vrtljivi gumbi za nastavitev izhodnih impulzov | 18 |
| Slika 7: Pobiralne plošče za pridobivanje na mestu AŽ zadaj | 19 |
| Slika 8: Pobiralne plošče za pridobivanje na mestu LR zgoraj | 19 |
| Slika 9: Pridobivanje strupa na mestu AŽ zadaj | 20 |
| Slika 10: Pridobivanje strupa v LR panju zgoraj | 20 |
| Slika 11: Primer obrazca | 21 |
| Slika 12: Pridelan čebelji strup | 22 |
| Slika 13: Tehtanje vzorcev | 22 |
| Slika 14: Uporaba zaščitne opreme pri strganju strupa | 23 |
| Slika 15: Strganje strupa s steklenih plošč | 23 |
| Slika 16: Pridobljen strup lahko vsebuje tudi nečistoče | 24 |
| Slika 17: Strganje čebeljega strupa | 26 |
| Slika 18: Pridobljena količina 1 g čebeljega strupa | 27 |
| Slika 19: Pridobljena količina cca 0,5 g strupa | 29 |
| Slika 20: Primerjava med čebeljim trupom pridobljenim v AŽ in v LR panju | 31 |
| Slika 21: Količina pridelanega strupa je odvisna od številnih dejavnikov | 34 |
| Slika 22: Ena izmed spremljanih lastnosti je tudi moč čebeljih družin | 35 |

KAZALO GRAFOV

| | |
|--|----|
| Graf 1:Primerjava v povprečni količini strupa na čebeljo družino med panjskimi sistemi | 29 |
| Graf 2. Vpliv trajanja pridobivanja (poprečne količine na čebeljo družino) | 30 |
| Graf 3:Razlike v skupni količini pridobljenega strupa med čebeljimi družinami (v g)..... | 33 |
| Graf 4: Razlike v povprečni količini pridobljenega strupa na čebeljo družino na pridobivanje (v g) | 33 |
| Graf 5: Primerjava v povprečni moči čebeljih družin | 35 |
| Graf 6:Primerjava v povprečni mirnosti čebeljih družin..... | 36 |
| Graf 7. Primerjava v povprečni oceni kvalitete in obsega zalege čebeljih družin | 37 |
| Graf 8:Primerjava v povprečni oceni zalog hrane čebeljih družin | 38 |
| Graf 9:Primerjava v povprečni oceni zalog cvetnega prahu čebeljih družin | 38 |

1 UVOD

V sodobnem načinu čebelarjenja se za pridobivanje čebeljega strupa uporabljajo elektronske naprave, ki čebele dražijo z rahlimi električnimi impulzi in jih tako spodbudijo k pikanju steklene plošče. Poleg različnih izvedb naprav, panjskih sistemov in različnih mest pridobivanja v panjih, pa je količina strupa odvisna tudi od trajana in pa časa pridobivanja. Razlike v količini so izrazite tudi med posameznimi čebeljimi družinami, kar je povezano tudi z lastnostmi čebeljih družin pri katerih se čebelji strup pridobiva, V raziskavi, ki je potekala v osrednjeslovenski regiji, v občini Lukovica na 8 čebeljih družinah v AŽ in 8 v LR panjih, smo ugotavljali, kako na pridobivanje strupa vpliva trajanje pridobivanja, ter različne lastnosti čebeljih družin in kako samo pridobivanje strupa vpliva na čebelje družine in njihove spremljane lastnosti.



Slika 1: Posušen čebelji strup

2 . CILJI APLIKATIVNE RAZISKAVE

Cilji aplikativne raziskave Optimizacija tehnologije pridelave strupa:

- Ugotoviti ustrezno metodo za pridobivanje čebeljega strupa
- Ugotoviti vpliv pobiranja strupa na razvoj čebelje družine

Glede na zastavljene cilje smo v prvem letu izvajanja aplikativne raziskave, v letu 2020 spremljali pridobivanje strupa z dvema različnima napravama v dveh različnih panjskih sistemih. V drugem letu izvajanja raziskave pa smo z izbrano napravo (napravo izdelano na fakulteti za strojništvo, v nadaljevanju naprava FS), ki se je v letu 2020 izkazala kot najboljša, pridobivali strup na različnih mestih V AŽ in LR panju. V tretjem letu raziskave, v letu 2022 smo z izbrano napravo (naprava FS) in na mestih v panjih ki so se v letu 2021 izkazali kot najboljši (LR panj zgoraj in AŽ panj zadaj) na osmih čebeljih družinah v vsakem izmed panjskih sistemov pridobivali strup in o tem spremljali vpliv trajanja pridobivanja na pridelek strupa, vpliv lastnosti čebeljih družin na pridobivanje strupa, vpliv pridobivanja strupa na lastnosti in stanje čebeljih družin.

Preglednica 1: Spremljani parametri

| PODROČJE | Primerjava med | SPREMLJANI PARAMETER |
|---|--|--|
| TRAJANJE PRIDOBIVANJA ČEBLEJEGA STRUPA | 30 minut 45 minut | Količina pridobljenega čebeljega strupa Barva pridobljenega čebeljega strupa Prisotnost nečistoč v pridobljenem strupu |
| PANJSKI SISTEM | AŽ panj LR panj | Količina pridobljenega čebeljega strupa Barva pridobljenega čebeljega strupa Prisotnost nečistoč v pridobljenem strupu |
| LASTNOSTI ČEBELJE DRUŽINE | Posamezne čebelje družine na lokaciji (čd. V katerih se je strup pridobival in kontrolne čd.) | Mirnost, moč, ocena kvalitete in obsega zalege, prisotnost hrane in cvetnega prahu, druga posebna opažanja |

3 PREGLED OBJAV O ČEBELJEM STRUPU IN NJEGOVEM PRIDOBIVANJU

3.1 TRAJANJE IN OBDOBJE PRIDOBIVANJA ČEBELJEGA STRUPA

3.1.1 Obdobje pridobivanja čebeljega strupa

De Graff in sod, (2020) navajajo da se čebelji strup pridobiva v višku sezone, v času ko je število čebel znotraj družin največje ni je pridelava strupa najbolj optimalna.

Glede na podatke za območje Slovenije je to obdobje v času mesecev maj, junij in julij, kar sovпада z največjim številom čebel znotraj čebeljih družini in pa z časom aktivne pašne sezone za območje večine Slovenije. (Pušnik, 2013)

V Sloveniji se pridobivanje čebeljega strupa običajno prične s pričetkom aktivne pašne sezone v mesecu maju, pridobivanje pa traja do zaključka pašne sezone, oziroma do takrat ko se v čebeljih družinah pojavijo dolgožive zimske čebele. Razvoj čebeljih družin kranjske čebele v vseh regijah Slovenije je v spomladanskem času zelo intenziven. Število čebel znotraj posameznih družin pa je največje v mesecu maju, juniju in juliju. To je v času, ko so tudi prisotne najbolj intenzivne in gospodarsko izkoristljive paše. (Golob, 2020; Radivojac, 2010; Slovensko čebelarstvo..., 2011)

3.1.2 Razmak med posameznimi pridobivanji čebeljega strupa

Glede dolžine obdobja med posameznimi pridobivanji strupa, različni avtorji priporočajo oziroma prakticirajo različno dolga vmesna obdobja. Tako Bahreaini in sod.(2000), El-Ashhab (2013), Hussein (2019) in Rybank in sod. (1995) v svojih raziskavah prakticirajo različne intervale med pridobivanji, ki znašajo med 10 in 21 dni. V naši neposredni bližini Flanjak in sod. (2021) v raziskavi prakticira 8 dnevne razmake med pridobivanji. De Graff in sod. (2020) pa omenjajo tudi vsakodnevno pridobivanje čebeljega strupa a kljub temu priporočajo tedensko pridobivanje, z vsaj 2 do 3 dni pavze med posameznimi pridobivanji. Le to sovпада tudi z raziskavo avtorjev Mohanny in Sanad (2013) in pa Zhouv in sod.(2003) Pri katerih se je strup pridobival vsake 3 dni.

Bogdanov (2016) navaja da se pri pridobivanju strupa 3-4 krat mesečno lahko pojavi zmanjšanje obsega zalege in zmanjšanje pridelka medu za okrog 10-15%, sprememb pa ni opazil v kolikor je pogostost pridobivanja manjša in se strup pridobiva le 3-4 krat v sezoni.

3.1.3 Trajanje pridobivanja čebeljega strupa

De Graff in sod. (2020) navajajo, da je optimalni čas delovanja naprav med 30 in 60 minut. Pri tem so nekatere naprave za pridobivanje strupa že v osnovi zasnovane tako, da se po določenem času delovanja izklopijo, nekatere pa je potrebno izklopiti ročno. Omenjeni avtorji ugotavljajo tudi da količine strupa po dalj časa trajajočem neprekinjenem pridobivanju eksponentno padajo, zaradi česar daljše delovanje naprav za pridobivanje ni priporočljivo.

Po navedbah omenjenih avtorjev se največ strupa pridobi v prvih 30 minutah po vklopu naprave. V kolikor naprave delujejo več ur so v enakem času količine strupa večje če so med delovanjem prisotne pavze.

Podoben čas pridobivanja uporabljajo tudi ostali avtorji. Tako Flanjak in sod. (2021) v svoji raziskavi uporabljajo naprave ki delujejo 30 minut, enak čas trajanja pridobivanja uporablja tudi Hussein in sod. (2019).

Nekateri avtorji pa uporabljajo tudi naprave ki delujejo dlje časa, tako Nenchev in Stoichev (1997) uporabljata naprave ki delujejo med 60 in 90 minut, Rybak in sod. (1995) pa priporočajo delovanje naprav 1 uro v določenih pogojih pa tudi do 2 uri.

3.1.4 Ura pridobivanja čebeljega strupa

Čebelji strup se lahko pridobiva v različnih delih dneva. Kot navajajo De Graff in sod (2020) je potrebno paziti da se strup ne pridobiva v času intenzivnega donosa, ali v času dežju. Avtorji pa odsvetujejo tudi pridobivanje strupa v notranjosti panja v kolikor so zunanje temperature visoke, kar je verjetno povezano s pregrevanjem čebelje družine ki je posledica zunanjih temperatur in pa vznemirjenja ki ga v panju povzroči delovanje naprav za pridobivanje strupa.

Glede časa pridobivanja čebeljega strupa različni avtorji prakticirajo različna obdobja v dnevu. Tako Hussein in sod (2019) strup pridobivajo v večernih urah, Flanjak in sod (2021) izvajajo pridobivanje strupa v zgodnjih jutranjih urah (med 5.00 in 6.00 uro) ter dopoldne (med 9.00 in 10.00 uro). Rybak in sod. (1995) ugotavljajo najboljši pridelek strupa v kolikor je pridobivanje traja eno ur in se je izvajalo zgodaj zjutraj, predno so čebele pričele izletavati ali pa je pridobivanje trajalo dve uri in je potekalo sredi dneva, v času ko so čebele izletavale. Mohanney in Sanad (2013) ugotavljata da je v poletnem času najboljši čas za pridobivanje večjih količin strupa med 16.00 in 18.00 uro, za čim manjše število mrtvih čebel delavk zaradi pridobivanja strupa pa med 13.00 in 15.00 uro.

3.2 MEDSEBOJNI VPLIV ČEBELJE DRUŽINE IN PRIDOBIVANJA ČEBELJEGA STRUPA

Haggag in sod. (2015) navajajo, da na količine pridobljenega čebeljega strupa vplivajo številni dejavniki, kot so rasa čebel, starost čebel delavk, moč oziroma številčnost čebelje družine, mesec pridobivanja, prisotnost paše, agresivnost čebel ter različne metode njegovega pridobivanja.

Khodairy in Omar (2003) dodajata k temu še vpliv zalege ter vpliv zalog fermentiranega cvetnega prahu in medu v panju. Opažata pa tudi velike razlike, v količini pridobljenega strupa v odvisnosti od pašne sezone ter meseca pridobivanja. V zaključku ugotavljata pozitivno korelacijo med proizvodnjo strupa ter raso čebel, čebeljo zalego, zalogami cvetnega prahu, pašno aktivnostjo čebel ter med pokritim in nepokritim medom v satju.

Vpliv meseca pridobivanja oziroma posledično prisotnosti paše in boljšega razvoja čebeljih družin v svojem delu potrjujejo tudi Hussein in sod (2019), ki ugotavljajo, da so količine pridobljenega strupa v Egiptu največje v času 4 oziroma 6 (odvisno od regije) najbolj intenzivnih paš v spomladanskem in poletnem obdobju. Količine strupa v jesenskem obdobju pa so manjše. Podobne razlike med meseci opisuje tudi Omar (2017) ki ugotavlja da so v Egiptu količine strupa največje v mesecu avgustu ter najmanjše v novembru in februarju. Rybak in sod (1995) ugotavljajo, da so razlike med posameznimi meseci prisotne tudi na Poljskem ter, da je tam možno največje količine strupa pridobiti v mesecu juliju.

Razlog za manjše količine pridobljenega strupa Omar (2011) in Hussein (2013) pripisujeta pašnim razmeram oziroma zalogram hrane v čebelji družini. Omar (2011) v nadaljevanju ugotavlja, da na količino pridobljenega strupa vpliva predvsem prisotnost zalog cvetnega prahu v satju, ter opaza za 50,3 % manjše količine pridobljenega strupa takrat, ko čebeljim družinam cvetnega prahu primanjkuje. Opaža tudi manjše povečanje količin pridobljenega strupa po krmljenju čebeljih družin in tako po njihovi stimulaciji ter boljšem razvoju.

3.3 KOLIČINA PRIDOBLJENEGA STRUPA

Številni dejavniki pozitivno in negativno vplivajo na količine pridelanega čebeljega strupa, zato se tudi količine pridelanega strupa pri posameznih raziskavah razlikujejo.

V naši neposredni bližini, v SV delu Hrvaške so Flanjak in sod. (2021) ugotovili da je bil povprečni pridelek strupa na pridobivanja, na posamezno čebeljo družino pri zbiralnih ploščah postavljenih v notranjosti panja (nad zgornjo naklado) 0,13 g +/- 0,07g, pri zbiralnih ploščah postavljenih na žrelo panja pa 0,03 +/- 0,03 g. Največja količina pridelanega strupa po pridobivanju po čebelji družini je v omenjeni raziskavi znašala 0,25g in 0,15 g najmanjša pa 0,01 g.

Avtorji ki so opravljali raziskave v bolj oddaljenih območjih pa so pridobili naslednje količine čebeljega strupa: Nanchev in Stochiev (1997) ki sta raziskavo opravljala na Finskem omenjata količine ki so znašale med 0,039 in 0,222g na čebeljo družino na posamezno pridobivanje. Fakhim (1998) omenja da je bil v raziskavi povprečni pridelek strupa 0,026 g na čebeljo družino na posamezno pridobivanje. Bahreini in sod. (2000) so ugotovili 0,0698g na čebeljo družino na posamezno pridobivanje, Mohanny in Sanad (2013) pa 0,0185g. El-Ashhab (2013) pa pri kranjski čebelji ugotavlja povprečni pridelek 0,095g na čebeljo družino na pridobivanje, pri italijanski čebeli pa 0,083g na čebeljo družino na pridobivanje. Benton in sod. (1963) navaja da je za pridobitev 1 g čebeljega strupa potrebno strup pridobivati na 20 čebeljih družinah kar sovпада z preračunom da se povprečno pri čebelji družini pridobi okrog 0,05g čebeljega strupa na pridobivanje.

3.4 KVALITETA ČEBELJEGA STRUPA

Svež čebelji strup je brezbarvna tekočina, neprijetnega grenkega okusa. Njegov pH znaša med 4,5 in 5,5, čebelji strup vsebuje tudi med 65 in 70 % vode, suho snov pa predstavljajo predvsem beljakovine, peptidi v manjši meri pa so zastopani tudi fiziološko aktivni amini, sladkorji, fosfolipidi, encimi in alfa-aminokisljine. Čebelji strup se razmeroma hitro posuši (pri 25 C v 20 minutah), pri tem se mu zmanjša delež vode ter delež hlapljivih snovi (kompleksih etrov), njegova biološka aktivnost pa ostane razmeroma nespremenjena.

Suh čebelji strup je fin prah bele, umazano bele, do sivkaste barve. Ima dražeč specifičen vonj ter grenak do kiselkast okus. (Pušnik, 2014; Slovensko čebelarstvo ..., 2011; Bogdanov, 2016)

Bogdanov (2016) in Flanjak (2021) navajata da so v posušenem čebeljem strupu pogosto prisotne tudi druge primesi in nečistoče, kot so nektar, delci cvetnega prahu, čebelji iztrebki in panjski drobir. Večji delci so v pridobljenem prahu vidni, manjši delci in različne primesi pa posušenem čebeljem strupu dajejo neznačilno barvo. Namesto bele oziroma sivkaste barve je pridelan strup rumenkaste in rjavkaste barve kar zmanjšuje njegovo kvaliteto. Onesnaženju strupa z omenjenimi nečistočami se je potrebno pri pridobivanju čim bolj izogniti. Ker je pri pridobivanju strupa na žrelu panja večja možnost za vnos nečistoč, je možno prisotnost le teh zmanjšati s pridobivanjem strupa v notranjosti panja.

Bogdanov (2013) v nadaljevanju navaja da se kvaliteta čebeljega strupa se lahko zmanjša tudi zaradi nepravilnega skladiščenja. Oksidacija določenih snovi v čebeljem strupu namreč spremeni njegovo barvo v rumeno rjavkasto ter zmanjša učinkovitost delovanja čebeljega strupa. Avtor navaja da je najboljša oblika za ohranitev kvalitete strupa liofilizacija le tega, da pa v kolikor je strup zaščiten pred vlago in oksidacijo je lahko skladiščen tudi 5 let ali več. Kljub temu da pri tem ne izgubi svoje toksičnosti pa se mu s časom zmanjša njegova učinkovitost pri uporabi v apiterapiji.

Pušnik (2016) navaja, da je kvaliteta čebeljega strupa povezana tudi z vsebnostjo melitina. Gre za peptid ki ima številne pozitivne učinke na telo med katerimi so tudi spodbujanje izločanja nadledvičnih hormonov, spodbujanje prepuščnosti kapilar in zmanjševanje krvnega tlaka. Melitin zmanjšuje tudi možnosti za nastanek in rast tumorjev in zaščitno deluje proti sevanju. Količina melitina se lahko od vzorca do vzorca spreminja, tako Pušnik (2016) navaja da je vsebnost melitina v strupu okrog 50 %, Bogdanov (2016) govori o vsebnosti med 50% in 60 %, Rybak in sod (2004) o vsebnostih med 61 % in 70 %, Kokot in Matyasik (2009) o vsebnosti med 30,29 % in 63,28 %, Inonete in sod. (2013) pa o vsebnosti med 27,66% in 64,22%. Flanjak in sod. (2021) v raziskavi ugotavljajo da je vsebnost melitina predstavlja med 51,66 % in 69,5 %, ter da ni statistično značilnih razlik med vsebnostjo melitina v strupu pridelanem na žrelu panja in strupu pridelanem v notranjosti panja. Je pa v primeru njihove raziskave razpon v vsebnosti melitina v strupu pridelanem na žrelu panja večji (51,66°-69,5%) kot pri strupu pridelanem v notranjosti panja (58,03% - 66,63%). Večji razpon pa bi bil po njihovem mnenju lahko posledica prisotnosti nečistoč ki so pri pridobivanju na žrelu panja pogostejše.

4 MATERIALI IN METODE

4.1 NAČRT DELA

V tretjem letu trajanja raziskave smo med seboj primerjali količino in kakovost pridelanega čebeljega strupa v AŽ in LR panjskem sistemu, ob različno dolgem trajanju pridobivanja (30 in 45 minut), ter ob sočasnem spremljanju lastnosti čebeljih družin ter ugotavljanju medsebojnega vpliva med lastnostmi čebeljih družin in pridelavo strupa..

Za namen izvajanja raziskave smo skupaj z podizvajalcem izdelali dodatne tipe pobiralnih plošč za pridobivanje čebeljega strupa, tako da smo za vsak panjski sistem izbrali plošče, katere so prilagojene mestu pridobivanja na katerem so bili rezultati v letu 2021 najboljše. Tako smo v AŽ panju uporabili naprave FS prilagojene za pridobivanje strupa v panju zadaj-namesto plodiščnih mrežastih vratc. V LR panju pa smo uporabili naprave FS prilagojene za pridobivanje strupa v panju zgoraj- na mestu pitalnika oziroma pokrova.

Strup smo pridobivali v obeh panjskih sistemih pri čemer smo uporabili 8 družin v klasičnih 10 satnih AŽ panjih in 8 družin v klasičnih LR panjih standardnih (1/1) dimenzij.

Preglednica 2: Načrt dela-primerjava med AŽ in LR panjskim sistemom

| Panjski sistem | Mesto pridobivanja strupa | Število čebeljih družin oziroma naprav v testu. |
|----------------|--------------------------------------|---|
| AŽ | Za sati- na mestu plodiščnega okenca | 8 |
| LR | Zgoraj- nad naklado | 8 |

Čebelje družine so bile postavljene na isti lokaciji v kraju Prevoje pri Lukovici v občini Lukovica in so imele posledično enake okoljske pogoje, ter glede na vpliv okolja enake možnosti za razvoj.



Slika 2: Lokacija čebeljih panjev

Okoljski pogoji na lokaciji čebelnjaka so bili v primerjavi z preteklimi letu v letu 2022 razmeroma ugodni kar se je pokazalo tudi v boljšem razvoju čebeljih družin.

Za pridobivanje čebeljega strupa smo izbrali zdrave čebelje družine z različnimi ocenami za moč, saj je bil eden od ciljev raziskave v letu 2022 tudi ugotoviti razlike v pridelanem čebeljem strupu, ki so posledica razlik v moči in v drugih lastnostih čebeljih družin. Kljub tem razlikam pa je bilo v vseh čebeljih družinah v začetku pridobivanja čebeljega strupa prisotna matica, zadostne zaloge hrane in cvetnega prahu ter prisotna čebelja zalega. Tekom celotnega trajanja raziskave so bile čebelje družine oskrbovane skladno z načeli dobre čebelarske prakse.

V prvem delu raziskave smo med seboj primerjali različno trajanje pridobivanja zato smo v ta namen polovico naprav v vsakem panjskem sistemu pustili delovati 45 minut. Ker so za takšen čas delovanja naprave tudi sprogramirane, dodatno merjenje časa ni bilo potrebno. Drugo polovico naprav pa smo pustili delovati le 30 minut. Da smo zagotovili točen čas delovanja smo naprave ki so delovale le 30 minut vklopili zaporedno eno za drugo, jih nato spremljali s pomočjo odštevalnika in jih nato po preteklih 30 minutah v enakem vrstnem redu tudi izklopili.

Preglednica 3: Načrt dela-primerjava med AŽ in LR panjskim sistemom

| Panjski sistem | Mesto pridobivanja strupa | Trajanje pridobivanja | Število čebeljih družin oziroma naprav v testu. |
|----------------|--------------------------------------|-----------------------|---|
| AŽ | Za sati- na mestu plodiščnega okenca | 45 minut | 4 |
| | | 30 minut | 4 |
| LR | Zgoraj- nad naklado | 45 minut | 4 |
| | | 30 minut | 4 |

Da bi v čim večji meri zmanjšali vpliv posamezne družine na pridobljene podatke smo v prvem delu raziskave ko smo na polovici čebeljih družin trup pridobivali 45 minut na polovici pa 30 minut pri vsakem pridobivanju trajanje pridobivanja pri posamezni čebelji družini zamenjali. Tako se je pri družini pri kateri se je v enem pridobivanju trup pridobival 30 minut, pri naslednjem pridobivanju pridobival 45 minut.

Tako kot v preteklem letu smo tudi letos z namenom pridobivanja podatkov o vplivu pridobivanja čebeljega strupa na razvoj čebeljih družin ter vplivu posameznih lastnosti na pridobivanje strupa, pri čebeljih družinah vključenih v raziskavo in ostalih čebeljih družinah na lokaciji (kontrolna skupina), spremljali parametre, ki jih prikazuje preglednica 4.

Preglednica 4: Spremljani parametri čebeljih družin

| Parameter | Ocena od do |
|---------------------------------------|-------------|
| Moč čebelje družine | 1-4 |
| Mirnost čebel | 1-4 |
| Kvaliteta in obseg zalege | 1-5 |
| Količina zalog medu in cvetnega prahu | 1-5 |

Čebelje družine smo glede na navedene parametre ocenili pred pričetkom pridobivanja čebeljega strupa, v obdobju pridobivanja strupa ter po zaključku pridobivanja. Pridobljene ocene z opombami smo vpisovali na zato prirejene panjske liste.

4.2 IZBIRA IN PRIPRAVA ČEBELJIH DRUŽIN

Raziskavo smo tudi v tretjem letu opravljali v dveh čebelnjakih s registrskimi številkami SI317298 in SI392420, ki stojita na parceli 449/4 v k. o. 1944 Prevoje. V čebelnjakih so za namen raziskave prisotne čebelje družine v standardnih AŽ in LR panjih.

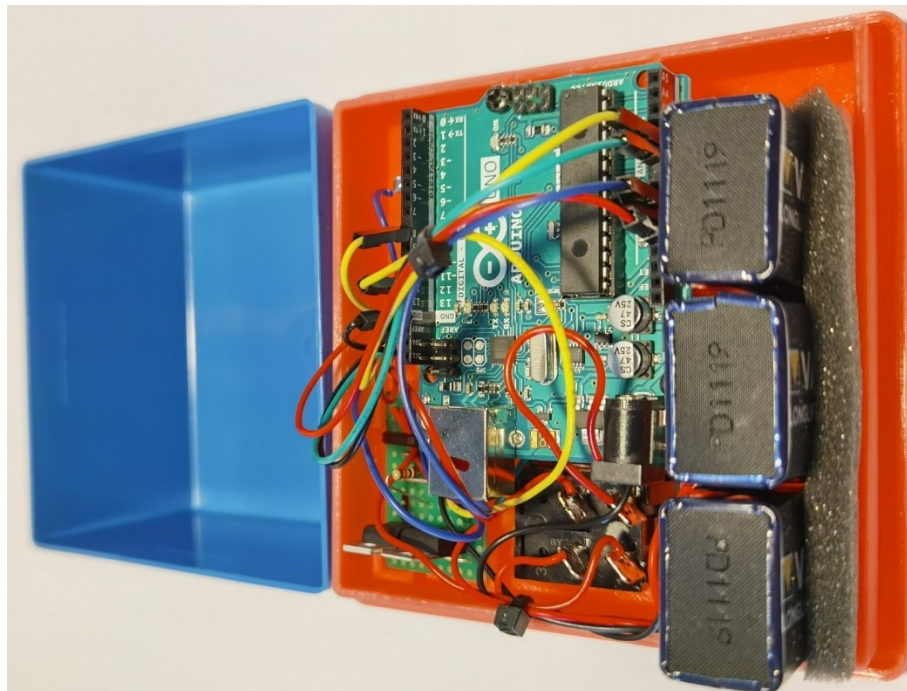
Pred pričetkom pridobivanja čebeljega strupa smo čebelje družine ocenili glede na moč, mirnost, kvaliteto in obseg zalege in zalogo hrane. Za izvedbo raziskave smo obeh panjskih sistemih naključno izbrali čebelje družine. Tako smo dobili družine z bolj različnimi ocenami za lastnosti. S tem smo pričakovali da pridobimo boljše podatke o vplivu lastnosti čebeljih družin na pridobivanje čebeljega strupa. V začetku pridobivanja čebeljega strupa je bila v vseh čebeljih družinah prisotna matica, zadostne zaloge hrane in cvetnega prahu ter prisotna čebelja zalega. Tekom celotnega trajanja raziskave so bile čebelje družine oskrbovane skladno z načeli dobre čebelarke prakse. V obdobju meseca februarja in marca smo izvedli prve spomladanske preglede in posege. V času paš smo skrbeli za širjenje gnezd, preprečevanje rojenja, gradnjo satnic, točenje in drugo oskrbo skladno s Piročnikom dobre čebelarke prakse avtorjev Augustina in sod. (2020). Družine smo tedensko pregledovali, spremljali njihovo stanje ter prej omenjene parametre.



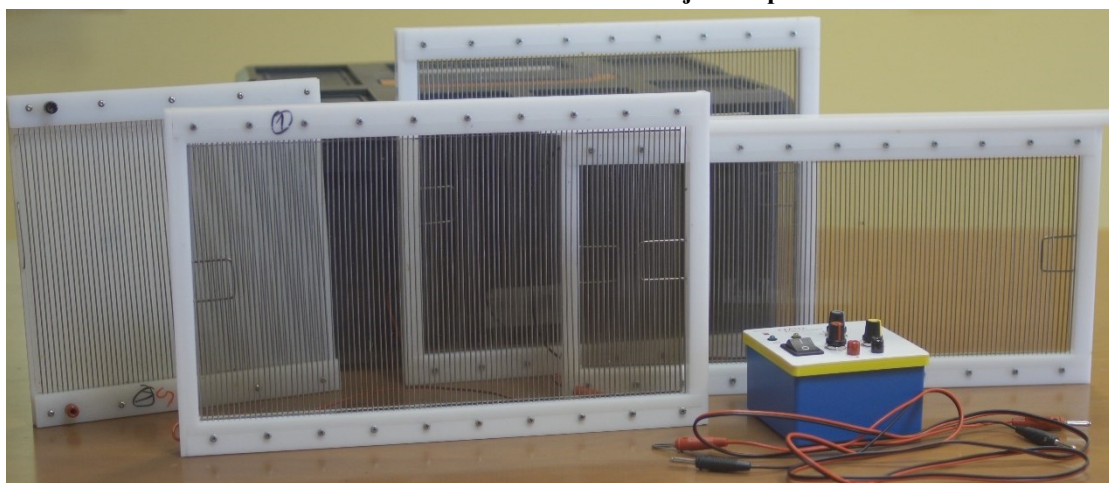
Slika 3: Ocenjevanje lastnosti čebeljih družin

4.3 NAPRAVE ZA PRIDOBIVANJE UPORABLJENE V RAZISKAVI

Tudi v tretjem letu izvajanja raziskave smo za pridobivanje čebeljega strupa uporabili napravo FS (napravo fakultete za strojništvo), ki se je v prvem letu raziskave izkazala kot najboljša. Naprava je namenjena pridobivanju čebeljega strupa s pomočjo elektro stimulacije z nastavljivimi parametri. Naprava je sestavljena iz krmilne enote z virom napetosti (slika 6) ter zbiralne plošče z električnimi vodniki (2).



Slika 4:Elementi v notranjosti naprave

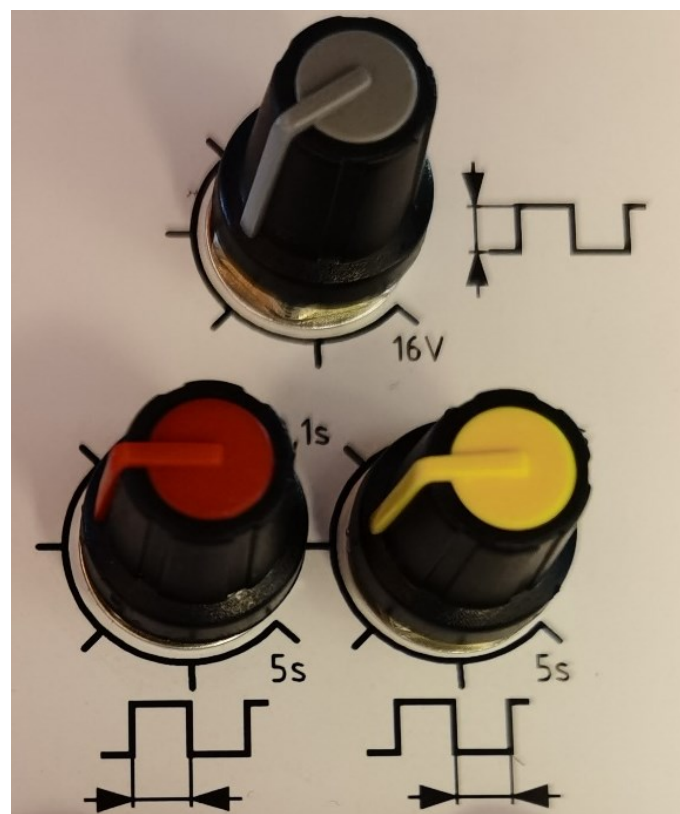


Slika 5:Pobiralne plošče naprave

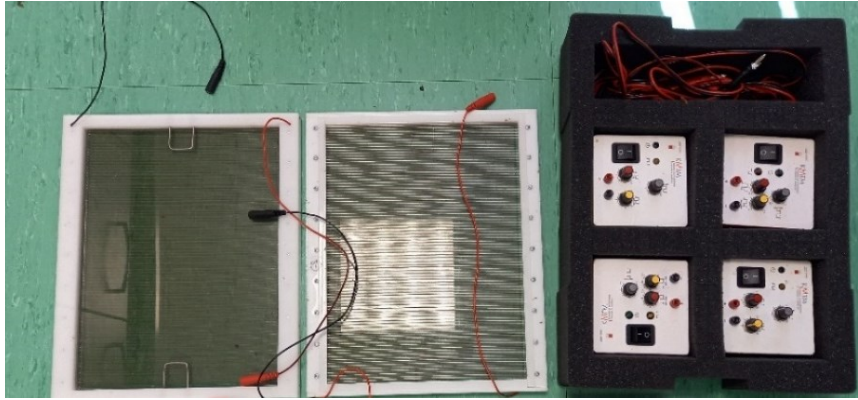
Krmilna enota in plošča sta med sabo povezani z dvožilnim kablom s 4 mm priključki. V letu 2022 so bile uporabljene zbiralne plošče prilagojene za pridobivanje strupa na mestu LR zgoraj (8 kosov) in pa AŽ zadaj (8kosov). Zbiralne plošče so sestavljene iz polimera iz metne mase, stekla na katerega se zbira čebelji strup in elektrod (žic), ki so pod električno napetostjo, generirano na osnovi krmilne enote. Elektrode so iz nerjavnega, kislinsko odpornega jekla, premera 1,2 mm pri zbiralni plošči za mesto AŽ zadaj in 1,6 mm pri zbiralni plošči za mest LR zgoraj. v primeru zbiralne naprave za pobiranje strupa na vrhu LR naklade. Razmik med središčem žic je 4,0 mm. Pobiralne plošče so bile enake kot v letu 2021 in se pred uporabo v letu 2022 niso posodabljale ali spreminjale.

Izhodnemu signalu lahko na krmilni enoti z vrtljivimi nastavljammo naslednje parametre:

- napetost med 1 V in 16 V s sivim gumbom,
- dolžino pulza med 0,1 s in 5 s z rdečim gumbom,
- dolžino premora med pulzi med 0,1 s in 5 s z rumenim gumbom.



Slika 6: Vrtljivi gumbi za nastavitev izhodnih impulzov



Slika 7: Pobiralne plošče za pridobivanje na mestu AŽ zadaj



Slika 8: Pobiralne plošče za pridobivanje na mestu LR zgoraj

4.3.1 Pridobivanje strupa za sati v AŽ panju

Okvir zbiralne plošče je dimenzijsko prilagojen prostoru ki je na voljo za plodiščnim satjem standardnega 10 satnega AŽ panja. Njegova višina in dolžina sta enaka mrežastemu plodiščnemu okencu pri, v raziskavi uporabljenem, standardnem 10 satnem AŽ panju. Zbiralna plošča omenjeno okence v času delovanja tudi nadomesti in teko prepreči da bi čebele prehajale preko. Zbiralna plošča je dimenzij 33,2 x 24,7 cm in meri 8,20 dm². Pred namestitvijo pobiralne plošče je potrebno najprej odstraniti plodiščna vratca ter jo postaviti na njihovo mesto.



Slika 9: Pridobivanje strupa na mestu AŽ zadaj

4.3.2 Pridobivanje strupa v LR panju zgoraj

Okvir pobiralne plošče je prilagojen zunanjim meram LR naklade in se ga ob uporabi povezne na zgornjo naklado LR panja – na mesto pitalnika. Steklena plošča meri 35,8 x 46,9 cm in ima površino 16,79 dm². Pobiralno ploščo namestimo tako, da odstranimo pokrov panja in pitalnik ter pobiralno ploščo namestimo na mesto pitalnika in jo pokrijemo s pokrovom da preprečimo da bi nanjo sijalo sonce.



Slika 10: Pridobivanje strupa v LR panju zgoraj

4.4 PRIDOBIVANJE IN OBDELAVA STRUPA

Po namestitvi pobiralnih plošč naprav v izbrane čebelje družine, smo jih s kabli povezali z elektronskim delom naprav, nastavili želeno jakost in frekvenco impulzov (pri posameznem pridobivanju so bile nastavitve na vseh napravah vedno enako) ter posamezne naprave prižgali s stikalom za vklop. Pri napravah katere smo pustili delovati 45 minut, v času delovanja dodatno delo ni bilo potrebno saj so naprave nastavljene tako da se po preteklih 45 minutah delovanja, samodejno izklopijo. Pri napravah katere pa smo pustili delovati le 30 minut pa je bilo potrebno le to p preteklih 30 minutah ročno izklopiti. Po zaključku delovanja smo naprave tudi dokončno izklopili in pospravili. Pospravljanje naprav zajema izklop stikala, odstranitev kablov, odstranitev plošč in ometanje čebel z njih ter priprava pobiralnih plošč za transport.

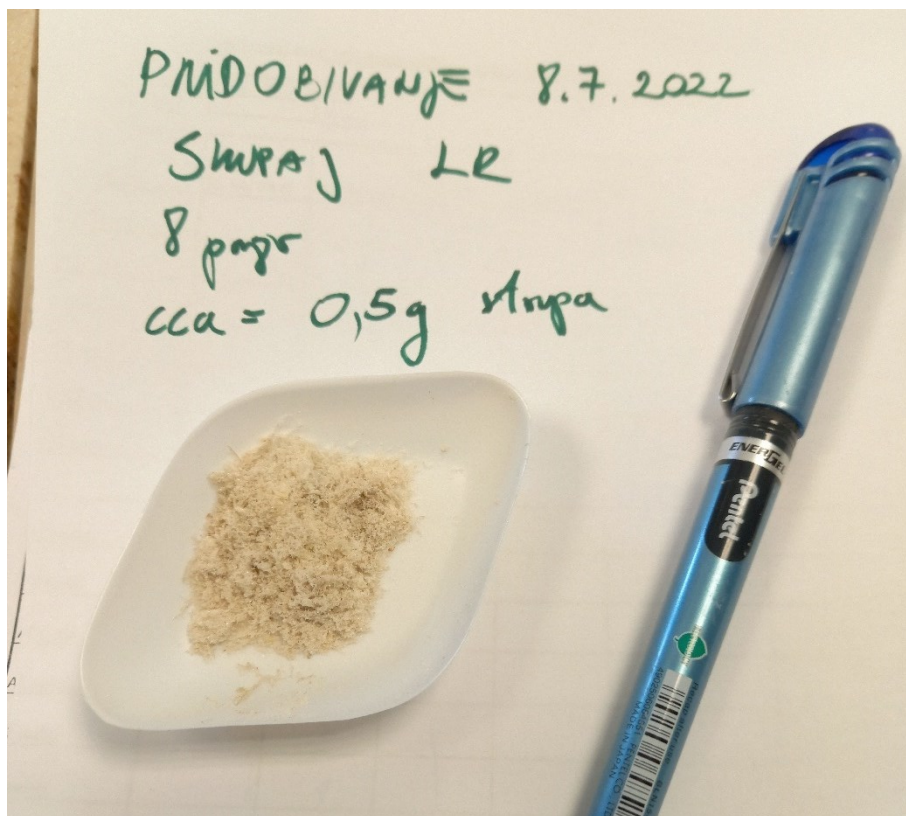
Po transportu naprav v laboratorij smo tam steklene plošče odstranili iz okvirjev in z njih postrgali čebelji strup. Pridobljene količine strupa smo stehali za vsako pobiralno ploščo posebej in podatke zapisali v preglednico.

| Datum pobiranja: | | Ura pobiranja: | | | | | |
|------------------|-------------|----------------|--------------------|---------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------|
| NAPRAVA | ŠT. NAPRAVE | številka panja | trajanje pobiranja | ura pobiranja | količina pridobljenega strupa (g) | Obnašanje čebel zunaj panja (1-4) | opombe |
| LRzgoraj | 1 | | | | | | |
| LRzgoraj | 2 | | | | | | |
| LRzgoraj | 3 | | | | | | |
| LRzgoraj | 4 | | | | | | |
| LRzgoraj | 5 | | | | | | |
| LRzgoraj | 6 | | | | | | |
| AŽ zadaj | 1 | | | | | | |
| AŽ zadaj | 2 | | | | | | |
| AŽ zadaj | 3 | | | | | | |
| AŽ zadaj | 4 | | | | | | |
| AŽ zadaj | 5 | | | | | | |
| AŽ zadaj | 6 | | | | | | |

Slika 11: Primer obrazca

Za vsako pridobivanje čebeljega strupa smo tako pridobili 16 podatkov o teži vzorcev iz vseh 16 uporabljenih čebeljih družin. Vzorce stehtanega čebeljega strupa smo shranili v steklenih kozarčkih, ki smo jih hranili v hladilniku. Vzorce posameznih pridobivanj smo razdelili v tri skupine:

- Čebelji strup pridelan v AŽ panju
- Čebelji strup pridelan v LR panju
- Čebelji strup z prisotnimi nečistočami



Slika 12: Pridelan čebelji strup

Tehtanje čebeljega strupa smo izvajali s tehtnico znamke Sartorius z merilnim območjem 0,0001g do 120 g. Rezultate tehtanj smo vpisovali v prej pripravljeno preglednico, ki je razvidna s slike št. 13.



Slika 13: Tehtanje vzorcev



Slika 14: Uporaba zaščitne opreme pri strganju strupa

Skladno z navodili za varno delo s čebeljim trupom smo pri pridobivanju strupa uporabljali vso, v danem trenutku potrebno čebelarsko zaščitno opremo (čebelarski jopič s klobukom/čebelarski kombinezon s klobukom, čebelarske rokavice. Pri strganju, obdelavi in tehtanju čebeljega strupa pa smo uporabljali zaščitne rokavice, haljo in zaščitno celo obrazno masko s filtri, ki bi jo lahko nadomestili tudi s pol obrazno masko in zaščitnimi očali.



Slika 15: Strganje strupa s steklenih plošč

4.5 OCENJEVANJE KVALITETE OZIROMA ČISTOSTI PRIDOBLJENEGA ČEBELJEGA STRUPA

Vzorci pridobljenega strupa smo po zadnjem pridobivanju iz steklenih kozarčkov za shranjevanje pretresli v lončke iz umetne mase in jih tako kot v preteklih dveh letih vizualno ocenili. Ocenjevali smo barvo strupa ter prisotnost nečistoč (na steklenih ploščah so občasno lahko prisotni delci cvetnega prahu, deli čebeljih teles, panjski drobir ter druge nečistoče). Ocene za obe lastnosti so se gibale med 1 in 4, ker 1 pomeni najboljša ocena, 4 pa najslabša ocena.



Slika 16: Pridobljen strup lahko vsebuje tudi nečistoče.

Poleg vizualnih ocen vzorcev pridobljenega čebeljega strupa, smo konec leta 2021 na laboratorijsko analizo poslali tudi 3 vzorce čebeljega strupa pridobljenega v letih 2020 in 2021, pri čemer smo ugotavljali vsebnost melitina, skupnih beljakovin in vsebnosti vode.

Ker je bilo vzorcev posameznih pridobivanj premalo za samostojne analize smo vzorce združevali in sicer tako, da smo jih glede na vizualno oceno združili v tri vzorce. Vzorce številka 1, 2 in 3 smo sestavili z združevanjem vzorcev pridobljenih v preteklih dveh letih glede na vizualno oceno čistosti (ocene od 1 do 4, kjer 1 pomeni najboljšo, 4 pa najslabšo oceno). Sestava posameznih vzorcev, njihova povprečna vizualna ocena čistosti (združeni podatki za barvo in prisotnost nečistoč), ter povprečna ocena čistosti končnih vzorcev po so razvidni iz spodnje tabele.

Preglednica 5: priprava vzorcev za laboratorijsko analizo

| Številka vzorca | Sestavljen iz vzorcev (v oklepaju je povprečna ocena čistosti vzorcev) | Povprečna ocena čistosti vzorca |
|-----------------|--|---------------------------------|
| 1 | LR zgoraj (1) | 1,250 |
| | AŽ zadaj(1,5) | |
| 2 | Lr žrelo (2,5) | 3,000 |
| | AŽ žrelo (3,5) | |
| 3 | Mešani vzorci iz leta 2020 (1,25) | 1,125 |
| | Mešani vzorci let 2020 in 2021 z najboljšo oceno (1) | |

4.6 OCENJEVANJE STANJA ČEBELJIH DRUŽIN

V drugi polovici meseca maja smo naredili temeljit pregled vseh čebeljih družin na lokaciji ter skladno z načeli in priročnikom dobre čebelarske prakse izvedli nujne posege ter ocenili stanje čebeljih družin. Ocenjevanja smo skladno s pregledi in posegi izvajali tudi tekom trajanja raziskave, zadnjo oceno pa smo naredili dne 21.7.2021.

V čebeljih družinah smo ocenjevali moč, mirnost, kvaliteto in obseg zalege ter skupno zalogo hrane (zalogo medu in zalogo cvetnega prahu). Poleg teh parametrov smo tekom celotnega leta skladno z načeli dobre čebelarske prakse spremljali tudi druga stanja v čebeljih družinah, ki smo jih na ocenjevalne liste zapisali kot opombe ter skrbeli za nujne posege v družinah.

4.7 Obdelava podatkov

Pridobljene podatke smo obdelali v standardnih Microsoft Office programih Microsoft Excel in Microsoft Word. Glede na potrebe pri posameznih skupinah podatkov smo naredili preglednice, grafe, izračune ter statistične operacije, ki so med drugim zajemale t-test, ANOVA test, izračun povprečne vrednosti in izračun koeficientov korelacije.

5 REZULTATI IN RAZPRAVA

V letu 2022 smo prvo pridobivanje opravili dne 23.5.2022, temu pa je, kot je razvidno iz preglednice št. 7, sledilo še 6 pridobivanj. Skupaj je bilo tako med 23.5.2022 in 14.7.2022 na osem čebeljih družinah v LR panjih in osem čebeljih družinah v AŽ panjih opravljenih 7 pridobivanj čebeljega strupa, pri čemer smo pridobili skupno 3,0621 g čebeljega strupa. Količine pridobljenega strupa so se med posameznimi pridobivanji in med posameznimi družinami razlikovale, v povprečju pa smo v enem pridobivanju na 16 čebeljih družinah pridobili $0,4374\text{g} \pm 0,1125\text{ g}$ čebeljega strupa, v posamezni družini pa pri vsakem pridobivanju v povprečju $0,0273 \pm 0,0070\text{ g}$ čebeljega strupa.

Preglednica 6: Skupne in povprečne količine pridobljenega strupa

| Število pridobivanj | Skupna količina strupa | Povprečna količina strupa po pridobivanju | Povprečna količina strupa po čebelji družini |
|---------------------|------------------------|---|--|
| 7 | 3,0621 g | $0,4374\text{g} \pm 0,1125\text{ g}$ | $0,0273 \pm 0,0070\text{ g}$ |



Slika 17: Strganje čebeljega strupa

Preglednica 7: Skupne in povprečne količine pridobljenega čebeljega strupa

| Datum pridobivanja | Skupne količine pridobljenega strupa na posamezno pridobivanje (g) | Povprečne količine pridobljenega strupa na čebeljo družino na pridobivanje (g) |
|--------------------|--|--|
| 23.05.2022 | 0,5267 | 0,0329 |
| 1.06.2022 | 0,3812 | 0,0238 |
| 16.06.2022 | 0,1514 | 0,0095 |
| 24.06.2022 | 0,3859 | 0,0241 |
| 1.07.2022 | 0,4497 | 0,0281 |
| 8.07.2022 | 0,7109 | 0,0444 |
| 14.07.2022 | 0,4563 | 0,0285 |
| SKUPAJ | 3,0621 | |
| POVPREČJE | 0,4374 | 0,0273 |

Kot je razvidno iz preglednice št. 7 in priloge št. 1 so med posameznimi pridobivanji prisotne razlike. Glede na opravljen ANOVA test so razlike med posameznimi datumi pridobivanja tudi statistično značilne (p-vrednost je pod 0,05 in znaša 0,0032) prav tako pa so statistično značilne razlike v teži vzorcev pri posameznih pridobivanjih.



Slika 18. Pridobljena količina 1 g čebeljega strupa

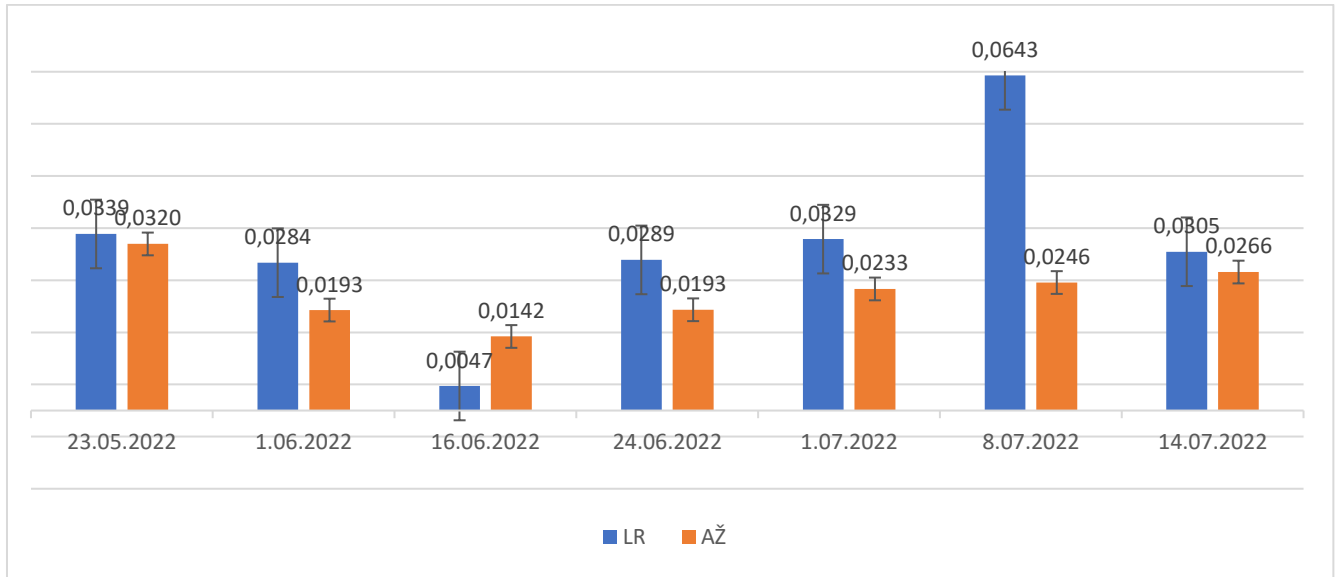
5.1 PRIMERJAVA MED AŽ IN LR PANJSKIM SISTEMOM

Kot je razvidno iz preglednice številka 8, v kateri so prikazani podatki o povprečni količini pridobljenega čebeljega strupa v posameznem panjskem sistemu, so bile tako skupne, kot tudi povprečne količine pridelanega strupa v LR panjih nekoliko večje kot v AŽ panjih. Večji je bil tudi razpon med najmanjšo in največjo težo vzorca. Le ta je bila v primeru LR panja 0,0005 in 0,1465 pri AŽ panju pa 0,002 in 0,0745. Iz preglednice lahko sklepamo da je bila povprečna količina pridelanega čebeljega strupa v LR panjih na čebeljo družino, na pridobivanje večja za 0,0094 g kljub temu pa ANOVA test ne pokaže statistično značilnih razlik med pridobivanji v obeh panjskih sistemih.

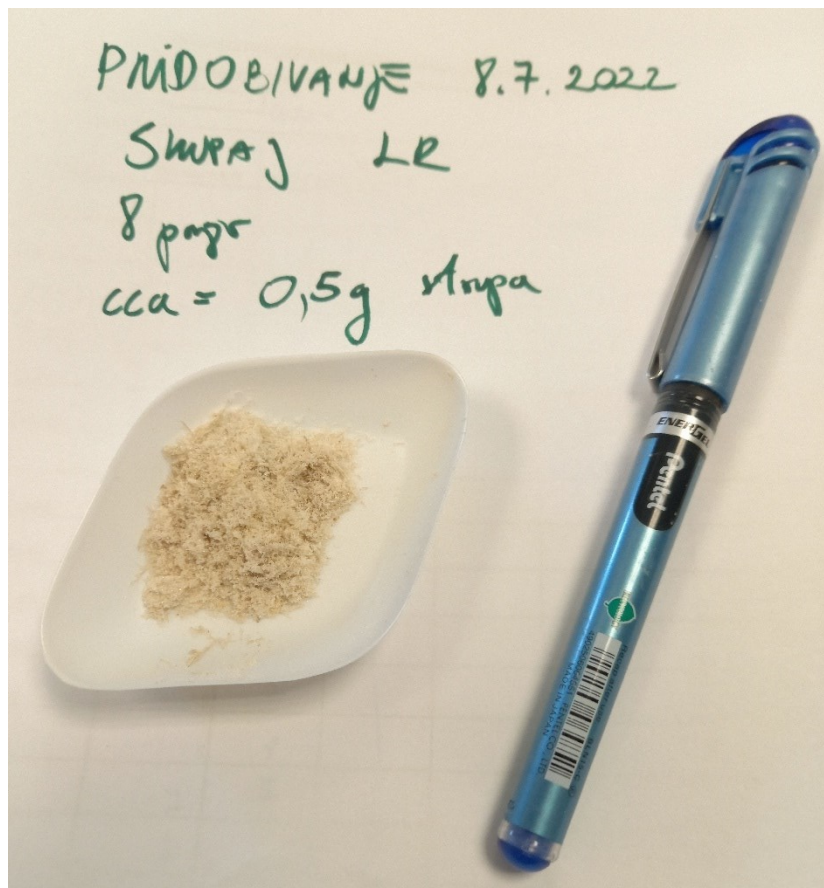
Preglednica 8: Primerjava v količini strupa med panjskimi sistemi

| Datum pridobivanja | Povprečne količine pridobljenega strupa na čebeljo družino na pridobivanje (g) | |
|--|--|----------|
| | LR panji | AŽ panji |
| 23.05.2022 | 0,0339 | 0,0320 |
| 1.06.2022 | 0,0284 | 0,0193 |
| 16.06.2022 | 0,0047 | 0,0142 |
| 24.06.2022 | 0,0289 | 0,0193 |
| 1.07.2022 | 0,0329 | 0,0233 |
| 8.07.2022 | 0,0643 | 0,0246 |
| 14.07.2022 | 0,0305 | 0,0266 |
| SKUPNO POVPREČJE NA PRIDOBIVANJE NA ČEBELJO DRUŽINO | 0,0319 | 0,0228 |
| SKUPNA TEŽA PRIDOBLENEGA STRUPA | 1,7880 | 1,2741 |
| NAJMANJŠA PRIDOB-LJENA KOLIČINA | 0,0005 | 0,002 |
| NAJVEČJA PRIDOB-LJENA KOLIČINA | 0,1465 | 0,0745 |

Graf 1: Primerjava v povprečni količini strupa na čebeljo družino med panjskimi sistemi



Kot je razvidno iz preglednice št. 8 in grafa št. 1 se pojavljajo tudi razmeroma velike razlike med posameznimi pridobitvami čebeljega strupa. Tako je bilo v obeh panjskih sistemih povprečna količina pridobljenega strupa najmanjša dne 16.6.2022. Pri LR panjih je bila največja dne 8.7.2022 pri AŽ panjih pa pri prvem pridobitvanju dne 23.5.2022. Glede na pridobljene podatke so nihanja v povprečnem pridelku strupa večja v LR panju kot pa pri AŽ panju.



Slika 19: Pridobljena količina cca 0,5 g strupa

5.2 VPLIV TRAJANJA PRIDOBIVANJA

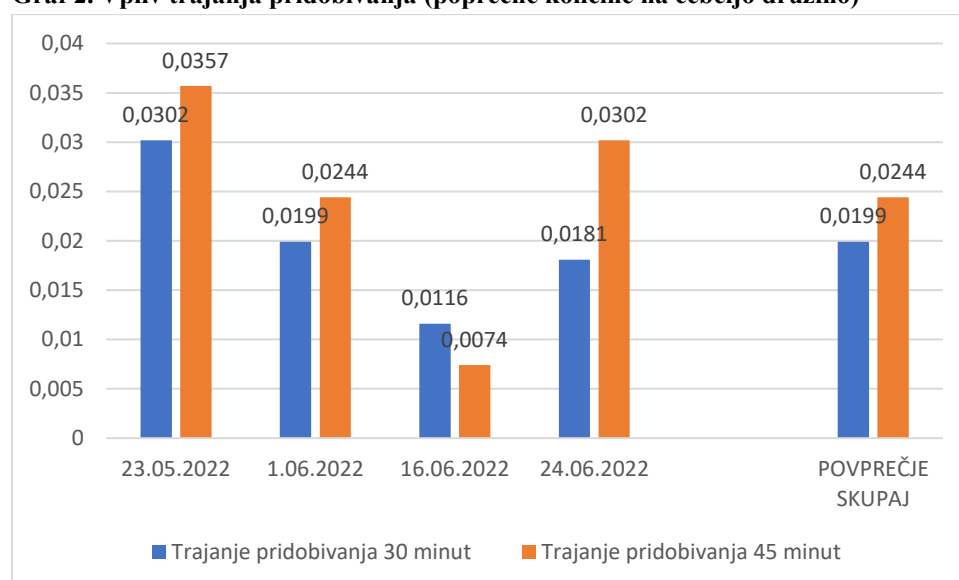
Pri prvih štirih pridobivanjih čebeljega strupa v letu 2022 smo čebelje družine pri vsakem panskem sistemu razvrstili v dve skupini, v skupino kjer so naprave delovale 30 minut in skupino kjer so naprave delovale 45 minut.

Preglednica 9: Vpliv trajanja pridobivanja (poprečne količine na čebeljo družino)

| | Povprečne količine pridobljenega strupa na čebeljo družino na pridobivanje (g) | |
|-------------------------|--|--------------------------------|
| Datum pridobivanja | Trajanje pridobivanja 30 minut | Trajanje pridobivanja 45 minut |
| 23.05.2022 | 0,0302 | 0,0357 |
| 1.06.2022 | 0,0199 | 0,0244 |
| 16.06.2022 | 0,0116 | 0,0074 |
| 24.06.2022 | 0,0181 | 0,0302 |
| POVPREČJE SKUPAJ | 0,0199 | 0,0244 |

Kot je razvidno iz pridobljenih podatkov prikazanih v preglednici 9 in grafu 2 so med posameznimi pridobivanji prisotne manjše razlike v povprečni količini pridelanega čebeljega strupa na čebeljo družino. Glede na podatke je pridelek strupa večini pridobivanj (izjema je pridobivanje dne 16.6.2022, ko so bile količine pridobljenega strupa pri vseh vzorcih izrazito manjše) večji v kolikor naprave za pridobivanje strupa delujejo 45 minut. V povprečju je količina večja za 0,0045 g na čebeljo družino na posamezno pridobivanje, kar znaša približno 22% večji pridelek čebeljega strupa.

Graf 2. Vpliv trajanja pridobivanja (poprečne količine na čebeljo družino)



5.3 OCENA KVALITETE PRIDOBLENEGA STRUPA

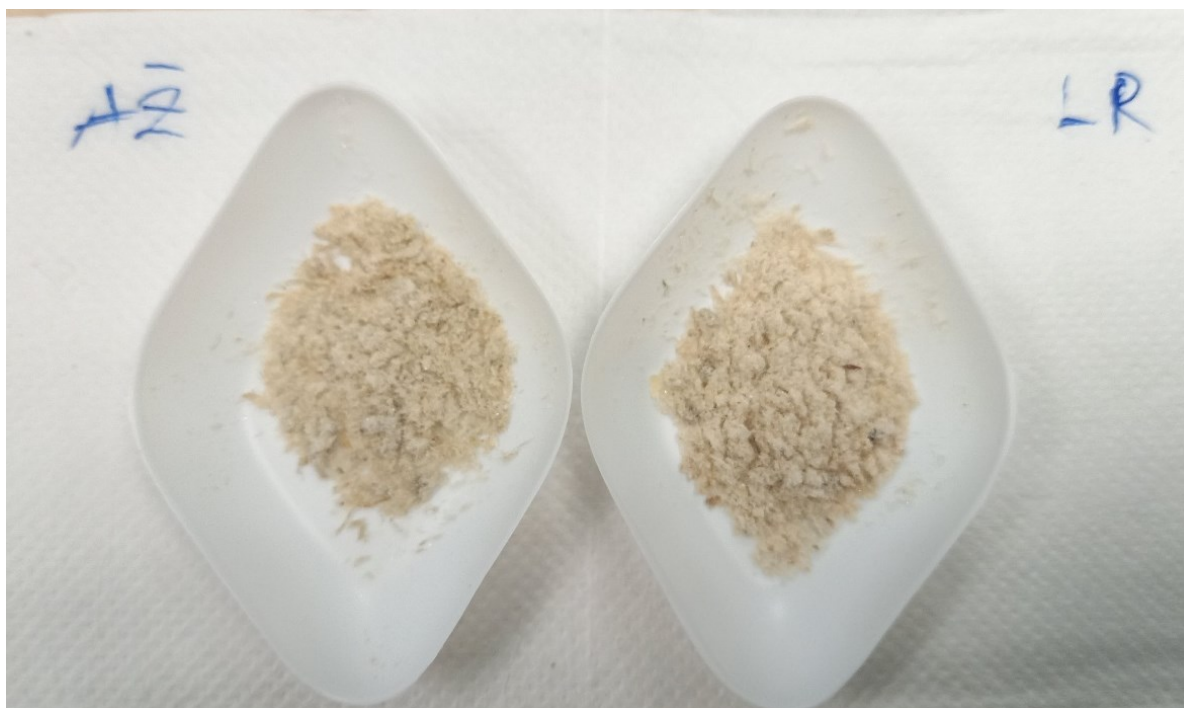
Čebelji strup pridobljen v letu 2022 smo shranjevali v dveh ločenih vzorcih, in sicer čebelji strupa pridobljen v AŽ panjih in čebelji strup pridobljen v LR panjih. Pri vseh vzorcih smo pred tehtanjem in shranjevanjem izločili večje delce nečistoč. Po zadnjem pridobivanju čebeljega strupa smo vzorca tudi vizualno pregledali in ocenili.

Preglednica 10: Vizualna ocena kvalitete čebeljega strupa glede na barvo in prisotnost nečistoč

| Ocena | Strup pridelan v LR panju. | Strup pridelan v AŽ panju |
|--|----------------------------|---------------------------|
| Prisotnost večjih delcev nečistoč (1-4 ; malo- veliko) | 1 | 1 |
| Barva 1-4 (bela-sivo/rjava) | 1 | 1 |
| Skupna ocena (seštevek) | 2 | 2 |

1: najboljša ocena; 4: najslabša ocena

Kot je razvido iz zgornje preglednice in spodnje slike razlik v kvaliteti strupa pridobljenega v AŽ in LR panjih skoraj ni. Iz slike in realnega stanja je sicer razvidno, da je strup pridelan v AŽ panjih melenkost tamnješe barve, kot strup pridelan v LR panjih, vendar glede na kriterij ocejavanja ki smo ga imeli v preteklih letih razlika ni tolikšna, da bi bila ocena vzorca za barvo strupa slabša. Glede na to, da smo že v letu 2021 podobno kot Flanjak in sod. (2021) ugotovili, da čebelji strup vsbuje manj nečistoč, v kolikor se pridobiva v notranjosti panja, in smo v letu 2022 vsa pridobivanja opravili na ta način, je smislno, da so pridobljeni vzorci čebeljega strupa bolje ocenjeni kot v preteklih letih.



Slika 20: Primerjava med čebeljimstrupom pridobljenim v AŽ in v LR panju

Čebelji strup pridelan v letih 2020 in 2021 smo konec leta 2021 glede na vizualno oceno razdeli v tri vzorce, katere smo poslali na analizo da bi preverili vsebnost melitina, skupnih beljakovin in vsebnosti vode. Vzorce številka 1, 2 in 3 smo sestavili z združevanjem vzorcev pridobljenih v preteklih dveh letih glede na vizualno oceno čistosti (ocene od 1 do 4, kjer 1 pomeni najboljšo, 4 pa najslabšo oceno). Laboratorijske analize so naredili v Zavodu za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar v Zagrebu. Sestava posameznih vzorcev, vizualna ocena čistosti, ter rezultati analize prisotnosti melitina, skupnih beljakovin in vode pa so razvidni iz spodnje tabele.

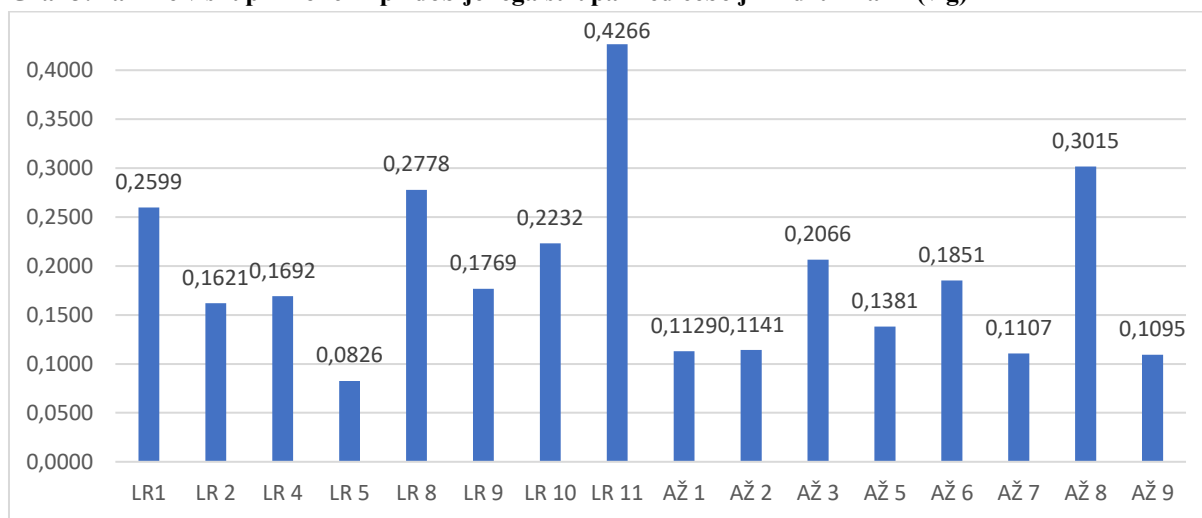
Preglednica 11: Analiza vzorcev čebeljega strupa

| Številka vzorca | Sestavljen iz vzorcev (povprečna ocena čistosti vzorcev) | Povprečna ocena čistosti vzorca | Analiza vsebnosti melitina | Analiza vsebnosti skupnih beljakovin | Analiza vsebnosti vode |
|-----------------|--|---------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|------------------------|
| 1 | LR zgoraj (1) | 1,250 | 45,9 % | 70,8 % | 10,63 % |
| | AŽ zadaj(1,5) | | | | |
| 2 | Lr žrelo (2,5) | 3,000 | 32,9 % | 55,16 % | 10,30 % |
| | AŽ žrelo (3,5) | | | | |
| 3 | Mešani vzorci iz leta 2020 (1,25) | 1,125 | 53,2 % | 67,47 % | 8,92 % |
| | Mešani vzorci let 2020 in 2021 z najboljšo oceno (1) | | | | |

Kot je razvidno iz zgornje tabele je čebelji strup ki je imel največjo vsebnost melitina, bil tudi najboljše vizualno ocenjen, sledu mu vzorec z drugo najboljšo oceno čistosti in drugo največjo vsebnostjo melitina. Najmanjšo vsebnost melitina pa je imel vzorec št 2, ki je bil tudi najslabše ocenjen glede na vizualno oceno. Glede na podatke iz literature, Pušnik (2016) in Bogdanov navajajo da je vsebnost melitina glavni odločujoči faktor, ki označuje kvaliteto pridobljenega strupa (od količine melitina je odvisna tudi odkupna cena) lahko potrdimo naša predvidevanja, da je vizualno bolj čistejši in bolje ocenjen strup tudi bolj kvaliteten glede na samo kemijsko sestavo. Glede na ugotovljeno lahko že v samem procesu pridelave strupa, pri strganju plošč izločimo strup, ki je vizualno manj primeren in tako poskrbimo za boljše končno kvaliteto pridelka. Glede na to da so bile v letu 2021 ugotovljene tudi velike razlike v vizualni oceni med strupom pridobljenim v notranjosti panja in strupom pridobljenim na žrelu panja, pa se naše ugotovitve in rezultati laboratorijske analize kemijske sestave čebeljega strupa ne skladajo z ugotovitvami Flanjak in sod. (2021), ki med posameznimi mesti pridobivanja ugotavljajo le razlike v količini pridobljenega strupa, ne pa tudi razlik v vsebnosti melitina.

5.4 VPLIV ČEBELJE DRUŽINE NA PRIDOBIVANJE STRUPA

Graf 3: Razlike v skupni količini pridobljenega strupa med čebeljimi družinami (v g)

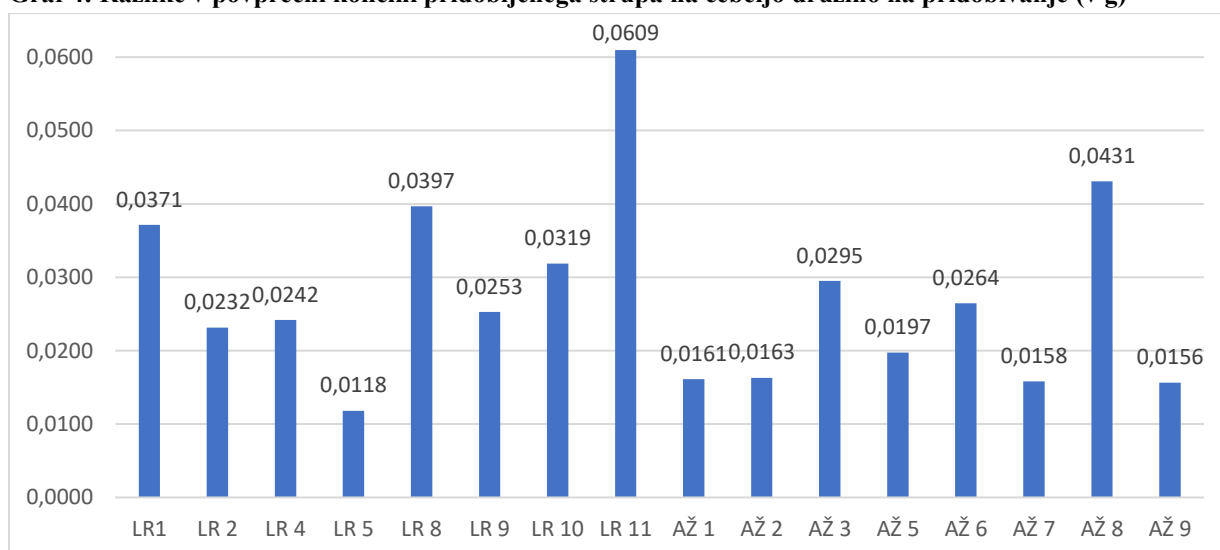


Kot je razvidno z grafa št. 3, so med posameznimi čebeljimi družinami prisotne razlike v skupni količini pridobljenega čebeljega strupa.

Pri LR panjih so razlike večje. Skupne količine so bile največje pri čebelji družini z oznako LR11 (0,4266 g), sledi čebelja družina z oznako LR8 in LR1 pri panju najmanjše pa pri panju LR 5 (0,0826 g). Pri AŽ panjih so razlike med čebeljimi družinami manjše, največje količine strupa so pridobljene pri čebelji družini z oznako AŽ8 (0,3015g), sledita čebelji družini z oznako AŽ 3 in AŽ 6, pri ostalih čebeljih družinah v AŽ panju pa so količine pridobljenega strupa razmeroma primerljive.

Statistično značilne razlike v količini pridobljenega strupa med čebeljimi družinami potrjuje tudi ANOVA, tako da lahko sklepamo, da imajo lastnosti posamezne družine velik vpliv na pridelavo čebeljega strupa.

Graf 4: Razlike v povprečni količini pridobljenega strupa na čebeljo družino na pridobivanje (v g)



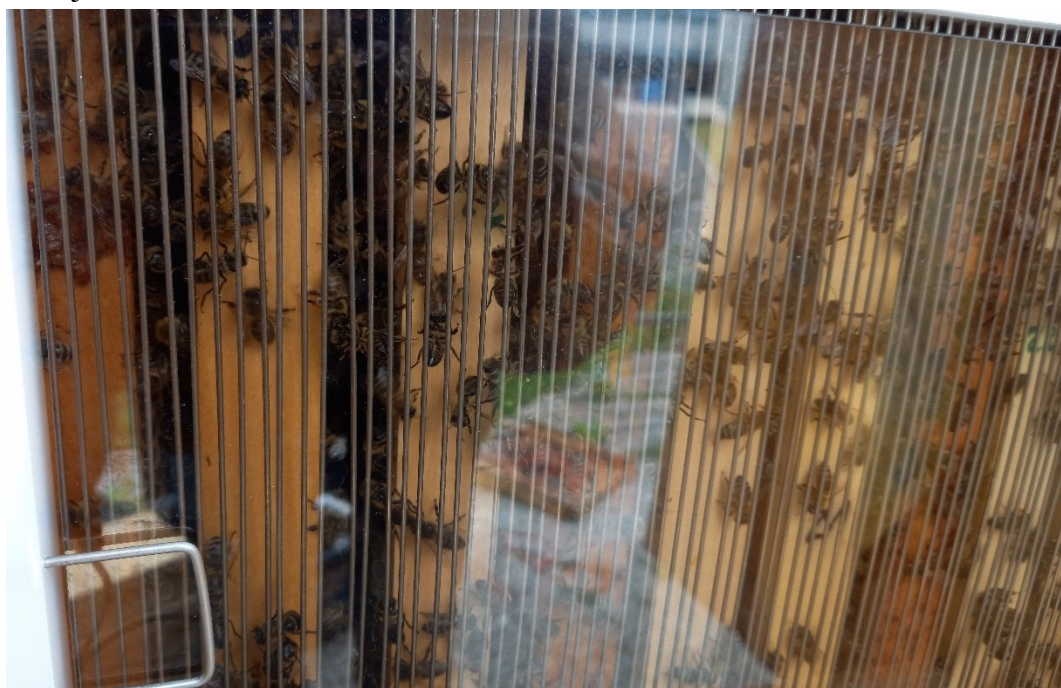
Kot je razvidno iz preglednice št. 6 povprečna teža pridobljenega strupa na čebeljo družino na pridobivanje znaša $0,0273 \pm 0,0070$ g kar sovпада z ugotovitvami Fakhima (1998) ki je imel v svoji raziskavi povprečni pridelek 0,026 g strupa/ čebeljo družino / pridobivanje.

Glede na dejstvo, da ima na pridelek strupa velik vpliv čebelja družina in da so imele nekatere družine večje pridelke kot druge, bi lahko z izbiro le optimalnih čebeljih družin skupni pridelek čebeljega strupa tudi povečali. Tako se na primer povprečni pridelek čebeljega strupa v družni z največjim povprečnim pridelkom (LR11) ki znaša 0,0609 g, približa podatkom ki jih v svoji raziskavi navajajo Bahrein in sod (2000) in znašajo 0,0698 g.

Preglednica 12: Korelacija med količino pridobljenega strupa in lastnostmi čebeljih družin

| Lastnost čebelje družine | Korelacija med posameznimi prido- bivanji | Korelacija med povprečnimi vrednostmi |
|---------------------------|--|--|
| Moč | 0,2034 | 0,3763 |
| Mirnost | -0,0532 | -0,0799 |
| Kvaliteta in obseg zalege | 0,1129 | 0,2330 |
| Zaloga hrane | 0,1038 | 0,2232 |
| Zaloga cvetnega prahu | 0,2162 | 0,3786 |

Podobno kor pri preteklih letih tudi v letu 2022, kot je razvidno iz preglednice št 12, nismo ugotovili statistično značilne povezave oziroma korelacije med ocenjevanimi lastnostmi čebeljih družin in količino pridobljenega strupa. Kljub temu pa se v primeru moči čebeljih družin in pa v primeru zalog cvetnega prahu nakazuje pozitivna korelacija s količinami pridelanega čebeljega strupa. Vpliv zalog cvetnega prahu na večje količine strupa omenja tudi Omar (2011), vpliv moči čebelje družine oziroma števila čebel znotraj družin pa tudi številni drugi avtorji.



Slika 21: Količina pridelanega strupa je odvisna od številnih dejavnikov

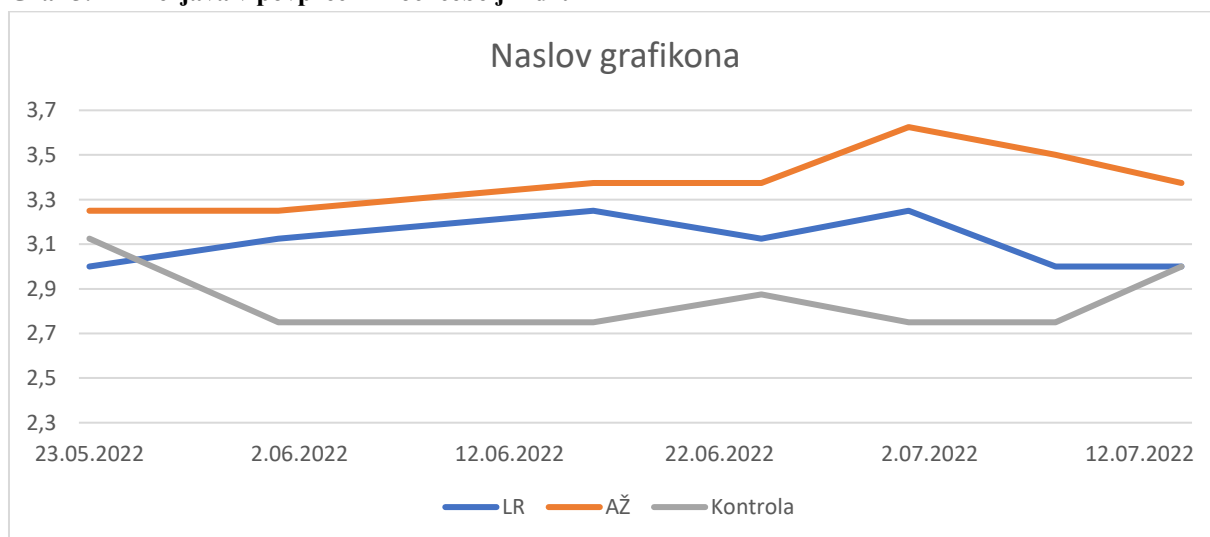
5.5 VPLIV PRIDOBIVANJA STRUPA NA LASTNOSTI ČEBELJIH DRUŽIN

V vseh čebeljih družinah so se spremljali parametri čebelje družine: moč, mirnost, kvaliteta in obseg zalege, prisotnost zalog hrane in prisotnost zalog cvetnega prahu v satju. Ocene čebeljih družin, v katerih se je pridobival čebelji strup, smo primerjali z ocenami čebeljih družin, v katerih se strup ni pridobival (kontrolna skupina). Le te se nahajajo na isti lokaciji, v njih pa se (razen pridobivanja čebeljega strupa) izvajajo enaki posegi.

5.5.1 Vpliv pridobivanja strupa na moč čebeljih družin

Z grafa 5 je razvidno, da so bile čebelje družine v AŽ panjih v povprečju nekoliko močnejše kot čebelje družine v LR panjih, ter da negativnega vpliva na moč čebeljih družin, zaradi pridobivanja strupa v letu 2022 ni bilo opaziti.

Graf 5: Primerjava v povprečni moči čebeljih družin

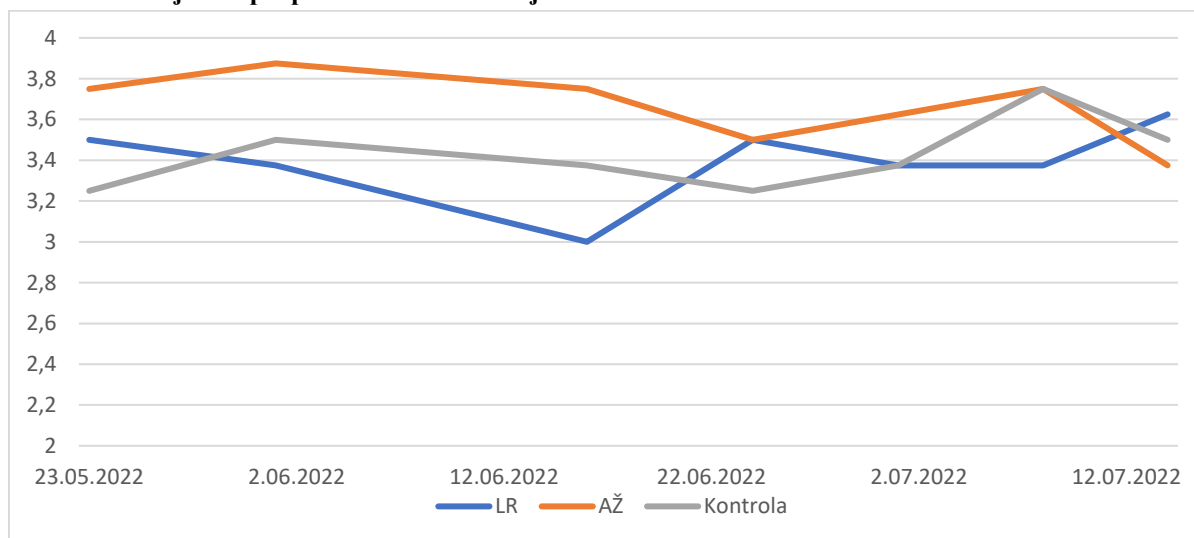


Slika 22: Ena izmed spremljanih lastnosti je tudi moč čebeljih družin

5.5.2 Vpliv pridobivanja strupa na mirnost čebeljih družin

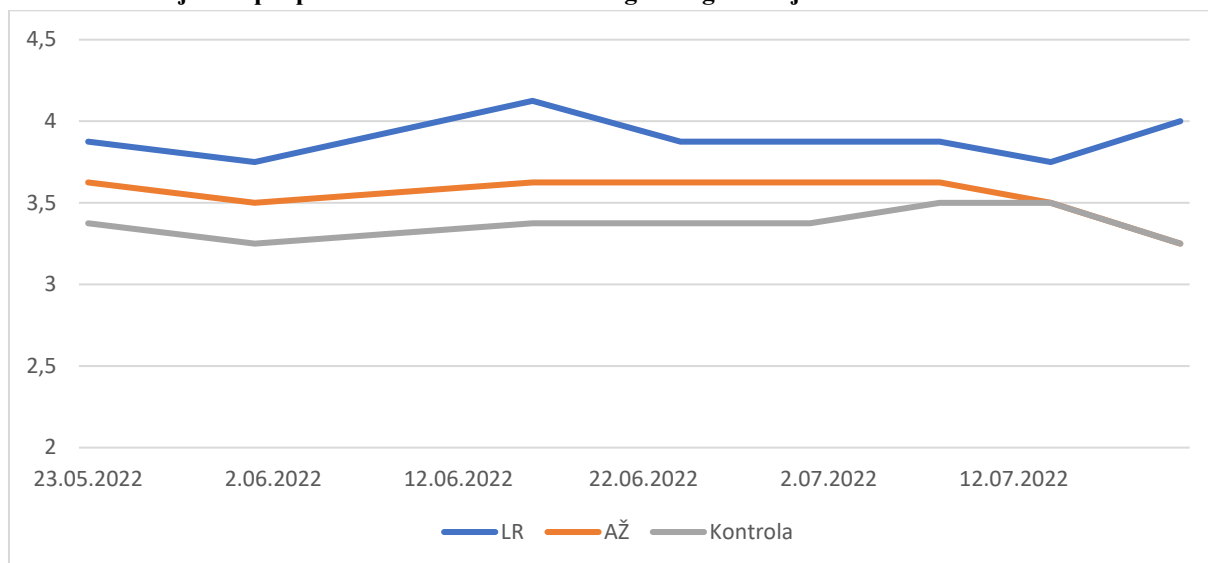
Kot je možno razbrati z grafa 6, ni opaziti večjih razlik v spreminjanju mirnosti čebeljih družin tekom pridobivanja, prav tako pa ni opaziti večjih sprememb med čebeljimi družinami kjer se je strup pridobival in kontrolnimi čebeljimi družinami. Opazna je edino manjša razlika v splošni oceni mirnosti med čebeljimi družinami v AŽ in čebeljimi družinami v LR panjih, kar bi lahko pripisali načinu odpiranja različnih panjskih sistemov. V sredini spremljanega obdobja sicer ocena mirnosti pri vseh čebeljih družinah nekoliko pade, kar bi lahko pripisali kostanjevi paši na kateri so čebele običajno nekoliko bolj agresivne.

Graf 6: Primerjava v povprečni mirnosti čebeljih družin



5.5.3 Vpliv pridobivanja strupa na kvaliteto in obseg zalege

Graf 7. Primerjava v povprečni oceni kvalitete in obsega zalege čebeljih družin



Z grafa 7 je razvidno, da se ocena za kvaliteto in obseg čebelje zalege v tako v kontrolni skupini kot v obeh skupinah kjer se je strup pridobival, ne spremeni veliko in da ni opaziti, da bi imelo pridobivanje strupa na omenjeno lastnost kakšen koli vpliv.

Poleg ocene kvalitete in obsega zalege smo med pregledi spremljali tudi druge lastnosti čebeljih družin. V obeh skupinah čebeljih družin smo med pregledi, pri posameznih družinah opazili določene nepravilnosti, kot je pojav poapnele zalege in izguba matice. Primerjavo med obema skupinama čebeljih družin smo naredili v spodnji preglednici.

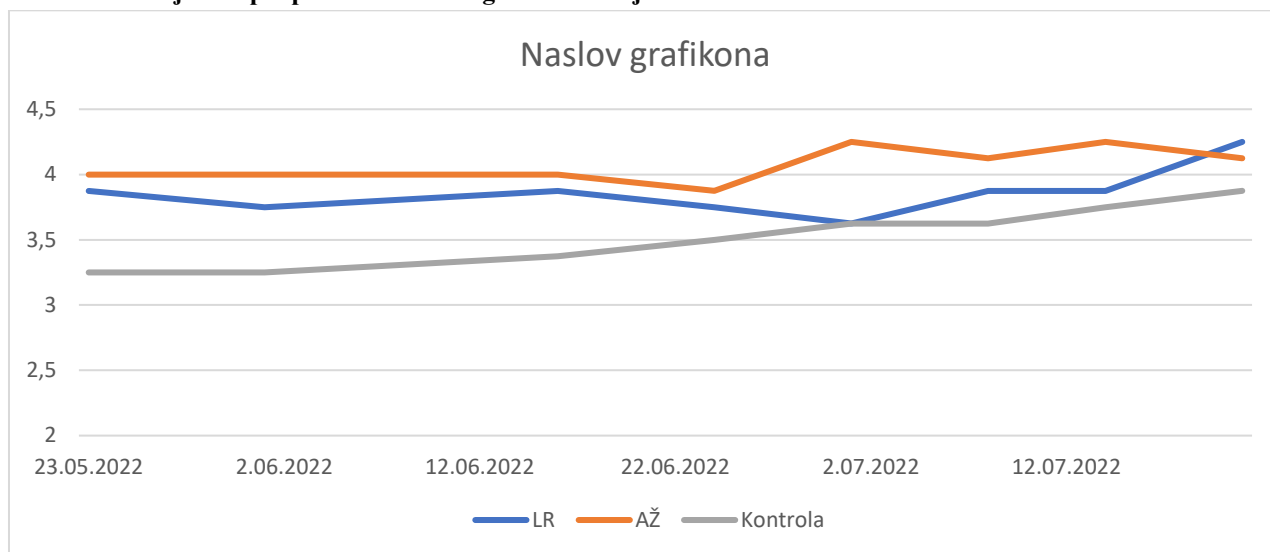
Preglednica 13: Primerjava pogostosti pojavljanja težav v čebeljih družinah

| Situacija | Strup AŽ in LR | kontrola |
|-------------------|----------------|----------|
| Izguba matice | 0,06 | 0,0 |
| Preleganje matice | 0,00 | 0,00 |
| Poapnela zalega | 0,06 | 0,08 |
| | | |

Tekom ocenjevanja smo v čebeljih družinah, kjer se je strup pridobival, opazili en primer izgube matice ter en primer poapnele zalege. V kontrolni skupini pa smo opazili en primer pojava poapnele zalege. Preračunano na število panjev in prikazano v preglednici 13 je bila tako izguba matice prisotna v 0,06 družinah, kjer se je strup pridobival, poapnela zalega pa v 0,06 družinah kjer se je strup pridobival. V kontrolni skupini pa je bila poapnela zalega prisotna v 0,08 družinah. Pridobljeni podatki kažejo da večjih razlik med kontrolno skupino in skupino kjer se je strup pridobival ni in da samo pridobivanje čebeljega strupa, na način kot smo ga izvajali v raziskavi nima večjih negativnih vplivov na čebelje družin.

5.5.4 Vpliv pridobivanja strupa na zaloge hrane

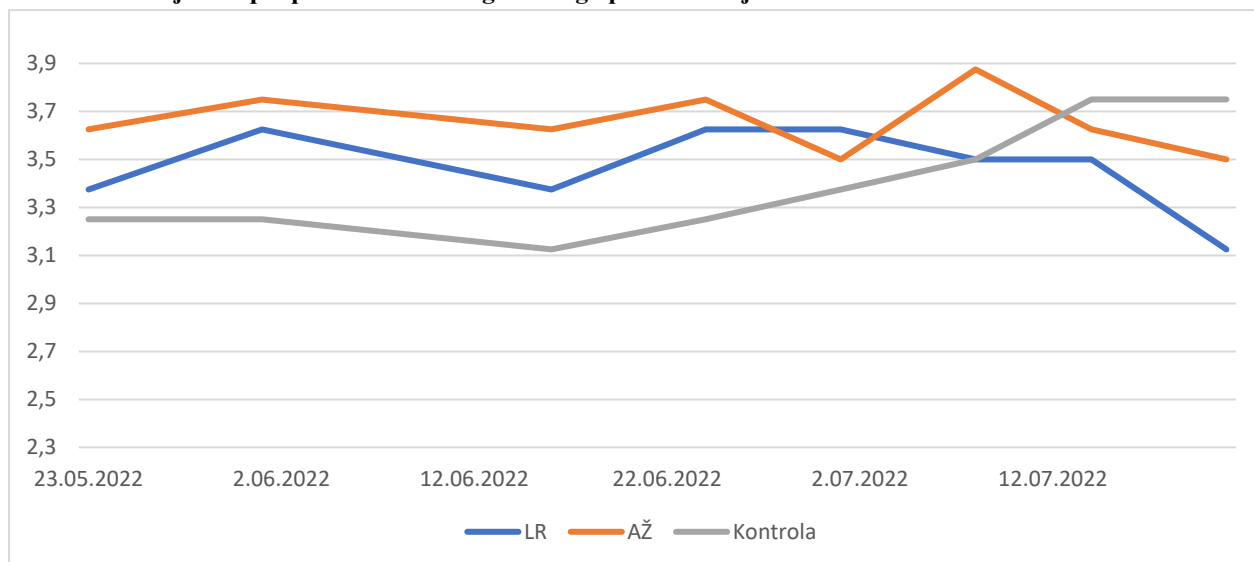
Graf 8: Primerjava v povprečni oceni zalog hrane čebeljih družin



Kot je razvidno iz grafa 8 se zaloge hrane pri čebeljih družinah kjer se je strup pridobival niso veliko spreminjale. Opazen pa je rahel porast zalog hrane pri kontrolni skupini ki pa je povezan predvsem s pojavom paše in povečanim vnosom zalog hrane v čebelje družine.

5.5.5 Vpliv pridobivanja strupa na zalogo cvetnega prahu

Graf 9: Primerjava v povprečni oceni zalog cvetnega prahu čebeljih družin



Kot je razvidno iz grafa 9 sprememb v zalogi cvetnega prahu pri čebeljih družinah po pričetku pridobivanja čebeljega strupa ni bilo opaziti, prav tako pa ni prisotnih večjih razlik med zalogami cvetnega prahu pri čebeljih družinah kjer se je strup pridobival in kontrolnih čebeljih družinah.

6 ZAKLJUČEK

V letu 2022 smo raziskavo opravili na osem čebeljih družinah v LR panjih in osem čebeljih družinah v AŽ panjih kjer smo skupno opravili 7 pridobivanj čebeljega strupa, in pridobili skupno 3,0621 g čebeljega strupa. Količine pridobljenega strupa so se med posameznimi pridobivanji in med posameznimi čebeljimi družinami statistično razlikovale, v povprečju pa smo v enem pridobivanju na 16 čebeljih družinah pridobili $0,4374\text{g} \pm 0,1125\text{g}$ čebeljega strupa, v posamezni družini pa pri vsakem pridobivanju v povprečju $0,0273 \pm 0,0070\text{g}$ čebeljega strupa.

Ob primerjavi pridobljenih količin strupa med LR in AŽ panjskim sistemom smo ugotovili so bile tako skupne, kot tudi povprečne količine pridelanega strupa v LR panjih nekoliko večje, večji pa je bil tudi razpon men najmanjšo in največjo težo vzorca. Le ta je bila v primeru LR panja 0,0005 in 0,1465 pri AŽ panju pa 0,002 in 0,0745. Kljub temu pa ANOVA test ne pokaže statistično značilnih razlik med obema panjskima sistemoma.

Ugotavljali smo tudi razliko v količini pridelanega strupa v kolikor se je strup pridobil 30 minut in 45 minut in ugotovili, da je pri času pridobivanja 45 minut povprečni pridelek strupa večji za okrog 22 % kot pa pri 30 minutnem pridobivanju. Iz tega lahko sklepamo, da je 15 minut daljše pridobivanje bolj smiselno.

Čebelji strup pridobljen v letu 2022 smo shranjevali v dveh ločenih vzorcih (strup pridobljen v AŽ panjih in strup pridobljen v LR panjih) in jih po zadnjem pridobivanju tudi vizualno ocenili. Spremljali smo vsebnost nečistoč in barvo čebeljega strupa. Pri teh dveh parametrih pa razlik v kvaliteti nismo opazili, tako da sta bila oba vzorca ocenjena z najboljšo oceno tako za vsebnost nečistoč kot tudi za barvo strupa. Razultat je smislen saj smo v letu 2022 za pridelavo strupa izbrali mesto pridobivanja ki se je v preteklem letu izkazalo za najboljšo tako po količini pridelanega strupa kot tudi po njegovi kvaliteti..

Čebelji strup pridelan v letih 2020 in 2021 smo konec leta 2021, na podlagi vizualne ocene razdelili v tri vzorce in jih poslali na analizo, kjer se je preverila vsebnost melitina, skupnih beljakovin in vsebnosti vode. Ocene za vsebnost melitina so sovpadale z vizualnimi ocenami za kvaliteto čebeljega strupa, saj je imel največjo vsebnost melitina, vzorec ki je bil najbolj vizualno ocenjen, najmanjšo vsebnost melitina pa je imel vzorec, ki je bil najslabše vizualno ocenjen. Največja vsebnost melitina je znašala 53,2 %, najmanjša pa 32,9%. Iz pridobljenih podatkov lahko sklepamo da je na podlagi vizualne ocene pridobljen strup možno razvrstiti glede na kvaliteto oziroma iz pridelanega strupa izločiti manj kvalitetne vzorce.

Raziskava je pokazala, da so med posameznimi čebeljimi družinami prisotne statistično značilne razlike v skupni količini pridobljenega čebeljega strupa. Pri LR panjih so razlike večje in znašajo med 0,4266 g in 0,0826 g skupne količine pridelanega strupa. Pri AŽ panjih so razlike med čebeljimi družinami manjše, največja skupna količina pridelanega strupa pa je znašala 0,3015g. Iz ugotovljenega lahko sklepamo, da imajo lastnosti posamezne družine velik vpliv na pridelavo čebeljega strupa.

Čeprav je bila količina pridelanega strupa med posameznimi čebeljimi družinami razmeroma velika pa je povprečna količina pridelanega strupa na čebeljo družino na pridobivanje znaša $0,0273 \pm 0,0070$ g kar sovпада z ugotovitvami Fakhima (1998). Glede na ugotovitve bi lahko z izbiro le optimalnih čebeljih družin povprečni pridelek čebeljega strupa tudi povečali. Tako se na primer povprečni pridelek čebeljega strupa v družini z najboljšimi rezultati, ki znaša 0,0609 g, približa podatkom ki jih v svoji raziskavi navajajo Bahrein in sod (2000).

Spremljali smo tudi vpliv posameznih lastnosti kot je moč, mirnost, kvaliteta in obseg zalege, zaloga hrane in zaloga cvetnega prahu na pridelava čebeljega strupa. Na podlagi statističnega testa za korelacijo nismo ugotovili statistično značilne povezave med ocenjevalnimi lastnostmi čebeljih družin in pridobljenim trupom. Kljub temu pa se v primeru moči čebeljih družin in pa v primeru zalog cvetnega prahu nakazuje možna pozitivna korelacija s količinami pridelanega čebeljega strupa. Vpliv zalog cvetnega prahu na večje količine strupa omenja tudi Omar (2011), vpliv moči čebelje družine oziroma števila čebel znotraj družin pa tudi številni drugi avtorji.

V vseh čebeljih družinah smo pred in tekom pridobivanja strupa spremljali tudi lastnosti čebelje družine (moč, mirnost, kvaliteta in obseg zalege, prisotnost zalog hrane in cvetnega prahu) tekom pridobivanja ter vrednoti primerjali s kontrolno skupino. Pri nobenem od spremljanih parametrov nismo ugotovili, da bi pridobivanje čebeljega strupa v kakršni koli meri vplivalo na spremljane parametre ali da bi pridelava strupa negativno vplivala na druge spremembe v čebeljih družinah, kot je izguba matice, preleganje matice ali pojav poapnele zalege..

7 VIRI

Auguštin V., Bali R, Borštnik B., Jurić A., Jus A., Kapun S., Lešnik V., Levičar M., Madjar J., Ocepek P. M., Seražin B., Sivec M., Skerbiš S.(2020).Piročnik dobre čebelarske prakse. Čebelarska zveza Slovenije. Lukovica: 52 str."

Bahreini, R.; Fakhim-zadeh, K.; Nowzary, J. and Nehzati, G.A.(2000). Design and construction of a venom collecting electric cage and its effects on honey production in honeybee colonies. Iranian J. Agr. Sc., 31 (2): 333-339.

Bogdanov S.; (2016). The bee venom book; Bee Product Science, www.bee-hexagon.net, April 2016

De Graff D. C. in sod (2020). Standard methods for *Apis mellifera* venom research;

El feel, M. A. (2017). Improvement of honey bee venom productivity in commercial apiaries. Ph.D. Thesis, Fac. of Agric. Cairo Univ. 135 pp.

El-Ashhab.; Omar, R. E.; M. M. Khattab; F. A El-Lakwah and K. A. (2013). Effect of bee venom collection on royal jelly production in honey bee colonies. Faculty of Agriculture, Moshtohor, Bnha University, Egypt.

Fakhim, Z. K. (1998). Improved device for venom extraction. Bee-world, 79 (1): 52-56.

Flanjak I., Kovačić M., Primorac L., Soldić A., Puškadija Z & Bilić Rajs B. (2021): Comparison between the quantity and quality of honey bee venom collected in the front and inside of the hive, Journal of Apicultural Research,

Golob S. (2020) Čebelji strup in njegovo pridobivanje. Slovenski čebelar, 2020, 7-8: 202-203

Haggag S.I.; Abed Al-Fattah, M.A.; Ewies M.A. and El-feel, M.A. (2015). Effect of Honeybee Venom Collection from Different Races on Honey Area. Aca. J. Entom., 8(4):190-192.

Hussein, A. E. ; M. K. El-Ansari and A. A. Zahra (2019). Effect of the Honeybee Hybrid and Geographic Region on the Honey Bee Venom Production. J. Plant Prot. and Path., Mansoura Univ., Vol.10 (3):171 - 176, 2019

Hussein, M.A.M. (2013). Studies of Some Factors Affecting Bee Venom Production . M sc. Thesis, Faculty of Environmental Agricultural Sciences, Suez Canal University, 127 pp.

Ionete, R. E., Oana, R., Dinca, O. R., Tamaian, R., & Geana, E. I. (2013). Exploring *Apis mellifera* venom compounds using highly efficient methods. Progress of Cryogenics and Isotops Separation, 16, 1133–1139.

Khodairy, M.M. and M.O.M.Omar (2003). The relationship between bee venom production by electrical impulses and certain characters of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Assiut J. Agric. Sci.*,34(5):115-130.

Kokot, Z. J., & Matysiak, J. (2009). Simultaneous determination of major constituents of honeybee venom by LCDAD. *Chromatographia*, 69(11-12), 1401–1405. <https://doi.org/10.1365/s10337-009-1052-9>

Markovic, O., & Mollnar, L. (1954). Isolation of and determination of bee venom. *Chemicke Zvesti*, 8, 80–90. [Google Scholar]

Mohanny, K. M. (2005). Investigations on propolis and bee venom produced by two hybrids of honey bee with reference to a new device for bee venom collection. Ph.D. Thesis, Fac. Agric. Fayoum, Cairo Univ. 142 pp.

Mohanny K. M. in Sanad R. E. (2019). The Efficacy of a New Modified Apparatus for collecting Bee Venom in Relation to Some Biological Aspects of Honeybee Colonies. *Journal of American Science* 2013;9(10)

Nenchev, P. and Stoichev, K. (1997). Influence of duration and numbers of electrostimulations on bees venom extraction. *Zhiotnov" dni Nauki. Supplement*, 281-283.

Omar, E. M. (2011). Some factors affecting acid gland and honey bee venom productivity. M. Sc . Thesis ,Fac. Of Agric. Assiut Univ., 89pp.

Omar, R.E. M. (2017). Effect of bee venom collection on the measurement of brood rearing activity of honey bee colony *Apis mellifera* L. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 6 (2): 409-414.

Pušnik V. 2016.: *Apiterapija*. Ljubljana, ČZD kmečki glas d.o.o: 124 str

Radivojac R. 2010: Čebelji strup- čudežno zdravilo. *Pčelar*, št. 4, april 2010

Rybak, M; Muszynska, J; Skubida, P., and Marcinkowski, J. (1995). A technology for bee venom collection *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*. 39 (S): 223-231.

Rybak-Chmielewska, H., & Szczerbna, T. (2004). HPLC study of chemical composition of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom. *Journal of Apicultural Science*, 48, 103–109.

Slovensko Čebelarstvo v tretje tisočletje 1. 2008. Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 439 str.

Slovensko Čebelarstvo v tretje tisočletje 2. 2011. Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 512 str.

Zhou, B.; Zhang, S.; Su, C.; Zhou, G.; Zhou, B.F.; Zhang, S.J.; Su, C. and Zhou, G.H. (2003). Effect of collection of venom by electric shocking on honeybee population, production of royal jelly and honey; *Acta Agriculture Universitatis Jiangxiensis*. 25 (1) 141-145