

UNIVERZITET U BEOGRADU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Leonidas G. Charistos

MORFOLOŠKE, GENETSKE I PROIZVODNE  
KARAKTERISTIKE POPULACIJA  
MEDONOSNIH PČELA (*APIS MELLIFERA* L.)  
U ZAVISNOSTI OD SASTAVA FITOCENOZA  
SEVERNE I CENTRALNE GRČKE

Doktorska disertacija

Beograd, 2013

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF AGRICULTURE

Leonidas G. Charistos

MORPHOLOGICAL, GENETICAL AND  
PRODUCTIVE CHARACTERISTICS OF  
HONEY BEE (*APIS MELLIFERA* L.)  
POPULATIONS IN THE  
PHYTOSOCIOLOGICAL COMPOSITION OF  
NORTH AND CENTRAL GREECE

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2013

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΒΕΛΙΓΡΑΔΙΟΥ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

Χαριστός Γ. Λεωνίδας

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ, ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΚΑΙ  
ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ  
ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΜΕΛΙΣΣΩΝ  
(*APIS MELLIFERA* L.) ΣΤΗ  
ΦΥΤΟΚΟΙΝΩΝΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ  
ΒΟΡΕΙΑΣ ΚΑΙ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Διδακτορική διατριβή

Βελιγράδι, 2013

## KOMISIJA

### **Mentor:**

1. Dr Mića Mladenović, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu,  
Poljoprivredni fakultet, Beograd – Zemun
- 

### **Članovi komisije:**

2. Dr Radica Đedović, vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu -  
Poljoprivredni fakultet, Beograd – Zemun
- 
3. Dr Ljubiša Stanisavljević, vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu -  
Biološki fakultet, Beograd
- 
4. Dr Marija Buga, istraživač, Laboratory of Agricultural Zoology &  
Entomology Of Agricultural University of Athens, Greece
- 
5. Dr Fani Hatjina, istraživač, Hellenic Institute of Agriculture  
(N.AG.RE.F), N.Moudania, Greece
- 

### **Datum odbrane:**



# MORFOLOŠKE, GENETSKE I PROIZVODNE KARAKTERISTIKE POPULACIJA MEDONOSNIH PČELA (*APIS MELLIFERA* L.) U ZAVISNOSTI OD SASTAVA FITOCENOZA SEVERNE I CENTRALNE GRČKE

## Rezime

Iako Grčka predstavlja veoma važnu zemlju kad je reč o pčelarstvu, ona ne raspolaže organizovanim sistemom selekcije i proizvodnje matica. Takođe, iako postoje istraživanja koja genetski i morfološki izdvajaju neke od populacija medonosnih pčela, ne postoje nikakvi podaci o njihovim produktivnim karakteristikama, pa samim tim ni o kvalitetu matica koje se proizvode. Intenzivne pčelarske aktivnosti, kupoprodaja pčela i matica i migracije pčelinjih društava su dovele do uvođenja mnogih hibrida, tako da su preovladale hibridne gajene populacije pčela podvrste *A. mellifera macedonica*. U severnoj i centralnoj Grčkoj, gde su, kako smatra Ruttner (1988), u početku postojale dve podvrste medonosne pčele: *A. m. macedonica* i *A. m. cecropia*, proizvode se matice čije produktivne karakteristike nisu poznate. U produktivne karakteristike se ubrajaju broj pčela i ćelija legla u toku godine, sakupljanje meda i nektara, agresivnost, tendencija ka rojenju, higijensko ponašanje. Tu se takođe ubrajaju i merenja anatomskih karakteristika matica, kao što je broj ovariola i prečnik spermateke. Odabrano je ispitano četiri populacija pčela sa različitih područja severne Grčke i sprovedena analiza na genetskom nivou, morfološkim i produktivnim osobinama. Jedna populacija pčela iz Larise, jedna sa Halkidikija i dve populacije pčela iz zapadne Makedonije (Kastoria i Arta). Po prvi put je obavljeno istraživanje gorenavedenih karakteristika matica, koje su izabrane populacije proizvele i zabeležene su značajne razlike u svim merenim karakteristikama ispitivanih matica.

Utvrđeno je da se u pogledu anatomskih karakteristika ispitivane matice međusobno statistički značajno ne razlikuju, i da su te vrednosti u skladu sa vrednostima koje je postavila Akreditovana laboratorija za utvrđivanje kvaliteta matica. Blaga tendencija ka superiornosti po pitanju broja ovariola se javila samo kod ispitivanih matica iz Larise. Velike razlike su nađene između ispitivanih populacija u pogledu prolećnog razvoja, sa primetnom superiornošću populacije pčela sa Halkidikija, zbog najboljeg prilagođavanja na lokalne uslove sredine. Ista populacija pčela je sakupljala i više polena i meda u odnosu na ostale. Imala je, takođe, i izraženo higijensko ponašanje i malu tendenciju ka rojenju. Populacija

pčela iz Larise se odlikuje najizraženijim higijenskim ponašanjem, ali i najvećom rojivošću, kao i relativno sporim ritmom razvoja. Kod populacije pčela iz Arte su slabi rezultati u higijenskom ponašanju, slaba tendencija razvoja i mala produktivnost. Na kraju, populacija pčela iz Kastorije je pratila tendencije populacije pčela sa Halkidikija.

Iako su postojale značajne razlike u higijenskom ponašanju ispitivanih populacija pčela, one nisu imale nikakav uticaj na invadiranost varoom i nozemozom, koja je bila slična kod svih ispitivanih populacija. Osobina higijenskog ponašanja ima više veze sa bolestima koje se odnose na pčelinje leglo.

Ispitivane proizvodne karakteristike odražavaju i razlike u genetskom sastavu ispitivanih populacija pčela, na koje je ukazala i izoenzimska analiza, a potvrdila analiza mtDNK. Istovremeno, geometrijska morfometrija je pokazala da postoje razlike među populacijama, ali nije uspela da ih potpuno izdvoji, što je slučaj i sa klasičnom morfometrijom. Dakle, u skladu sa izoenzimskom analizom i analizom mtDNK, četiri ispitane populacije pčela mogu da se okarakterišu na sledeći način: populacija pčela iz Larise je potomak cekropija pčela (*A. m. cecropia*), a populacije pčela sa Halkidikija, iz Kastorije i Arte su ekotipovi makedonske pčele (*A. m. macedonica*).

Ispitivane proizvodne karakteristike ne predstavljaju dokaz ustanovljenog ponašanja ovih populacija, već njihovog diferenciranja kad se ispituju u istom mikrokruženju. Ovi rezultati koji pokazuju određene razlike među ispitivanim populacijama navode nas na detaljnije ispitivanje ovih populacija što bi naročito pomoglo pčelarima praktičarima. Ispitivanje i evidentiranje kvaliteta matica ovih populacija pčela će predstavljati osnovu za budući program selekcije i unapređenja konkretnih linija matica sa ciljem da se poveća efikasnost pčelinjih društava, kao i da se očuvaju populacije medonosnih pčela sa poželjnim karakteristikama.

**Ključne reči:** matica medonosne pčele, proizvodne osobine, genom, varijabilnost, morfometrija.

**Naučna oblast:** Zootehnika

**Uža naučna oblast:** Odgajivanje i reprodukcija domaćih i gajenih životinja

**UDK broj:** 638.12.1:575.113(495)(043.3)

# MORPHOLOGICAL, GENETICAL AND PRODUCTIVE CHARACTERISTICS OF HONEY BEE (*APIS MELLIFERA* L.) POPULATIONS IN THE PHYTOSOCIOLOGICAL COMPOSITION OF NORTH AND CENTRAL GREECE

## Abstract

Even though Greece is an important country when it comes to beekeeping, it does not have an organized system for the selection and production of honey bee queens. Also, while there are studies that distinguish the Greek honey bee populations on genetic and morphological bases, there is no data on the productive characteristics of these bee populations and therefore no data on the quality of the produced queen bees. Due to increased beekeeping activity, the trade of honey bee queens as well as the migration of colonies have brought great hybridization and, in particular to the populations of *A. m. macedonica*. In Northern and Central Greece, where in the past originally *A. m. macedonica* and *A. m. cecropia* existed, respectively according to Ruttner (1988), queen bees with unknown productive characteristics are being produced. Productive characteristics include the fluctuations of bee populations and brood cells during the year, the collection of honey and pollen, the aggressiveness, the tendency to swarm, the prevalence of diseases in relation to hygienic behavior, and the specific anatomic characteristics of queen bees, such as the number of ovarioles and the diameter of spermatheca. In this study, four populations have been selected to be characterized genetically, morphologically and productively. One population from Central Greece (Larisa), one from the main beekeeping area in North Greece (Chalkidiki) and two from Western Macedonia (Kastoria and Arta). For the first time, a record of the above mentioned characteristics has been made for the queen bees produced by the selected populations, and important differences have been recorded in all of the measured characteristics of the queen bee populations.

When it comes to the anatomic characteristics of the queen bees, no significant difference was found, with values higher than the limits set by the Accredited Laboratory for the Certification of Honey Bee Queen's Quality. When it comes to the number of ovarioles, a slight trend of dominance occurred in the population from Larisa. The differences that have been found in respect of the rest of the characteristics focus on the tendency of the bee populations to grow in the spring, with the distinctive dominance of the population from

Chalkidiki, probably as an adjustment to the local conditions. The same population was collecting more pollen and honey compared to the others. It has also been demonstrated that the same population has high hygienic behavior and a low swarming tendency. The population from Larisa is characterized by the highest hygienic behavior, but also by the highest swarming tendency, as well as by slow rate of development. The population from Arta showed a low percentage of hygienic behavior, and a low rate for growth and production. Finally, the population from Kastoria followed the tendency of the one from Chalkidiki.

Although there were significant differences concerning the hygienic behavior of the bee populations, they appear to have no influence on the prevalence of infection of *Varroa* mite and Nosemosis, which was very similar in all of the populations, likely because this characteristic has more to do with the prevalence of the brood diseases..

The noted productive characteristics may be reflecting, to a certain extent, the differences in genetic composition of these populations which were identified by the isoenzyme analysis, and confirmed mostly by the mt-DNA analysis.

At the same time, the geometric morphometrics showed that there are some differences between the populations, but it failed to distinguish them completely, the same was with classic morphometrics. Thus according to the isoenzyme analysis and the analysis of mitochondrial DNA, the four populations that were tested could theoretically be characterized as follow: the population from Larissa as an progeny of the Cecropia bee (*A. m. cecropia*), and the populations from Chalkidiki, Kastoria and Arta as descendant ecotypes of the Macedonian bee (*A. m. macedonica*).

The productive characteristics noted do not represent proof for the established behavior of these populations, but of their differentiation when tested in the same micro-environment and since there appear to be differences between them, it is worth examining their behavior more thoroughly, in order to be of greater assistance to beekeepers. Recording the elements of the queen bees' quality in these populations will represent a basis for a selection and breeding program of the specific groups in order to increase the efficiency of the bee populations as well as to preserve the populations with specific characteristics.

**Keywords:** honey bee queen, productive characteristics, genome, variability, morphometrics.

# ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ, ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΜΕΛΙΣΣΩΝ (*APIS MELLIFERA* L.) ΣΤΗ ΦΥΤΟΚΟΙΝΩΝΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ ΒΟΡΕΙΑΣ ΚΑΙ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

## Περίληψη

Η Ελλάδα παρόλο που αποτελεί μία πολύ σημαντική χώρα σε σχέση με τη μελισσοκομία, δεν διαθέτει οργανωμένο σύστημα επιλογής και παραγωγής βασιλισσών μελισσών. Επίσης ενώ υπάρχουν μελέτες που διακρίνουν γενετικά και μορφολογικά κάποιους από τους πληθυσμούς μελισσών, δεν υπάρχουν καθόλου στοιχεία για τα παραγωγικά χαρακτηριστικά των πληθυσμών αυτών και επόμενα για την ποιότητα των βασιλισσών που παράγονται. Λόγω της μεγάλης μελισσοκομικής δραστηριότητας, οι αγοραπωλησίες των μελισσών καθώς και οι μετακινήσεις έχουν επιφέρει μεγάλους υβριδισμούς και κατά γενικό κανόνα έχουν επικρατήσει υβριδισμένοι πληθυσμοί της *A. m. macedonica*. Στη Βόρεια και Κεντρική Ελλάδα, όπου αρχικά σύμφωνα με τον Ruttner (1988) υπήρχαν η *A.m. macedonica* και η *A. m. cecropia* παράγονται βασίλισσες για τις οποίες τα παραγωγικά χαρακτηριστικά δεν είναι γνωστά. Στα παραγωγικά χαρακτηριστικά συμπεριλαμβάνονται η αυξομοίωση του πληθυσμού και των κελιών γόνου στη διάρκεια του έτους, η συλλογή μελιού και γύρης, η επιθετικότητα, η τάση σμηνουργίας, η εμφάνιση ασθενειών σε σχέση με την εξυγιαντική συμπεριφορά. Επίσης μετρήσεις και στα ανατομικά χαρακτηριστικά των βασιλισσών, όπως ο αριθμός των ωοφόρων σωλήνων και η διάμετρος της σπερματοθήκης. Τέσσερεις πληθυσμοί επιλέχθηκαν να χαρακτηριστούν γενετικά, μορφολογικά και παραγωγικά. Ένας πληθυσμός από την Λάρισα, ένας από τη Χαλκιδική και δύο από τη δυτική Μακεδονία. Για πρώτη φορά έγινε καταγραφή των παραπάνω χαρακτηριστικών των βασιλισσών που παρήχθησαν από τους επιλεγμένους πληθυσμούς και σημαντικές διαφορές καταγράφησαν σε όλα τα μετρούμενα χαρακτηριστικά των πληθυσμών βασιλισσών.

Τα ανατομικά χαρακτηριστικά των βασιλισσών δεν βρέθηκαν να είναι σημαντικά διαφορετικά μεταξύ τους, με τιμές ανώτερες των ορίων που έχει θέσει το Διαπιστευμένο Εργαστήριο για την Πιστοποίηση της Ποιότητας των βασιλισσών μελισσών. Μία μικρή τάση υπεροχής στον αριθμό των οβαριολών εμφανίστηκε μόνο στον πληθυσμό από τη Λάρισα. Οι μεγάλες διαφορές που βρέθηκαν επικεντρώνονται στην τάση των μελισσοσμηγών να αυξάνονται την άνοιξη, με χαρακτηριστική υπεροχή του πληθυσμού από τη Χαλκιδική,

πιθανά ως προσαρμογή στις ντόπιες συνθήκες. Ο ίδιος πληθυσμός συνέλεγε περισσότερο γύρη και μέλι σε σχέση με τους υπόλοιπους. Είχε επίσης υψηλή εξυγιαντική συμπεριφορά και χαμηλή τάση σμηνουργίας. Ο πληθυσμός από τη Λάρισα χαρακτηρίστηκε από την υψηλότερη εξυγιαντική συμπεριφορά αλλά και την υψηλότερη σμηνουργία, καθώς και μικρούς σχετικά ρυθμούς ανάπτυξης. Ο πληθυσμός της Άρτας εμφανίστηκε με πολύ μικρά ποσοστά εξυγιαντικής συμπεριφοράς, και μικρή τάση αύξησης και παραγωγικότητας. Τέλος ο πληθυσμός από την Καστοριά ακολουθούσε την τάση αυτού της Χαλκιδικής.

Παρόλο που υπήρχαν σημαντικές διαφορές στην εξυγιαντική συμπεριφορά των πληθυσμών, δεν εμφανίστηκε να έχουν καμία επίδραση στην προσβολή από Βαρρόα και Νοσεμίαση, η οποία ήταν παρόμοια ανάμεσα στους πληθυσμούς, πιθανά γιατί το χαρακτηριστικό αυτό συνδέεται περισσότερο με τις ασθένειες του γόνου των μελισσών.

Τα παρατηρούμενα παραγωγικά χαρακτηριστικά, ίσως αντανακλούν ως ένα βαθμό τις διαφορές στη γενετική σύσταση των πληθυσμών αυτών οι οποίες επισημάνθηκαν με τη ισο-ενζυμική ανάλυση αλλά επιβεβαιώθηκαν κύρια με την ανάλυση του Mt-DNA. Την ίδια στιγμή η γεωμετρική μορφομετρία έδειξε ότι υπάρχουν διαφορές μεταξύ των πληθυσμών, αλλά απέτυχε να τους διακρίνει τελείως, το ίδιο και η κλασική μορφομετρία. Σύμφωνα λοιπόν με την ισο-ενζυμική ανάλυση και την ανάλυση του Μιτοχονδριακού DNA, οι 4 πληθυσμοί που εξετάστηκαν μπορούν να χαρακτηριστούν ως εξής: ο πληθυσμός από τη Λάρισα ως απόγονος της Κεκρόπιας μέλισσας (*A. m. cecropia*), και οι πληθυσμοί από την Χαλκιδική, Καστοριά και Άρτα ως οικότυποι της Μακεδονικής μέλισσας (*A. m.macedonica*).

Τα παραγωγικά χαρακτηριστικά που καταγράφηκαν δεν αποτελούν απόδειξη της πάγιας συμπεριφοράς των πληθυσμών αυτών, αλλά της διαφοροποίησής τους όταν εξετάζονται στο ίδιο μικροπεριβάλλον και από την στιγμή που εμφανίζονται να είναι διαφορετικοί μεταξύ τους, αξίζει να μελετηθεί η συμπεριφορά τους με λεπτομέρεια, έτσι ώστε να βοηθηθούν και οι μελισσοκόμοι περισσότερο. Η καταγραφή και τα στοιχεία ποιότητας των βασιλισσών των πληθυσμών αυτών θα αποτελέσουν τη βάση για ένα πρόγραμμα επιλογής και βελτίωσης συγκεκριμένων σειρών με στόχο τη αύξηση της αποδοτικότητας των μελισσοσμηνών καθώς και τη διατήρηση πληθυσμών με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά.

**Λέξεις κλειδιά:** *Apis mellifera*, πληθυσμοί, Ελλάδα, χαρακτηριστικά, μορφολογικά, γενετικά, παραγωγικά

<b>Sadržaj</b>	strana
<b>1 Uvod</b>	1
1.1 Pčelarstvo kao tradicionalna grana poljoprivrede u Grčkoj od antičkih vremena do danas	1
1.2 Podaci o pčelarstvu u Grčkoj danas	2
1.3 Podvrste medonosnih pčela u Grčkoj i njihove karakteristike	2
<b>2 Pregled literature</b>	
2.1 Metode za determinisanje populacija pčela	4
2.2 Savremeno pčelarstvo, rizici za očuvanje biodiverziteta pčela	6
2.3 Razvoj populacija pčela u kombinaciji sa fitocenološkim sastavom područja i klimatskim uslovima	7
2.4 Metode ocenjivanja razvoja pčelinjih društava, njihovih bioloških i produktivnih karakteristika	8
2.5 Produktivne karakteristike grčkih populacija pčela	10
<b>3 Ciljevi i zadaci istraživanja</b>	11
<b>4 Materijal i metode rada</b>	12
4.1 Izabrane populacije medonosnih pčela	12
4.2 Klima u oblastima porekla matica	13
4.2.1 Arta	13
4.2.2 Larisa	13
4.2.3 Kastorija	14
4.2.4 Halkidiki	15
4.3 Formiranje eksperimentalnih pčelinjih društava	15
4.4 Fitocenološki sastav u regionu posmatranja pčeljih društava	19
4.5 Karakteristike kvaliteta matica	27
4.5.1 Anatomske karakteristike	27
4.5.2 Karakteristike legla (kvalitet matica)	28
4.6 Proizvodne osobine i osobine ponašanja	29
4.6.1 Razvoj pčelinjih društava	30
4.6.2 Produktivnost pčelinjih društava (unos medljike)	31
4.6.3 Rojidbeni nagon	32
4.6.4 Higijensko ponašanje	32
4.6.5 Simptomi prisustva bolesti	33
4.7 Analiza morfometrijskih parametara medonosne pčele	35
4.7.1 Klasična morfometrija	35
4.7.2 Geometrijska morfometrija	37
4.8 Analiza genoma medonosne pčele	38
4.8.1 Izoenzimska analiza	38
4.8.2 Analiza mitohondrijalne DNK (mtDNK)	39

4.9 Statistička obrada i analiza	40
<b>5 Rezultati</b>	41
5.1 Karakteristike kvaliteta matica	41
5.1.1 Anatomske karakteristike	41
5.1.2 Karakteristike legla	42
5.2 Proizvodne karakteristike i karakteristike ponašanja	43
5.2.1 Razvoj pčelinjih društava	43
5.2.2 Produktivnost pčelinjih društava	51
5.2.3 Rojenje	52
5.2.4 Higijensko ponašanje	54
5.2.5 Bolesti	56
5.2.5.1 Varroa	56
5.2.5.2 Nozemoza	58
5.3 Analiza genoma	59
5.3.1 Izoenzimska analiza	59
5.3.2 Analiza mtDNK	60
5.3.3 Analiza geometrijske morfometrije	67
5.4 Klasična morfometrija	73
<b>6 Diskusija</b>	83
6.1 Analiza genoma	88
<b>7 Zaključak</b>	91
<b>8 Literatura</b>	96
<b>9 Biografija autora</b>	110
<b>10 Prilozi</b>	112
Prilog 1. Klimatski podaci za područje gde su se nalazila ispitivana pčelinja društva	112
Prilog 2. Slike disekovanih matica	114
Prilog 3-1. Slike iz populacije Arta, ramovi na kojima su obavljena merenja praznih ćelija legla	116
Prilog 3-2. Slike iz populacije Halkidiki, ramovi na kojima su obavljena merenja praznih ćelija legla	117
Prilog 3-3. Slike iz populacije Kastorija, ramovi na kojima su obavljena merenja praznih ćelija legla	118
Prilog 3-4. Slike iz populacije Larise, ramovi na kojima su obavljena merenja praznih ćelija legla	119
Prilog 4. Analitički podaci o broju odraslih pčela po regionama u ispitivanim kontrolnim pregledima pčelinjih društava po sezone i godine merenja	120
Prilog 5. Analitički podaci o broju ćelija sa leglom po regionama u ispitivanim kontrolnim pregledima pčelinjih društava po sezonama i godinama merenja	121
Prilog 6. Analitički podaci o broju ćelija sa medom po regionama u ispitivanim kontrolnim pregledima pčelinjih društava po sezonama i	122



godinama merenja	
Prilog 7. Analitički podaci o broju ćelija sa polenom po regionama u ispitivanim kontrolnim pregledima pčelinjih društava po sezonama i godinama merenja	123
Prilog 8. Analitički podaci o produktivnosti meda (kg) pčelinjih društava svakog regiona po godinama merenja	124
Prilog 9. Grafički prikaz proizvodnih osobina po ispitivanim populacijama u periodu istraživanja	125
Prilog 10. Analitički podaci za rojidbeni nagon pčelinjih društava svakog regiona u obe godine istraživanja.	127
Prilog 11. Analitički podaci za očišćene ćelije legla nakon 24 časa po pčelinjim društvima svakog regiona po godinama merenja	127
Prilog 12. Analitički podaci za očišćene ćelije legla nakon 48 časa po pčelinjim društvima svakog regiona po godinama merenja	128
Prilog 13. Analitički podaci Varroa u %	128
Prilog 14. Analitički podaci Nosemoza (broj spora po pčeli)	129
Prilog 15. Analitički podaci klasične morfometrije (prosečne vrednosti)	130
Prilog 16. Analitički podaci klasične morfometrije (standardna greška)	131
Prilog 17. Izjava o autorstvu	132
Prilog 18. Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada	133
Prilog 19. Izjava o korišćenju	134

# 1 Uvod

## 1.1 Pčelarstvo kao tradicionalna grana poljoprivrede u Grčkoj od antičkih vremena do danas

Počeci pčelarstva u Grčkoj potiču iz mitskog perioda. Prvi se pojavio Aristej, mitski lik koji je kao i Prometej i Herakle pomagao ljudima toga vremena. Aristej je podučavao ljude svim agrarnim veštinama, među kojima je bilo i pčelarstvo.

U Homerovim delima postoje delovi koji govore o upotrebi meda (*Odiseja* X-519, XX-168, X-213). Hesiod takođe navodi tip košnice u kojima su ljudi uzgajali pčele, takozvane *simvlous*. I arheološka otkrića na Kritu, koja datiraju od 3.400 godine pre Hrista, odnosno iz minojskog doba, kao što su glinene košnice, predstave na vazama, poznati zlatni privezak u obliku pčele, pokazuju da je pčelarska praksa bila poznata u drevnim vremenima i pre Homera.

Prema arheolozima, pčelarstvo je iz Egipta stiglo na Krit, a odatle u druge krajeve Grčke. Četiri ili pet vekova nakon Homera i Hesioda, zapisi Aristotela (322 godina pre Hrista), poznatog antičkog naučnika, predstavljaju prekretnicu za pčelarstvo u antičkoj Grčkoj i u tadašnjem čitavom civilizovanom svetu. U vreme pre Aristotela pčelarstvo je bilo priznato kao delatnost, što svedoče Solonovi zakoni u delu koji se odnosi na udaljenost između pčelinjaka (640-558 godina pre Hrista). Otac medicine, Hipokrat, (462-352 godina pre Hrista) preporučivao je upotrebu meda i zdravim i bolesnim ljudima, dok su filozofi Demokrit i Anakreon povezivali svoju dugovečnost sa medom. I drugi pisci bavili su se pčelama, poput Anaksagore, Ksenofona, Hekateja. U različitim delovima antičke Grčke su prikazivane pčele na mnogim kovanim novčanicama.

Aristotel je međutim jedini izučavao život i ponašanje medonosne pčele. Za posmatranje je koristio jednu košnicu, sličnu primitivnim *košarama*, odozdo zatvorenu, od gore otvorenu sa pokretnim saćem! Ova košnica samatra se prethodnicom savremenih košnica sa pokretnim saćem! Aristotel je prvi primetio da:

- Među pčelama postoji jedan veći insekt koga je nazvao „kraljem“.
- „Kralj“ ima žaoku, ali je ne koristi.
- U košnici postoji podela rada.
- Pčele posećuju istu biljnu vrstu prilikom svojih izleta iz košnice.

- Pčela uquine kada izgubi žaoku.
- „Kralj“ napušta staru košnicu sa delom roja.
- Pčele ne ostavljaju izmet unutar košnice.
- Trutovi uginu kada se zaustavi cvetanje u prirodi.
- Pčele ubijaju višak „kraljeva“ u košnici.
- Ne nastaju nove pčele radilice kada ne postoji „kralj“ u roju.

Od Aristotelovog vremena do otkrića mikroskopa prošlo je oko 1.400 godina i ovo otkriće je doprinelo da se reše mnoge nedoumice u pčelarstvu i da se otvore brojna pitanja i doprinese ubrzanom razvoju ove veoma važne grane poljoprivrede. (*Aristotel 350 pre nove ere*)

## 1.2 Podaci o pčelarstvu u Grčkoj danas

Danas u Grčkoj postoji oko 20.000 pčelara sa oko 1.400.000 košnica. 39% od ukupnog broja su profesionalni pčelari sa više od 200 košnica, i oni imaju ukupno oko 700.000 košnica. Grčka se nalazi na drugom mestu u Evropi po gustini košnica po km<sup>2</sup> (9,9 košnica po km<sup>2</sup>). Ukupna godišnja proizvodnja meda u Grčkoj iznosi 15.000 tona, od čega se 300 tona izvozi u Evropu. Prosečna proizvodnja po košnici kreće se od 17 do 20 kg (*Papanagiotou, 2010*).

Med je osnovni i najvažniji pčelinji proizvod i 60-70% godišnje proizvodnje meda u Grčkoj čini borov med. Ostale vrste šumskog meda su med od jele i hrastov med. Cvetni med potiče pretežno od majčine dušice, kao i od narandže, vresa, kestena, pamuka, suncokreta, deteline, bagrema (akacije), eukaliptusa ili divljeg cveća.

Postoji oko 80 pčelarskih zadruga, od kojih je najveća u mestu Nikiti na poluostrvu Halkidiki. Sva udruženja pčelara u zemlji su sastavni deo Federacije pčelarskih udruženja Grčke što dokazuje postojanje velike pčelarske tradicije u ovom delu Evrope.

## 1.3 Podvrste medonosnih pčela u Grčkoj i njihove karakteristike

Prema Ruttner-u (Ruttner,1988) (Slika 1), u Grčkoj postoje sledeće geografske rase ili podvrste medonosnih pčela: *A. mellifera carnica* (na jonskim ostrvima), *A. m. macedonica* (u Makedoniji i Trakiji), *A. m. cecropia* (u centralnoj i južnoj Grčkoj), *A. m. adami* (na Kritu i na

egejskim ostrvima). Danas u Grčkoj, usled velikih migracija i kupoprodaje pčelinjih matica i društava dolazi do mešanja rasa, prevashodno sa *A. m. macedonica*. Retki su krajevi (na nekim egejskim ostrvima i u Larisi – centralna Grčka) u kojima postoje populacije koje se razlikuju od *A. m. macedonica* (Bouga et al., 2004; Bouga et al., 2005a,b; Martimianakis et al., 2011; Charistos et al., 2014). Takođe, prema Ruttner-u (1988) *A. m. adami* ima slične karakteristike sa pčelama sa istoka, dok su *A. m. cecropia* i *A. m. macedonica* morfološki bliže kranjskoj (*A. m. carnica*) i italijanskoj pčeli (*A. m. ligustica*).

Prema Ruttner-u (1988), *A. m. macedonica* je rasprostranjena u Makedoniji, Trakiji i iznad linije gradova Joanina – Mecovo – Kalambaka u Epiru i Tesaliji. Generalno je tamnije boje u odnosu na kranjsku pčelu i ima veću rilicu. Održava veliku brojnost pčela u društvu, čak i zimi, dok se sporije razvija u proleće. Smatra se „najmirnijom“ pčelom, ali je osetljiva na nozemu. Ipak, najveći kvalitet *A. m. macedonica* leži u otpornosti na akariozu (Hatjina and Haristos, 2005).

*Apis m. cecropia* je prisutna u kontinentalnoj Grčkoj ispod linije rasprostranjenja *A. m. macedonica* pa sve do Peloponeza (Ruttner, 1988). Radi se o pčeli koja je neznatno veća od *A. m. macedonica*, koja više liči na kranjsku pčelu, ali sa dužim krilima i rilicom od kranjske pčele. Nažalost, ne postoji zabeleženo neko karakteristično ponašanje ove pčele. Brother Adam (1968) navodi, ne pojašnjavajući da li misli na *A. m. macedonica* ili *A. m. cecropia*, da grčka pčela ima veoma dobre karakteristike i da je verovatno bolja od drugih evropskih rasa pčela.



Slika 1-1. Rasprostranjenje grčkih pčela, modifikovano prema Ruttner (1988).

## 2 Pregled literature

### 2.1 Metode za determinisanje podvrsta medonosnih pčela

Izučavanje morfometrijskih karakteristika predstavljalo je tokom dužeg vremenskog perioda jedini način opisivanja raznovrsnosti pčela. Ova tradicionalna metoda naziva se „klasična morfometrija“ i zasniva se na merenju i uporednoj analizi pojedinih delova tela pčela. Kod prvih istraživanja upotrebljavan je mali broj morfoloških karakteristika, dok se u novijim istraživanjima koristilo i do 42 morfološka karaktera. Kao najznačajniji od njih navode se: dužina prednjeg krila, širina prednjeg krila, dužina radijalne ćelije (a), dužina diskoidne ćelije (b), kubitalni indeks (a/b), dužina zadnjeg krila, širina zadnjeg krila, dužina buta zadnje noge, dužina golenjače zadnje noge, dužina bazitarsusa, širina bazitarsusa, dužina jezika (rilice). Ovom metodom opisano je 26 podgrupa pčela (*Ruttner, 1988, 1992; Sheppard et al., 1997; Engel, 1999; Sheppard and Meixner, 2003*) sa karakterizacijom „geografske rase/podvrste“, jer je njihova rasprostranjenost povezana sa različitim geografskim područjima. Klasična morfometrija koristi se u mnogim zemljama za razlikovanje podvrsta medonosnih pčela (*Mladenovic et al., 2011; Bouga et al., 2011*). Istraživanjem morfoloških karakteristika pčela radilica u kontinentalnoj Grčkoj (*Ifantidis, 1979*), nije konstatovana pojava hibridizacije između podvrsta.

Postoje i druge metode koje takođe služe da za determinaciju različitih populacija pčela (alozimi – izoenzimi) (*Nunamaker and Wilson, 1982; Badino et al., 1988*). Ove metode zasnivaju se na upotrebi nekih enzimskih sistema poput GPDH, AO, MDH, ADH, LAP, SOD, ALP, ACPH, ME, EST. Ove metode upotrebljene su za analizu filogenetskih veza populacija *A. mellifera* i u Grčkoj (*Bouga et al., 2005b*). U skladu sa istraživanjima (*Badino et al., 1988*) na Kritu postoji čista rasa pčela, dok su populacije sa područja centralne i severne Grčke različite u odnosu na ostale populacije pčela u Grčkoj. U istraživanjima populacija pčela iz kontinentalne Grčke (*Bouga et al., 2005b*), utvrđeno je da se one razlikuju među sobom, ali se ne bi mogle izdvojiti i klasifikovati kao autohtone podvrste. *Ivanova et al., (2012)* saopštavaju da se populacije pčela iz centralne Grčke razlikuju značajno od populacija pčela iz Makedonije.

Danas se za istraživanja genetske strukture i evolucije medonosnih pčela u velikoj meri koriste istraživanja na molekularnom nivou. Takve studije odnose se na istraživanje nuklearne DNK (Hall, 1990; Tarès et al., 1993) mitohondrijske DNK (Moritz et al., 1986; Garnery et al., 1993; De la Rúa et al., 2005) i mikrosatelitske DNK (Estoup et al., 1993; Garnery et al., 1998). Rezultati ovih istraživanja se veoma često kombinuju sa morfometrijskom analizom (Bouga et al., 2011). Izučavanje mitohondrijske DNK vrši se analizom nekih segmenata gena tehnikom RFLP (restriction fragment length polymorphism). MtDNK se nalazi u mitohondrijama eukariotskih ćelija. U mtDNKA se nalaze geni za enzime koji učestvuju u pretvaranju hemijske energije iz hrane u oblik koje ćelije mogu da koriste – adenzin trifosfat (ATP). Iako je mali dvostruki lanac, ima široku primenu zato što se nasleđuje samo od majke, pa tako kod pčela svi članovi društva iz jedne košnice imaju isti mtDNK. Raspored gena je stabilan i potrebna je samo jedna pčela po košnici kako bi se utvrdilo njeno filogenetsko poreklo. Izučavanje grčkih populacija metodom analize sekvenci mtDNK pokazalo je da populacije iz severne Grčke pripadaju *A. m. macedonica*, da se makedonska pčela razlikuje od italijanske pčele, da je Grčka zemlja visoke hibridizacije i da se neke manje populacije na ostrvima i u centralnoj Grčkoj (područje Larise) razlikuju takođe u velikoj meri od makedonske pčele (Bouga et al., 2005a; Martimianakis, et al., 2011). Danas je poznato da je područje rasprostranjenosti makedonske pčele šire od onog koje je prvobitno naveo Ruttner (1988) (Stevanovic et al., 2010; Martimianakis et al., 2011; Ivanova et al., 2012).

U poslednje vreme se sve više primenjuje metoda geometrijske morfometrije (geometric morphometry) koja se bazira na razlikovanju veličine i oblika nerature na krilima pčele (Bookstein, 1991; Smith et al., 1997). Takođe, ranije nije bilo lako grafički prikazati oblik morfoloških karakteristika koje se zasnivaju na linearnim rastojanjima, te je zato razvijena geometrijska morfometrija koja koristi koordinate sa 19 tačaka, na spojevima nerava na krilima. Ova metoda može dati odgovore vezane za razlike koje se zapažaju u veličini, ali i u obliku krila ispitivanih pčela. Efikasnija je od klasične morfometrije i zajedno sa molekularnim metodama široko se primenjuje u ispitivanju filogenetskih odnosa među populacijama jedne vrste (Rohlf, 2000; Tofilski, 2004; Mendes et al., 2007).

Geometrijska morfometrija upotrebljena je po prvi put u Grčkoj na ograničenom broju uzoraka po području (Hatjina et al., 2002) i pokazala je da se populacije pčela sa određenih ostrva razlikuju od hibrida makedonske pčele koji preovlađuju u

kontinentalnoj Grčkoj. Nedavno obimno ispitivanje pokazalo je da se populacije pčela sa ostrva Astipalea, Hios i Kitira, kao i populacije pčela u Heraklionu, u Hanji i centralnoj Grčkoj (područje Larise), razlikuju od makedonske pčele (*Charistos et al., 2014*).

## 2.2 Savremeno pčelarstvo, rizici za očuvanje biodiverziteta pčela

Nekontrolisana trgovina pčelama i maticama koja je danas prisutna gotovo u celoj Evropi dovodi neretko do uvoza nepoželjnih rasa. Pravilnici Evropske unije veoma često se ne poštuju. Evropska unija pokušava da prikupi podatke o prometu pčela i matica ali nailazi na velike poteškoće. Iako postoje veliki rizici od nekontrolisanog uvoza (prenošenje bolesti i dr.) nekontrolisana trgovina i dalje postoji. Nedavno istraživanje (*Martimianakis et al., 2011*), mitohondrijske DNK kod populacija pčela iz čitave Grčke, Italije, Bugarske, Turske, Albanije, Slovenije, Kipra i jednog komercijalnog hibrida, Super Bee, potvrdilo je mešanje pčelinjih populacija ne samo u Grčkoj, već i u susjednim zemljama. Ovo istraživanje je pokazalo da postoje razlike između populacija italijanskih pčela, da se populacije makedonskih pčela stabilno razlikuju, da na području centralne Grčke verovatno postoji autohtona populacija pčela (*A. m. cecropia*). Takođe authtone populacije verovatno postoje na nekim ostrvima (Hios, Rodos), kao i na području Krita (*A. m. adami*).

U okviru saradnje mreže istraživača COLOSS grupe koja je finansirana iz evropskog programa (COST Action FA0803 - COLOSS) (<http://www.coloss.org/>) (2008-2012) radna grupa pod nazivom „Raznovrsnost i održivost“ izvršila je zajednički eksperiment. U zajedničkom eksperimentu (juli 2009. godine – mart 2012. godine) učestvovalo je 11 zemalja i oformljena je 21 eksperimentalna stanica. Na svakoj stanici su postojale košnice sa pčelama domaće rase i košnice sa pčelama koje ne pripadaju tom području. Ukupno je u eksperimentu učestvovalo 621 košnica sa pčelama koje su poticale iz 16 različitih krajeva Evrope.

Na osnovu rezultata eksperimenta u Grčkoj, ali i u ostalim zemljama Evrope očigledno je da ne postoji genetska superiornost, već dobra prilagodljivost. U eksperimentu koji je urađen u severnoj Grčkoj, pokazalo se da pčela sa Halkidikija ima najbolju

prilagodljivost i da su dale najbolje rezultate u odnosu na nemačke i italijanske pčele, pa čak i na bugarske pčele, iako sa njima spadaju u istu podvrstu (*Hatjina et al., 2012*).

### 2.3 Razvoj populacija pčela u kombinaciji sa fitocenološkim sastavom područja i klimatskim uslovima

Različiti ekotipovi pčela nastali su u zavisnosti od raspoloživosti i raznovrsnosti vegetacije datog područja (*Louveaux et al., 1966*). Poznavanje flore nekog mesta/regiona neophodan je preduslov za pčelara, profesionalca ili amatera, zbog uspešne eksploatacije pčelinjih društava. Izučavanje medonosnih biljaka direktno je povezano sa zemljištem i mikroklimom jer njihova rasprostranjenost zavisi od zemljišno-klimatskih uslova koji s druge strane imaju presudnu ulogu u stepenu njihovog iskorišćavanja od strane pčela. Na taj način postiže se pravilan razvoj pčela, ali i porast produktivnosti pčelinjih društava. Različite biljke imaju i različiti nektarni i polenski potencijal za medonosnu pčelu. Takođe neke biljke su značajno prisutne na jednom području, a na drugom nisu. Ipak i dalje ne postoji konkretniji odgovor na pitanje zašto pčele biraju neku vrstu, a drugu zanemaruju. Grčka predstavlja karakterističan primer zemlje sa bogatom florom sa preko 6.000 autohtonih vrsta i podvrsta, na površini od 132.000 km<sup>2</sup>. Po pitanju biljnog sveta se smatra najbogatijom zemljom u Evropi. Na slici 2 su predstavljena fitogeografska područja Grčke sa odgovarajućim brojem biljnih vrsta. CITAT (*Strid, 1996*)



Slika 2-2. Fitogeografski regioni u Grčkoj CITAT (*Strid, 1996*)



Biljni svet u Grčkoj je posebno interesantan i teritorija Grčke po bogatstvu flore zauzima treće mesto na svetu. U njoj je smešteno oko 50% biljnog sveta Evrope i oko 80% od ukupne flore Balkana (*Strid, 1996*).

Morfologija zrna polena (*Vaissiere and Vinson, 1994*), morfologija cveta (*Pernal and Currie, 2002*), miris polena (*Pernal and Currie, 2002; Cook et al., 2003*) predstavljaju neke od parametara koji su izučavani, ali koji nisu dali jasne odgovore u vezi faktora koji utiču na proces odabira cvetova biljaka od strane pčela. Nasuprot polenu, informacije koje postoje u vezi sa ponašanjem sakupljačica nektara su konkretnije. Faktori koji utiču na izbor pčela koji je vezan za nektar, pre svega su morfologija cveta i količina nektara koji se prikuplja (*Harder, 1986; Schmid-Hempel, 1987; Banschbach, 1994*), udaljenost biljaka od košnice (*Schmid-Hempel, 1987*), sadržaj šećera (*Nunez and Giyurfa, 1996; Silva and Dean, 2000*), kao i genetska predispozicija (*Gene and Page, 1989; Page and Fondrk, 1995*). Na kraju, let pčela zavisi od vremenskih uslova, poput temperature, vlage, vetra i osunčanosti (*Free, 1970; Pearson and Braiden, 1990; Seeley, 1995; Arrone, 1999; Roddriguez-Rajo et al., 2005*). Sve gore navedeno ide u prilog činjenici da mikroklima svakog područja igra presudnu ulogu u formiranju prilagodljivosti svake populacije pčela i određuje njihov razvoj.

#### 2.4 Metode ocenjivanja razvoja pčelinjih društava, njihovih bioloških i produktivnih karakteristika

Pčelinje matice visokog kvaliteta mogu značajno uticati na produktivnost pčelinjeg društva i one moraju da poseduju izvanredne karakteristike koje zajedno sa ishranom ali i načinom reprodukcije utiču na kvalitet tog društva. Dobro je poznato da kvalitet jednog pčelinjeg društva predstavlja rezultat kvaliteta matice, genetskog sastava i kvaliteta trutova sa kojima se matica sparuje, kao i različitih drugih faktora životne sredine (na primer ishrana / dodavanje hrane / godišnje doba) (*Woyke, 1960; Avetisyan, 1961; Woyke, 1964, 1971; Taranov, 1974; Szabo and Townseed 1974; Winston, 1980, 1987; Gilley et al., 2003; Siuda and Wilde, 2006; Akyol et al., 2008; Kahya et al., 2008; Bieńkowska et al., 2009*). Ova dva pristupa funkcionišu zajedno i pružaju nam kompletnu sliku o produktivnosti košnice, kao i o karakteristikama jedne populacije pčela (*Hatjina et al., 2013 in press*).

Kvalitetne pčelinje matice treba da imaju sledeće karakteristike: veliku težinu, veliki broj ovariola, veliku spermateku, veliki broj deponovanih spermatozoida u spermateci, blagovremeni početak polaganja jaja, brojno dnevno polaganje jaja, da budu oslobođene bolesti i parazita. Takođe, zajedno sa ovim uglavnom fizičkim karakteristikama, kvalitet jedne matice može se proceniti indirektno kroz produktivnost njenog pčelinjeg društva. Tako pčelinje društvo treba da ima sledeće karakteristike: slabu rojevost, izraženo higijensko i negovateljsko ponašanje, visoku produktivnost legla, visoku produktivnost meda i polena, otpornost prema bolestima. Mnogi autori istražili su vezu između fizičkih karakteristika matice i efikasnosti pčelinjeg društva koristeći razne osobine, kao što su proizvodnja legla, proizvodnja meda, težina pčelinjeg društva i procenat preživljavanja matica (*Harbo and Szabo, 1984; Vesely, 1984; Konopacka, 1987; Boigenzahn and Pechhacher, 1993; Kostarelou-Damianidou, 1995; Cobey, 1998; Collins, 2000; Pritsch and Bienefeld, 2002; Al-Qarni et al., 2003; Rhodes and Somerville, 2003; Rhodes et al., 2004; Skowronek et al., 2004, Akyol et al., 2008*). Gore navedene karakteristike ocenjuju se na konkretne načine, iako postoje male razlike među pojedinim zemljama (*Costa et al., 2012*). Kratke opise različitih načina ocenjivanja dali su takođe *Delaplane and Van der Steen (2013), Buchler et al. (2013) i Hatjina et al., (2013)*.

Higijensko ponašanje se ogleda u sposobnosti određenih pčela radilica da otkrivaju ćelije zatvorenog saća u kojima su larve infestirane bolešću ili parazitom *Varroa*, da uklanjaju poklopac zaražene ćelije i da izbacuju zaražene larve. Indijska pčela, *Apis cerana*, prirodni domaćin pčelinjeg krpelja, ima razvijene ove sposobnosti, održavajući na taj način kolonije krpelja na niskom nivou i prekidajući ciklus razmnožavanja *Varroa* (*Rath and Drescher 1990; Rosenkranz et al., 1993*). Kod evropske pčele *Apis mellifera* gore navedene sposobnosti su veoma ograničene (*Büchler et al., 1992; Büchler, 1994a; Fries et al., 1996*). Takođe, postoje indikacije da postoji pozitivna veza između higijenskog ponašanja i otpornosti na pčelinjeg krpelja *Varroa* (*Spivak 1998a,b*).

*Rothenbuhler (1964.)* smatra da su za ovu sposobnost zaslužna dva nezavisna recesivna gena, jedan za uklanjanje poklopca ćelije, a drugi za uklanjanje larve, dok (*Moritz, 1988*)

to pripisuje multilokusnom modelu gena (multilocus model) i veoma komplikovanoj kontroli naslednih osobina.

## 2.5 Produktivne karakteristike grčkih populacija pčela

Iako Grčka predstavlja veoma značajnu zemlju u oblasti pčelarstva, ona ne poseduje organizovani sistem selekcije i proizvodnje matica. Takođe, iako postoje istraživanja koja razlikuju genetski i morfološki neke od populacija pčela, ne postoje opšti podaci o produktivnim karakteristikama ispitivanih populacija, pa ni o kvalitetu proizvedenih matica, niti suštinski podaci koji karakterišu ove populacije pčela. U produktivne karakteristike spadaju kretanje brojnosti populacije i količine legla tokom godine, sakupljanje meda i polena, tendencija rojenja, pojava bolesti i zdravstveno i higijensko ponašanje, produktivnost, kvalitet legla. Takođe su od značaja merenja anatomskih karakteristika matica, kao što je broj ovariola i prečnik spermateke.

### 3 Ciljevi i zadaci istraživanja

Osnovni cilj rada jeste diferenciranje četiri grčke populacije pčela putem genetskih i morfoloških pokazatelja i povezivanje ovih karakteristika sa produktivnim karakteristikama matica. Originalnost rada leži u sledećem:

- a) po prvi put se izučavanje produktivnih karakteristika populacija pčela obavlja u Grčkoj
- b) produktivne karakteristike povezane su, s jedne strane, sa anatomskim karakteristikama matica i, s druge strane, sa morfometrijskim i genetskim karakteristikama ispitivanih populacija pčela
- c) produktivne karakteristike ispitivanih populacija pčela predstavljaju rezultat fito-sociološkog sastava područja na kome se istraživanje obavlja.

Hipoteze na kojima je zasnovan ovaj rad su sledeće:

1. Nekompatibilna kupoprodaja i seljenje matica doveli su u opasnost opstanak autohtonih grčkih populacija pčela.
2. Sistematsko uzgajanje matica održava konkretne karakteristike i verovatno stvara populacije pčela - ekotipove, sa karakteristikama koje se među sobom razlikuju.
3. Ekotipovi imaju karakteristike prilagođene području na kome se uzgajaju.
4. Karakteristike ekotipova treba zabeležiti i sačuvati, i na taj način obezbediti očuvanje biodiverziteta.
5. Ekotipovi se verovatno razlikuju i po osetljivosti na varou, što predstavlja najoptimističnije rešenje za ovu opasnu parazitozu pčela.
6. Osim očuvanja biodiverziteta, karakterizacija populacija je neophodna kako bi u budućnosti bilo moguće sprovesti plansku hibridizaciju.

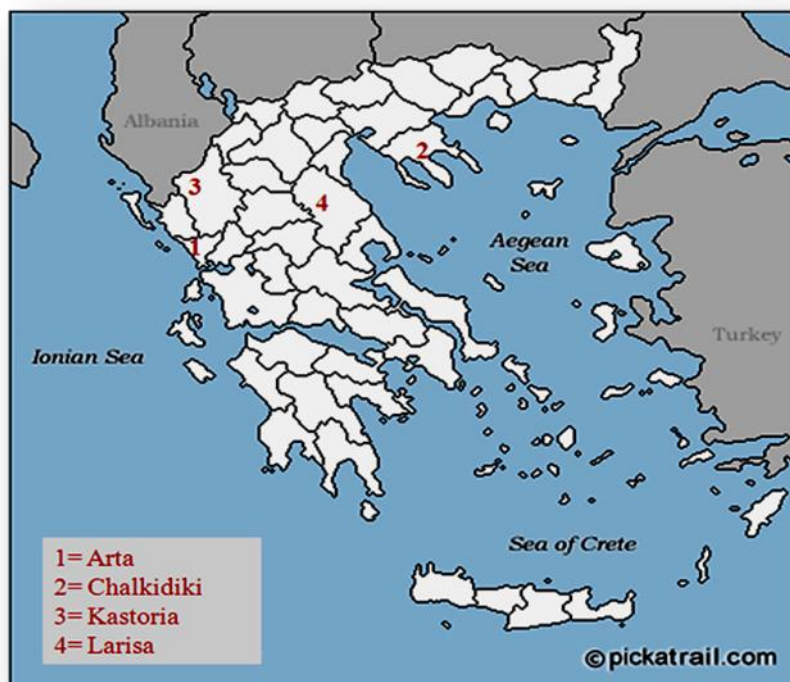
## 4 Materijal i metode rada

### 4.1 Izabrane populacije medonosnih pčela

Odabrane su četiri populacije medonosnih pčela sa različitih geografskih lokaliteta u Grčkoj iz kojih su uzorkovana društva za istraživanja u ovoj doktorskoj tezi. Jedna populacija medonosnih pčela je iz Larise (pretpostavlja se da je *A. m. cecropia*), jedna sa poluostrva Halkidiki (pretpostavlja se da je ekotip *A. m. macedonica*, koji grčki pčelari nazivaju *pčele sa Halkidikija*) i dve iz zapadne Makedonije (pretpostavlja se *A. m. macedonica*). (Slika 4-3).

Izbor populacija je izvršen na osnovu:

- a) prethodnog poznavanja karakteristika korišćenih rasa (*A. m. macedonica*, *A. m. cecropia*),
- b) iskustva pčelara kad su u pitanju potencijalne razlike između ovih populacija i
- c) činjenice da je udaljenost između njih veće od 100 kilometara. Obavljena preliminarna istraživanja o razlikama između ovih populacija medonosnih pčela pomoću izoenzimske analize dokazala su da se one međusobno razlikuju (Ivanova et al., 2012).



Slika 4-3. Lokacije ispitivanih matica

## 4.2 Klima u oblastima porekla matica

Mikroklima i karakteristične biljke koje se susreću na svakom od područja sa kog su izabrane gore navedene populacije pčela opisani su u nastavku:

### 4.2.1 Arta

Arta se sastoji od priobalnih oblasti niske nadmorske visine i planinskih oblasti. Ova činjenica daje svakoj od oblasti specifične klimatske karakteristike. U priobalnim područjima se javlja blaga sredozemna klima sa blažim zimama i temperaturama koje se retko spuštaju ispod nule, dok se leti javljaju prilično visoke temperature sa retkim padavinama. U planinskim oblastima ovog okruga vlada kontinentalna klima, koju odlikuje hladna do oštra zima, ponekad produžena sa relativnom svežim letom uz dosta lokalnih pljuskova.

Od biljaka, ali i useva koji se sreću na ovom području, istaknuto mesto zauzima pomorandža koja se uzgaja na 55.000.000 m<sup>2</sup>. U tom periodu se na hiljade pčela nalazi u ovoj oblasti, ali je nagrada pčelarima manja od očekivane, pre svega zbog hemikalija za zaštitu koja uzgajivači primenjuju. Među ostalim biljkama značajnim za pčelare su i sledeće:

*Arbutus unedo*, *Quercus coccifera*, *Pistacia lentiscus*, *Cercis siliquastrum*, *Fraxinus angustifolia*, *Alnus glutinosa*, *Salix alba*, *Tamarix parviflora*, *Periploca graeca*, *Populus alba*, *Salix alba*, *Vitex agnus-castus*, *Ulmus minor*, *Erica arborea*, *Erica verticillata*, *Trifolium reppens*, *Taraxacum officinalis*, *Malva silvestris*.

### 4.2.2 Larisa

Klima u Larisi ima elemente kontinentalne klime ravničarske Tesalije čija je glavna odlika velika razlika u temperaturama između leta i zime, koja prevazilazi razliku od 22°C. Prosečna godišnja temperatura se kreće oko 16°C i 17°C. Leto je izrazito toplo, sa maksimalnom temperaturom koja doseže i 45,2°C, dok je apsolutno minimalna zabeležena temperatura -21,6°C ((izvor *E.M.Y. (Nacionalna meteorološka služba)*, za period od 1955. do 1997.)). Tokom poslednjih pet godina primećeno je povećanje broja dana sa veoma visokim temperaturama, što se pripisuje klimatskim promenama u svetu.

Prosečne godišnje padavine se kreću oko 426,2 mm, dok je prosečna vrednost vlažnosti 66,23% godišnje (*E.M.Y., za period od 1955. do 1997.*).

Tlo u Okrugu Larise se deli na ravničarsko oko 48%, poluplaninsko oko 25% i planinsko oko 27%.

Glavna orografska karakteristika Okruga jeste ravničarsko tlo. Ravnica u Larisi zauzima površinu od 589 km<sup>2</sup> i predstavlja jednu od najvećih ravnica u zemlji, sa debelim slojem plodnog zemljišta. Na ovom području postoje ogromne površine sa zasadima pamuka, ali i badema, koji je veoma privlačan za pčele. Medonosne biljke koje se mogu naći u ovoj oblasti su:

*Quercus ilex, Quercus coccifera, Cercis siliquastrum, Trifolium pretence, Vitex agnus – castus, Salvia officinalis, Thymus capitatus, Taraxacum officinalis, Origanum majorana, Origanum vulgar,e Urtica pilulifera, Lavandula stoechas, Sonchus oleraceus, Calendula officinalis, Malva silvestris.*

#### 4.2.3 Kastorija

Okrug Kastorije je pretežno planinski, pošto je od 1.685 km<sup>2</sup> njegove površine samo 209 km<sup>2</sup> ravnica. Klima u okrugu je kontinentalna. Prosečna mesečna temperatura obično prevazilazi 20 °C samo od juna do septembra. Zima je oštra i česta je pojava opšteg smrzavanja, dakle održavanja temperature ispod nule u toku celog dana. Leti temperatura često prelazi preko 40°C. Ovo područje je veoma vlažno u zimskim mesecima i relativno suvo u letnjem periodu. Godišnja količina padavina se kreće od 600 do 800 mm u ravničarskim, dok u planinskim predelima prevazilazi 1.200 do 1.400 mm. Sneg je uobičajena pojava u toku hladnog perioda, posebno u planinskim predelima.

Uprkos tome što je područje planinsko, najveći procenat stanovnika se bavi zemljoradnjom. Od biljnih vrsti dominiraju jabuke, šljive, badem i sl. što za pčele predstavlja hranu izvrsnog kvaliteta. Medonosne biljke u ovoj oblasti su:

*Carduus tmoleus Boiss, Cichorium intybus L., Echinops ritro L., Inula hirta L., Alnus glutinosa (L.) Gaertn., Convolvulus arvensis L., Euphorbia amygdaloides Lam., Astragalus depressus L., Trifolium arvense L., Trifolium repens L., Castanea sativa*

*Mill.*, *Quercus cerris* L., *Hypericum perforatum* L., *Origanum vulgare* L., *Salvia verticillata* L., *Sideritis raeseri* Boiss, *Asphodeline lutea* (L.) Rchb., *Abies borisii-regis* Mattf., *Malus sylvestris* Miller, *Prunus avium* L., *Prunus spinosa* L., *Rubus idaeus* L., *Salix alba* L., *Verbascum longifolium* Ten., *Tilia cordata* Mill.

#### 4.2.4 Halkidiki

Reljef Halkidikija je sačinjen od jednog planinskog ili poluplaninskog pojasa, koji obuhvata deo severne i centralne oblasti. Planine Halkidikija se odlikuju brojnim šumama: skoro polovina zemljišta u okrugu je prekrivena šumama. Karakteristična je i obala Halkidikija, sa svoja tri prsta, mala poluostrva, koji obrazuju Kasandru na zapadu, Sitoniju u sredini i Atos - Svetu Goru na istoku. Klima u priobalnim područjima Halkidikija, zahvaljujući velikoj horizontalnoj podeli, je umerena, ali čak i najdublje u unutrašnjosti nije oštra, jer doseže blagotvorno dejstvo mora. Sa stanovišta pčelarstva, zanimljive su sledeće biljke:

*Alnus glutinosa*, *Salix alba*, *Tamarix parviflora*, *Vitex agnus-castus*, *Ulmus minor*, *Trifolium repens*, *Taraxacum officinalis*, *Malva* sp., *Thymus capitatus*, *Urtica pilulifera*, *Lavandula stoechas*, *Sonchus oleraceus*, *Inula hirta* L., *Hypericum perforatum* L., *Rubus idaeus* L., *Polygonum* sp., *Asphodelus microcarpus*, *Papaver rhoeas*, *Heliotropium europium*, *Rosmarinus officinalis*, *Prunus armeniaca*, *Carduus* sp., *Pirus amygdaloformis*, *Sinapis arvensis*, *Ligustrum japonicum*, *Verbascum* sp.

### 4.3 Formiranje eksperimentalnih pčelinjih društava

Ispitivanja matica su se obavila u toku dve pčelarske godine/sezone, od aprila 2009. do aprila 2011. godine. Pregledi eksperimentalnih pčelinjih društava su obavljani u istim agroekološkim uslovima, u Institutu za pčelarstvo u Nea Moudanijia u Grčkoj (Slika 4-4).





Slika 4-4. Institut za pčelarstvo u Nea Moudanija.

U svakoj grupi je ispitivano po 15 matica. 10 od njih (odnosno iz svake grupe) je nastanjeno u košnice LR tipa, i formirano je 10 novih pčelinjih društava (tj. ukupno 40 iz 4 grupe). Novoformirani rojevi su bili postavljeni sa letima okrenutim ka istočnoj strani. Košnice su ofarbane sa različitim bojama, a udaljenost između redova košnica svake linije je bila 10 metara, odnosno rastojanje 2 metra između svake košnice u redu, kako ne bi došlo do zabune kod pčela (*Nelson i Džej 1989*). (Slika 4-5).

Ostalih 5 matica je korišćeno za disekciju i utvrđivanje broja ovariola i prečnika spermateka, metoda koja je ponovljena i na kraju eksperimenata na preživelim maticama. Kod novoformiranih rojeva su praćene proizvodne osobine i razvoj pčelinjih društava, četiri puta godišnje (april, maj, septembar i oktobar) u toku obe godine istraživanja. U toku istraživanja rojevi su bili prihranjivani šećernim pogačama (10 kg/košnici preko zime) i šećernim sirupom (15 kg/košnici u proleće). Tretman protiv varoe je obavljan dva puta godišnje, jednom u novembru perizinom (Coumafos) bez prisustva legla i jednom u julu oksalnom kiselinom.



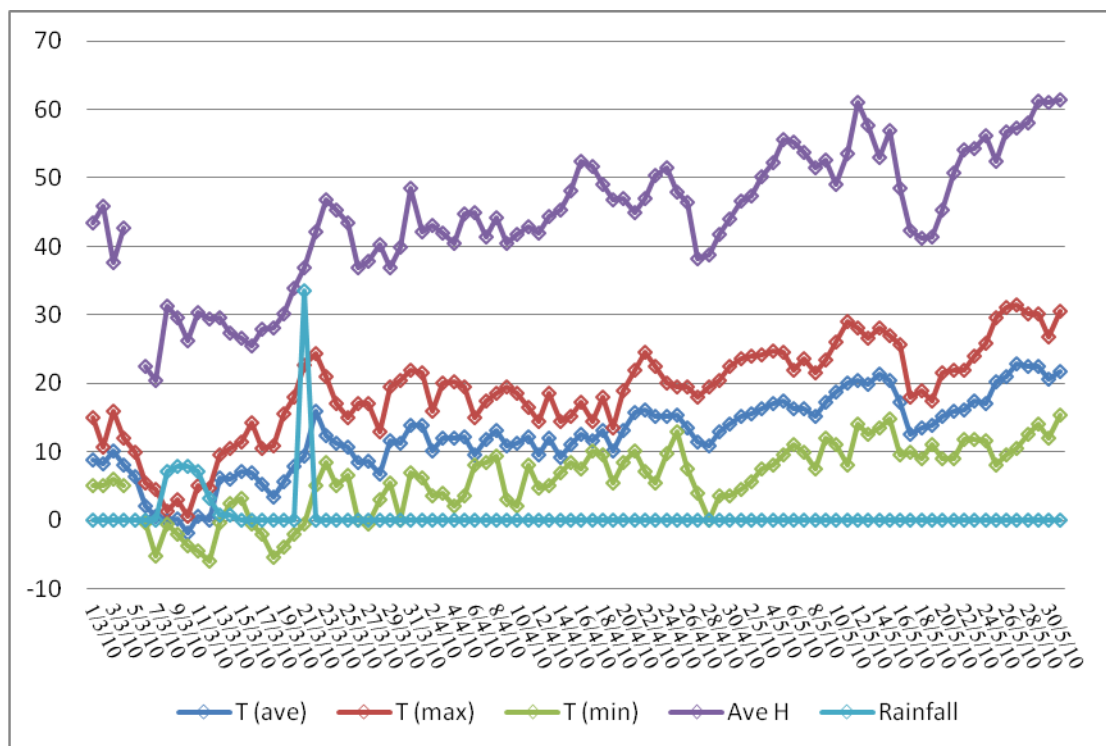
Slika 4-5. Ispitivane populacije matice

Da bi se zabeležio fitocenološki sastav regiona, uslikane su pčele koje su posećivale procvetale medonosne biljke u krugu od 1000 metara oko Instituta u toku 2009. godine. Pošto razvoj pčelinjih društava zavisi svaki put od vremenskih uslova, preko meteorološkog zaklona (Slika 4-6) instaliranog, takođe, u jedinstvenom prostoru Instituta za Pčelarstvo, dobijeni su podaci o vremenskim uslovima za mesece mart, april i maj 2010. i 2011, (Prilog 1) a koji su se odnosili na maksimalne  $T(\max)$  i minimalne  $T(\min)$  dnevne temperature, prosečnu dnevnu temperaturu ( $T_o$ ), prosečnu dnevnu vlažnost  $Ave(H)$  i količinu dnevnih padavina (Rainfall). Podaci su indikativni za osnovni period razvoja pčelinjih društava.

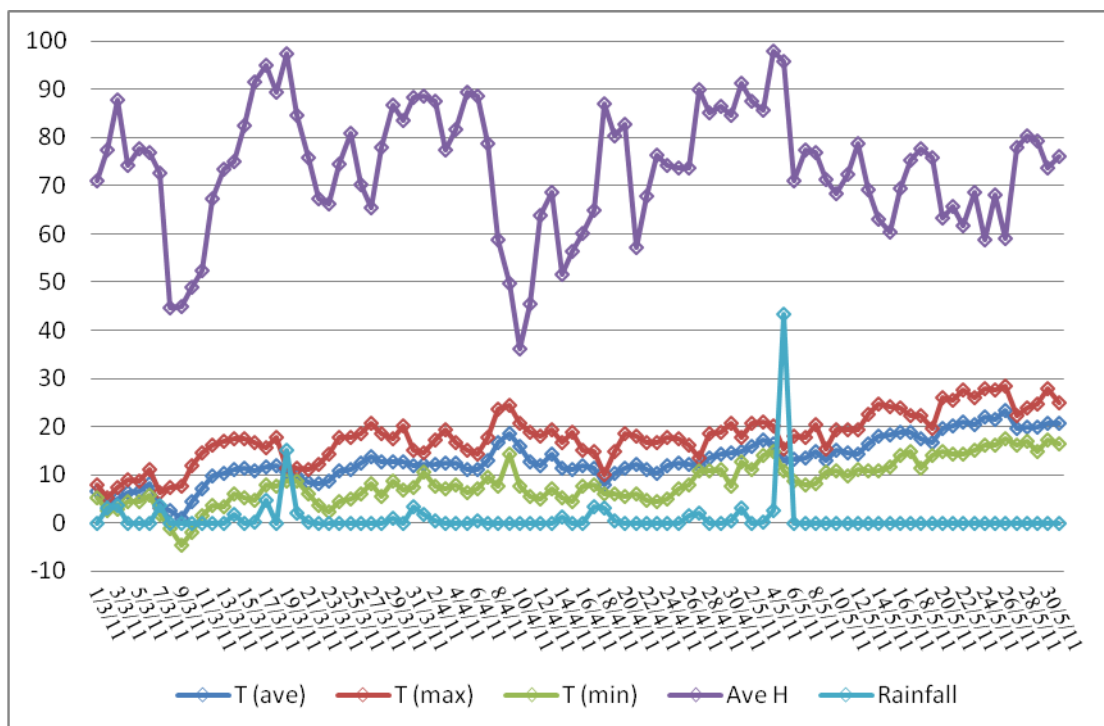


Slika 4-6. Meteorološki zaklon

Uporedni prikaz klimatskih podataka za područje gde su se nalazila ispitivana pčelinja društva, je dat na grafikonima 4-1 i 4-2.



Grafikon 4-1. Pregled kretanja klimatskih faktora u 2010. godini



Grafikon 4-2. Pregled kretanja klimatskih faktora u 2011. godini.



#### 4.4 Fitocenološki sastav u regionu posmatranja pčeljih društava

Imena biljnih vrsta (latinski naziv), familija, dostupnost pčeli i period cvetanja su prikazani ispod.

Latinski naziv: *Anemone* sp.  
Familija: RANUNCULACEAE  
Dostupnost pčeli: polen  
Period cvetanja: Februar-April



Latinski naziv: *Arbutus unedo* L.  
Familija: ERICACEAE  
Dostupnost pčeli: polen - nektar  
Period cvetanja: Oktobar -Decembar



Latinski naziv: *Elaeagnus angustifolius*  
Familija: BORAGINACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April-Maj



Latinski naziv: *Asphodelus microcarpus*  
Familija: LILIACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Februar-Mart



Latinski naziv : *Camellia japonica*  
Familija: THEACEAE  
Dostupnost pčeli : polen  
Period cvetanja : April



Latinski naziv : *Cercis siliquastrum*  
Familija: FABACEAE  
Dostupnost pčeli : polen-nektar  
Period cvetanja : Mart-April



Latinski naziv: *Centaurea cyanus*  
Familija: COMPOSITAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Maj- Jun



Latinski naziv: *Citrus nobilis*  
Familija: RUTACEAE  
Dostupnost pčeli: nektar  
Period cvetanja: April-Maj



Latinski naziv: *Carduus* sp.  
Familija: ASTERACEAE  
Dostupnost pčeli : polen-nektar  
Period cvetanja: Maj-Jun



Latinski naziv: *Cistus creticus*  
Familija: CISTACEAE  
Dostupnost pčeli : polen  
Period cvetanja: Mart-Jun



Latinski naziv : *Citrus simensis*  
Familija : RUTACEAE  
Dostupnost pčeli : nektar  
Period cvetanja : April-Maj



Latinski naziv : *Crataegus monoguna*  
Familija : ROSACEAE  
Dostupnost pčeli : polen-nektar  
Period cvetanja : Mart-April



Latinski naziv: *Corylus avellana*  
Familija: CORYLACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Januar-Februar



Latinski naziv: *Cydonia oblonga*  
Familija: ROSACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April-Maj



Latinski naziv: *Quercus coccifera*  
Familija: FAGACEAE  
Dostupnost pčeli: polen  
Period cvetanja: April-Maj



Latinski naziv: *Erica arborea*  
Familija: ERICACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April-Maj





Latinski naziv : *Erica Verticilata*  
Familija: ERICACEAE  
Dostupnost pčeli : polen-nektar  
Period cvetanja : August-October



Latinski naziv : *Malva silvestris*  
Familija: MALVACEAE  
Dostupnost pčeli : polen-nektar  
Period cvetanja : Maj-Jun



Latinski naziv: *Fraxus* sp.  
Familija: OLEACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April-Maj



Latinski naziv: *Mespilus japonica*  
Familija: ROSACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Novembar-Januar



Latinski naziv: *Lonicera* sp.  
Familija: CAPRIFOLIACEAE  
Dostupnost pčeli: polen  
Period cvetanja: Maj-Jun



Latinski naziv: *Oxalis* spp.  
Familija: OXALIDACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Februar-Mart



Latinski naziv: *Paljurus aculeatus*  
Familija: RHAMNACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Maj-Jun



Latinski naziv: *Prunus armeniaca*  
Familija: ROSACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Mart-April



Latinski naziv: *Phoenix dactylifera*  
Familija: PALMAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April –Jun



Latinski naziv: *Prunus avium*  
Familija: ROSACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Mart-April



Latinski naziv: *Prunus amygdalus*  
Familija: ROSACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Februar-Mart



Latinski naziv: *Prunus cerasus*  
Familija: ROSACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April – Maj





Latinski naziv : *Prunus domestica*  
Familija: ROSACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April-Maj



Latinski naziv : *Pyrus malus*  
Familija: ROSACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April-Maj



Latinski naziv: *Prunus persica*  
Familija: ROSACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April



Latinski naziv: *Rosmarinus officinalis*  
Familija: LAMIACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Novebar- April



Latinski naziv: *Robinia pseudoacacia L.*  
Familija: FABACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April – Maj



Latinski naziv: *Rubus spp.*  
Familija: ROSACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Maj-Jul



Latinski naziv : *Salix alba*  
Familija: SALICACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Mart-April



Latinski naziv : *Tamarix* sp.  
Familija: TAMARICACEAE  
Dostupnost pčeli: polen  
Period cvetanja: Maj-Jun



Latinski naziv: *Sinapis arvensis*  
Familija: CRUCIFERAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Novebar- Maj



Latinski naziv: *Taraxacum officinalis*  
Familija: ASTERACEAE.  
Dostupnost pčeli: polen  
Period cvetanja: April-Septembar



Latinski naziv: *Syringa vulgaris*  
Familija: OLEACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April-Maj



Latinski naziv: *Thymus capitatus* (L.)  
**Hoffmanns. & Link**  
Familija: LABIATAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Jun-August





Latinski naziv: *Tilia platyphyllos*  
Familija: TILIACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Maj-Jun



Latinski naziv: *Vicia* sp.  
Familija: FABACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April- Maj



Latinski naziv *Trifolium repens*  
Familija: LEGUMINICEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April-Jun



Latinski naziv: *Vitex agnus -castus*  
Familija: VERBENACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: Jun-Jul



Latinski naziv: *Ulmus campestris*  
Familija: ULMACEAE  
Dostupnost pčeli: polen  
Period cvetanja: Februar



Latinski naziv: *Viburnum tinus*  
Familija: CAPRIFOLIACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: April – Maj



Latinski naziv: *Abutilon theophrasti*  
Familija: MALVACEAE  
Dostupnost pčeli: polen-nektar  
Period cvetanja: August-Septembar



Latinski naziv: *Anthyllis hermaniae*  
Familija: FABACEAE  
Dostupnost pčeli: nektar  
Period cvetanja: April-Maj



## 4.5 Karakteristike kvaliteta matica

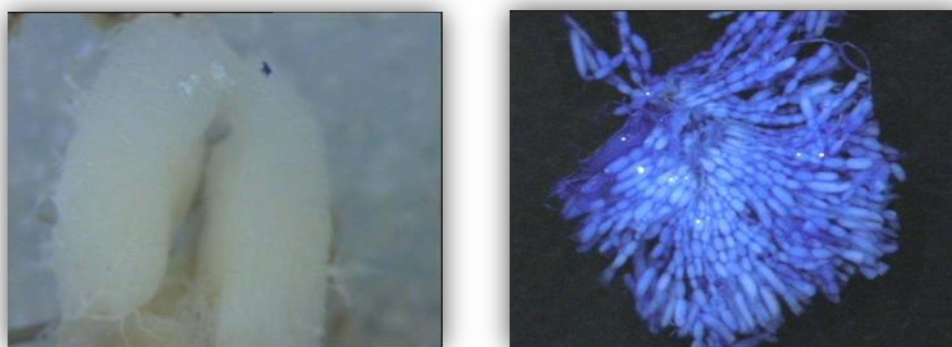
### 4.5.1 Anatomske karakteristike

Pet matica (od ukupno 15) iz svake populacije je upotrebljeno na početku rada za anatomske analize, uključujući disekciju i utvrđivanje broja ovariola i prečnika spermateka. Za kontrolu broja ovariola i prečnika spermateka primenjen je postupak koji je opisan u radu *Rodosa J & D Somerville (2003)* i *Berger & Carmargo Abdalla F (2005)*. Ove procedure predstavljaju protokol laboratorijske analize u laboratorijama akreditovanim za ispitivanje kvaliteta matica Instituta za pčelarstvo (*Hatjina, 2012*).

Opšti opis ovih metoda:

- Za anatomiju matice korišćen je Insect Saline solution (7.5 gr NaCl, 2.38 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2.72 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> u 1 litru destilovane vode )
- Desni ovarijum je uklonjen i potopljen u bojeni rastvor (0.1 gr. Coomassie brilliant blue R250, 45 ml metil alkohola, 10 ml sirćetne kiseline i dopunjava se destilovanom vodom do 100 ml)
- Potom je postavljen na čistu mikroskopsku pločicu i ispran pomoću 35% etil alkohola.

- Ovarijum je skalpelom presečen vertikalno na dva dela. Brojanje ovariola je obavljeno pod mikroskopskim uvećanjem od 20x.
- Zatim je nađena spermateka i fotografisana objektivom 2x
- Dva nasumično odabrana prečnika su merena i njihov prosek je izračunat uz pomoć softvera za analizu slike mikroskopa (*Image Pro Plus*), opreme kojom raspolaže Institut za Pčelarstvo. Za prag pri merenju prečnika spermateka je postavljena mera od 1,2 mm. Merenje je obavljeno pod uvećanjem od 200x.



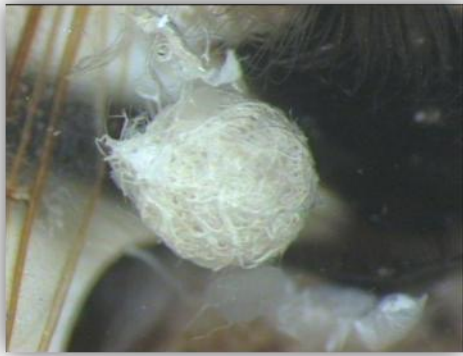
Slika 4-7. Ovarirole disekovane matice

Svaka osobina je upoređivana sa standardnom vrednostima, koje su određene od strane akreditovane laboratorije. Prema ovim kriterijumima, matice se smatraju kvalitetnim, kada broj ovariola prevazilazi 130 u svakom ovarijumu i kad je prečnik spermateka veći od 1,2 mm.

#### 4.5.2 Karakteristike legla (kvalitet matice)

Da bi se procenio kvalitet legla ispitivanih matice koristi se procenat praznih ćelija u određenim površinama legla, prema poboljšanoj metodi opisanoj u radu Collins (2000), koja predstavlja i protokol laboratorijske analize u Akreditovanoj laboratoriji za Kontrolu kvaliteta matice u Institutu za pčelarstvo (*Hatjina, 2012*). Dva drvena prstena određenog prečnika (7,5 cm) su postavljeni jedan pored drugog na površinu zatvorenog (ili otvorenog) legla ispitivanih matice i slikana su. Svaki prsten pokriva prostor od 167 ćelija legla. Za svaki uzorak su napravljene po dve slike, tj. po jedna za svaki prsten i zabeležen je prosek merenja (slika 4-9). Laboratorija za kontrolu kvaliteta matice je postavila granicu na procenat praznih ćelija legla koja iznosi < 10.





Slika 4-8. Spermateka disekovane matice



Slika 4-9. Drveni prsteni na ramu sa leglom

#### 4.6 Proizvodne osobine i osobine ponašanja

Merenje produktivnosti, ponašanja i razvoja pčela je obavljano u toku dve godine sa frekvencijom od četiri puta godišnje, u aprilu, maju, septembru i oktobru (slika 4-10).



Slika 4-10. Pregled pčelinjih društava

Korišćeni su posebni obrasci gde su upisivane sledeće osobine:

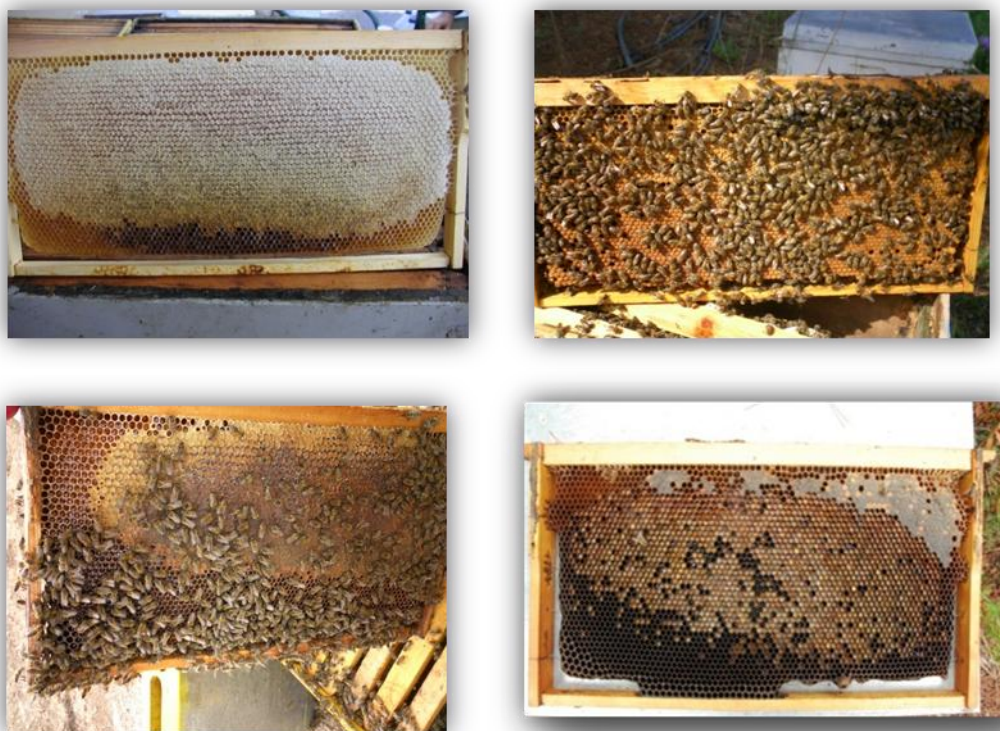
- ❖ broj odraslih pčela
- ❖ broj ćelija sa leglom
- ❖ broj ćelija sa medom
- ❖ broj ćelija sa polenom

- ❖ produktivnost pčelinjih društava (unos nektara)
- ❖ sklonost ka rojenju
- ❖ higijensko ponašanje
- ❖ simptomi prisustva bolesti (nozema, varoa)

#### 4.6.1 Razvoj pčelinjih društava

Razvoj pčelinjih društava zavisi od kvaliteta matica, odnosno od broja odraslih pčela, površine legla i prikupljanja polena i nektara.

Kontrole eksperimentalnih društava (pčela, leglo, med i polen) su vršene osam puta u toku dve godine istraživanja. Svi ramovi su vađeni pojedinačno i procenjeni metodom (*Kulinčević i sar., 1990*) po kojoj se vrednost izražava u 1/10 okvira pčela, legla, meda i polena. Ram koji je potpuno zaposednut pčelama, odnosno leglom, medom ili polenom ocenjivan je ocenom 1. Preračunavanje na ukupan broj pčela i ukupan broj ćelija sa leglom, medom i polenom vršeno je "*Liebefeld metodom*". Procenjeni broj ramova sa pčelama je množen sa koeficijentom 2300, a procenjeni brojevi ramova sa leglom, medom i polenom množeni su sa 7000 (*Imdorf et al., 1987*).



Slika 4-11. Ramovi sa pčelama, leglom, medom i polenom.

Pošto je razvoj pčelinjih društava usko u vezi sa svim cvetnicama područja na kom se ona razvijaju, popisane su i fotografisane cvetnice u oblasti gde su se razvijala pčelinja društva, u svim periodima njihove aktivnosti.

#### 4.6.2 Produktivnost pčelinjih društava (unos medljike)

Produktivnost pčelinjih društava ili unos medljike je meren u kg dva puta tokom perioda istraživanja 9. 10. 2009 i 12. 10. 2010, korišćenjem modifikovane metode Szabo (Szabo, 1982). Merena je težina svake ispitivane košnice uz pomoć potezne elektronske vage, prvog i trećeg dana od početka lučenja slatkog sekreta, istim redosledom obe godine. Kao glavna paša odabrana su lučenja bora, jer je to najstabilniji izvor meda u grčkom pčelarstvu. Najintenzivnija poseta pčela borovima je rano ujutro i u ranim popodnevnim časovima. Otprilike 65% ukupne proizvodnje meda u Grčkoj čini borov med. Med se dobija lučenjem sekreta štitaste vaši *Marchalina hellenica*, insekta poznatog kao „radilica“, „mikrob“ ili „parazit“ bora (slika 4-12). Ova vrsta je prisutna u mnogim krajevima zemlje, a pre svega na ostrvima Tasos, Eubeja, Skopelos, Skijatos, Zakintos, Rodos, Krit, poluostvu Halkidiki i dr.



Slika 4-12. Lučenje sekreta *Marchalina hellenica*



#### 4.6.3 Rojdbeni nagon

Rojdbeni nagon je kod *A. m. macedonica* dosta izražen i negativno utiče na proizvodnju pčelinjih proizvoda. Zbog toga se teži njegovom eliminisanju, sa mogućim stvaranjem zajednica koje slabije poseduju ovo prirodno svojstvo pčela. Sklonost ka rojenju predstavlja nepoželjnu karakteristiku. Pčelinja društva su ocenjivana na osnovu ranije razvijenog sistema od 4 boda (*Ruttner, 1972*), u skladu sa međunarodnim preporukama simpozijuma Apimondije održanog u Luncu (Austrija) 1972 godine. Raspon je od ocene jedan koja se pripisuje najlošijim pčelinjim društvima, do ocene 4 koja se odnosi na najbolja pčelinja društva.

4 - odgovara društvima koja nisu stvorila ni jednu matičnu ćeliju (nagon se nije pojavio)

3 - odgovara društvima koja su izgradila matičnjak, ali nisu nastavila da grade matičnjake nakon njihovog rušenja

2 - odgovara društvima koja su nastavila i dalje da izgrađuju matičnjake posle njihovog rušenja

1- odgovara društvima koja su se izrojila.



Slika 4-13. Rojevi medonosnih pčela

#### 4.6.4 Higijensko ponašanje

Higijensko ponašanje pčela se procenjuje „*pin killed*“ metodom (*Taber, 1982*). Entomološkom iglom No1 je probušeno 50 zatvorenih ćelija (koje sadrže mlade larve sa belim i crvenkastim očima ili lutke) i na taj način su ubijane. Posle 24 i 48 sati je proveren broj očišćenih ćelija. Veći procenat uklanjanja mrtvih larvi znači i veće higijensko ponašanje pčela. Metoda je primenjivana u drugoj dekadi maja u obe godine istraživanja.



Slika 4-14. „Pin killed” metoda za procenu higijenskog ponašanja

#### 4.6.5 Simptomi prisustva bolesti

**Varooza:** Uzorci pčela za „varou” su prikupljeni dva puta godišnje, u septembru i u novembru iste godine, kad pčele više nisu imale razvijeno leglo. Za prikupljanje uzoraka su korišćene kivete, odnosno plastične čaše označene tačkom na mestu za 100 ml vode, gde može stati 300 pčela. Nakon prikupljanja, uzorci su stavljani u zamrzivač na  $-18^{\circ}\text{C}$  u odvojenim posudama. Merenje prisustva varoe kod odraslih pčela je izvršeno na sledeći način:

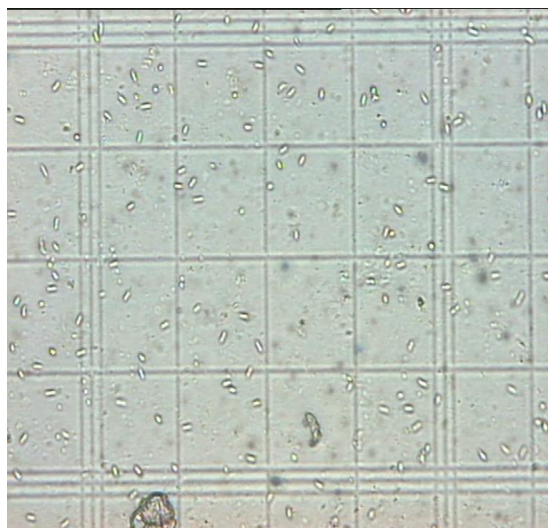
- U svaku posudu je stavljeno 20% etilalkohola do nivoa koji pokriva pčele. (slika 4-15)
- Svaka posuda je mešana nekoliko sekundi.
- Pčele su potom stavljene u cediljku, a ona u praznu posudu.
- Pčele su oprane vodom (slika 4-15), a potom prebrojane daleko od posude. (slika 4-15)
- Varroa grinje su izmerene u posudi sa vodom i alkoholom. Zatim je izračunat procenat varoe po formuli  $\alpha * 100 / \beta$  gde je  $\alpha$  = izbrojane varoe,  $\beta$  = broj pčela u uzorku. Smatra se da procenat od 10 % predstavlja granicu za opstanak društva.



Slika 4-15. Utvrđivanje broja varoe

**Nozemoza:** Uzorci odraslih pčela su prikupljeni iz udaljenih okvira pčelinjeg društva za test na nozemozu. Prikupljanje je obavljeno u septembru, novembru i sledećeg proleća svake godine. Prebrojavanje spora nozemoze (*Haristos et al., 2003*) je izvršeno po sledećem protokolu:

- Isecanje stomaka i njihovo drobljenje uz dodavanje 6 ml vode
- Filtriranje
- Ispiranje sa još 3 ml vode
- Razređivanje 3 ml originalnog uzorka u 5 ml vode (1/3 početnog uzorka)
- Ispiranje sa još 4 ml vode
- 10 min centrifugiranja na 7000 rpm
- Uklanjanje taloga
- Dodavanje 3 ml vode
- Homogenizacija uzorka na 40 Hz u trajanju od 2 min
- Stavljanje 10 ml mešavine na hemocitometar
- Proces merenja spora u 0,1 ml tečnosti
- 12. Merenje spora hemocitometrom (25 t)



Slika 4-16. Hemocitometar

Na slici je prikazana centralna tačka hemocitometra koji se sastoji od 25 takvih kvadrata. Ima konkretne dimenzije gde su dužina, širina i visina 1 mm. Broj spora je

izmeren u određenoj zapremini tečnosti od 0,1 ml, i pomnožen je sa razblaživanjima. Obračun ukupnog broja spora je izvršen u skladu sa formulom  $90.000 \cdot a / b$ , gde je **a** broj spora u 25 kvadrata hemocitometra, a **b** broj pčela u uzorku. (Uzimajući u obzir da je **a** broj spora u 0,1 ml tečnosti, onda je u 3 ml konačnog uzorka broj spora  $30.000 \cdot a$ , dok je u početnom uzorku broj spora  $3 \times 30.000 \cdot a = 90.000 \cdot a$ . Svaka pčela sadrži  $90.000 \cdot a / b$  spora, gde je **b** broj pčela ).

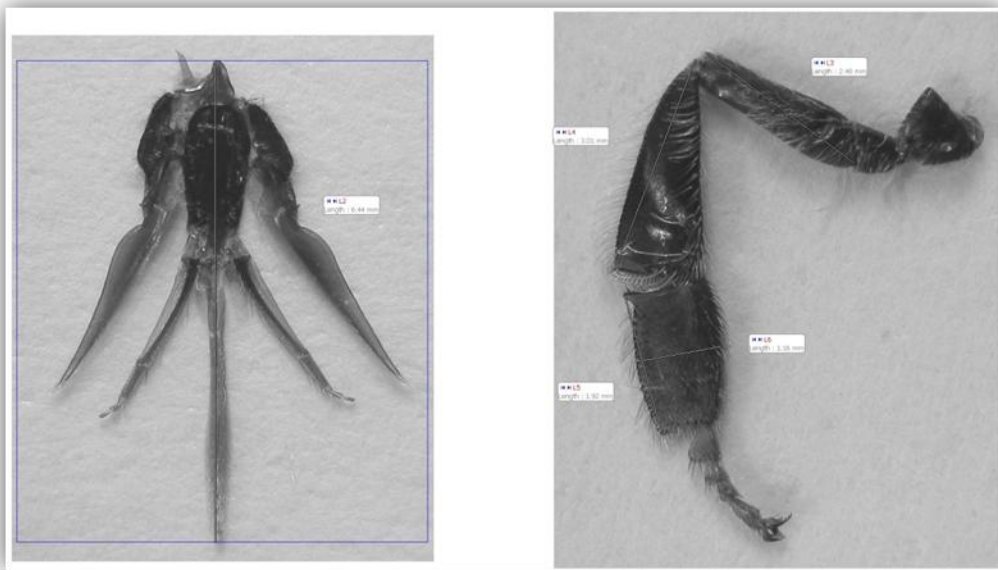
#### 4.7 Analiza morfometrijskih parametara medonosne pčele

Za utvrđivanje morfometrijskih parametara ispitivanih linija, tokom izvođenja ogleđa je uzeto po 15 pčela iz svakog pčelinjeg društva. Na taj način je ukupno sakupljeno 150 pčela po liniji (ukupno 600 pčela iz 4 linije). Sakupljeni uzorci pčela su upotrebljeni za utvrđivanje parametara klasične i geometrijske morfometrije u dva ponavljanja.

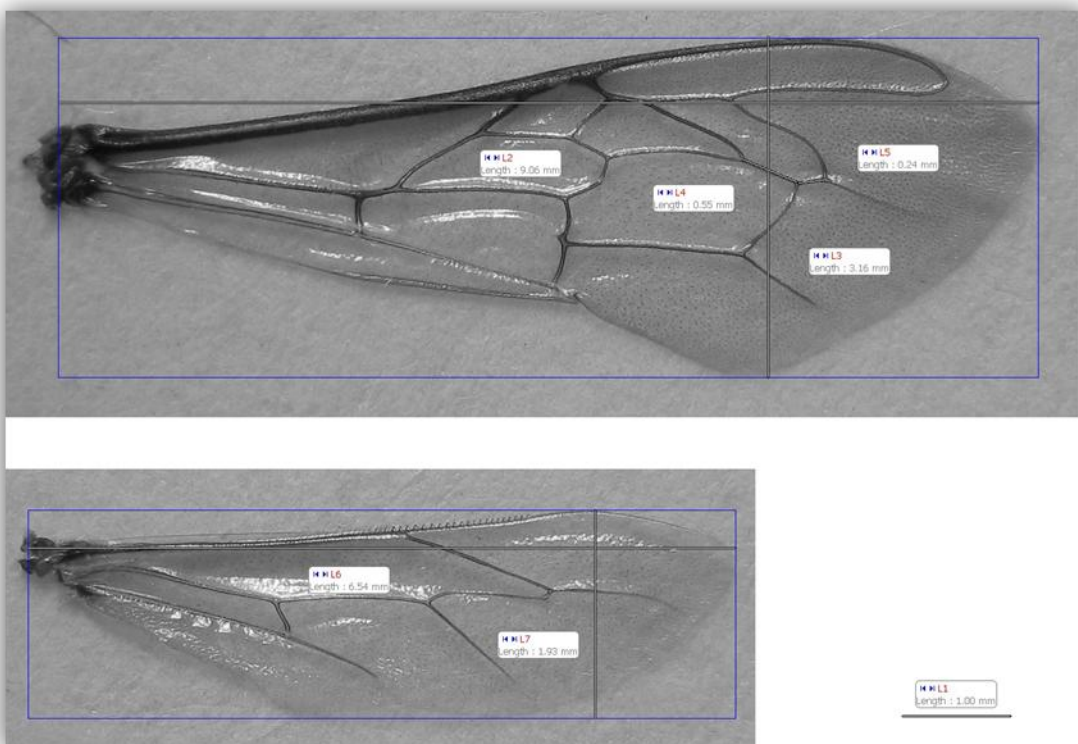
##### 4.7.1 Klasična morfometrija

Ova analiza je obavljena sa ciljem utvrđivanja osnovnih parametara klasične morfometrije za svako društvo svake ispitivane linije. Klasična morfometrijska analiza je obuhvatila merenje 12 morfološki informativnih karaktera-parametara (na levom prednjem i zadnjem krilu i levoj zadnjoj nozi) (*Rutner et al., 1978*):

- dužina prednjeg krila
- širina prednjeg krila
- dužina radijalne ćelije (a)
- dužina diskoidne ćelije (b)
- kubitalni indeks (a/b)
- dužina zadnjeg krila
- širina zadnjeg krila
- dužina buta zadnje noge
- dužina golenjače zadnje noge
- dužina bazitarsusa
- širina bazitarsusa
- dužina jezika



Slika 4-17. Dimenzije jezika i zadnje noge



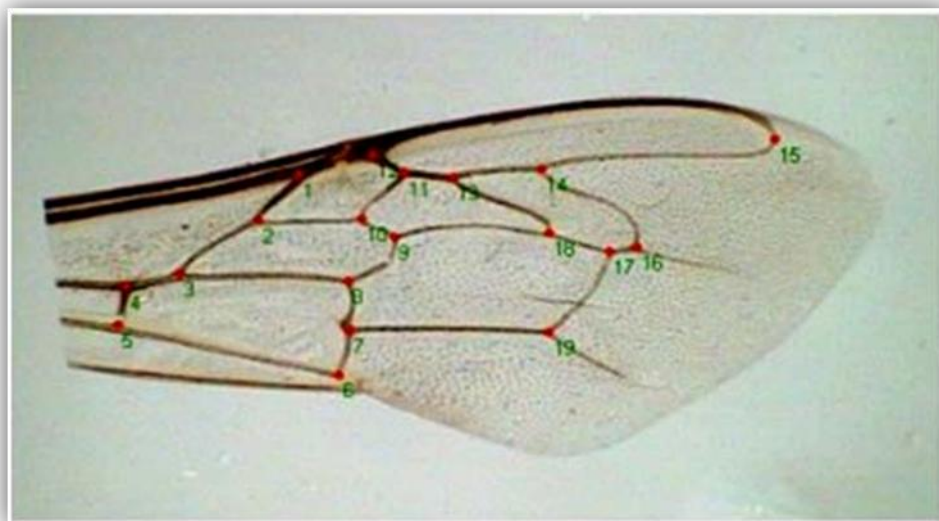
Slika 4-18. Dimenzije prednjeg i zadnjeg levog krila



Disekcija pčela je obavljena pincetom i entomološkom iglom, a disekovani delovi su fiksirani na privremenim mikroskopskim preparatima. Parametri su se mereni na fotografijama dobijenih na Leica stereomikroskopu (Slike 4-17, 4-18). Za fotografisanje je korišćen foto aparat Canon Power Shot A490, sa žižnom daljinom od 7 mm. Merenje svih parametara je izvršeno na osnovu dobijenih slika pomoću programa Motic Images Plus 2.0, kalibracija je izvršena okularnom pločicom sa mrežicom 15×15 mm.

#### 4.7.2 Geometrijska morfometrija

Za geometrijsku morfometriju je disekovano desno prednje krilo svih sakupljenih pčela. Uzeti su uzorci od po 15 pčela iz svake košnice što znači 150 radilica iz svake ispitivane populacije, što je ukupno 600 radilica iz 40 košnica, dva puta u toku dve godine istraživanja. Privremeni preparati iz svakog društva, su pravljene potapanjem sakupljenih krila jednog društva u seriju rastvora etanola različite koncentracije. Korišćeni su rastvori sledećih koncentracija: 95 %, 70 %, 50 % i 20 %. Nakon serije rastvora etanola, krila su smeštana u destilovanu vodu posle čega su fotografisana. Slike krila dobijene su fotoaparatom stavljenim na mikroskopom sa objektivom 1x. Koordinate 19 obeležja koje se nalaze na tačkama ukrštanja krilnih nerava (slika.4-19) snimljene su i digitalizovane su dvodimenzionalne x, y kartezijske koordinate identifikovanih obeležja pomoću TPSdig programa (Rohlf, 2001).



Slika 4-19. Tačke merenja na krilu pčele

Postupak je obavljen dva puta za svako krilo i izračunat je prosek kako bi se smanjila mogućnost greške prilikom merenja (*Miguel et al., 2010*). Rezultati sa svakog lokaliteta su spojeni. Koordinate obeležja dobijene pomoću tpsDig upotrebljene su u MorphoJ softverskom paketu (*Klingenberg, 2011*). Svrstavanje je izvršeno korišćenjem Prokrustovog podešavanja (*Prokrustove superimpozicije*) (*Dryden and Mardia, 1998*). Korišćena je Prokrustova analiza (*GPA*), trenutno jedan od standardnih metoda za analizu podataka obeležja (*Viscosi and Cardini, 2011*). Izračunata je Prokrustova distanca, mera apsolutne veličine odstupanja oblika (*Klingenberg and Monteiro, 2005*) i primenjena je Kanonijska analiza (*Canonical Variate Analysis*). Metod beskonačno tanke ploče korišćen je za ilustrovanje transformacija oblika krila.

#### 4.8 Analiza genoma medonosne pčele

U cilju utvrđivanja genetskih razlika između ispitivanih linija obavljene su dve genetske analize: aloenzimska analiza i analiza mitohondrijalne DNK (mtDNK). Za ove analize, u 2010 godine iz svakog pčelinjeg društva je uzeto između 5 i 10 pčela radilica.

##### 4.8.1 Izoenzimska analiza

U cilju ispitivanja genetskih sličnosti i razlika među linijama ispitivane su razlike u aloenzimskom sastavu. Preko odgovarajućih genetskih lokusa je praćeno šest enzimskih sistema: MDH-1; ME; EST-3; ALP; PGM; HK. Homogenizacija toraksa i elektroforeza u poliakrilamidnom gelu je obavljena po metodi *Ivanova (1996)*. Pufferi i elektroforetski uslovi su bili prilagođeni za svaki enzimski sistem prema *Boyer (1961)*, *Gahne (1967)*, *Shaw and Prasad (1970)* i *Ivanova (1996)*. Enzimski aktivnost je utvrđivana pomoću histoheimijske obojenosti prema *Harris and Hopkinson (1976)*, alozimi su se diferencirali prema pokretljivosti ka anodi.

U saradnji sa Odeljenjem za Razvojnu Biologiju Univerziteta „Paisii Hilendarski“ u Plovdivu (Department of Developmental Biology του University “Paisii Hilendarski” of Plovdiv), pre započinjanja ogleada je obavljena preliminarna analiza 6 enzimskih sistema u odraslim radilicama iz svakog eksperimentalnog pčelinjeg društva (*Ivanova et al., 2012*).

Upotrebom softverskog paketa BIOSYS-1 (*Swofford and Selander, 1981*) su utvrđene frekvencije alela, prosečan broj alela po lokusu, proporcija polimorfnih lokusa na nivou od 95 %, očekivana heterozigotnost, odstupanja od Hajdi-Vajnbergove ravnoteže i Nei-eve genetičke distance. Dendrogrami su dobijeni metodama UPGMA (*Sneath and Sokal, 1973*) i NJ (neighbor-joining) (*Saitou and Nei, 1987*) upotrebom softverskog paket PHYLIP (*Felsenstein, 1993*).

#### 4.8.2 Analiza mitohondrijalne DNK (mtDNK)

Za dodatnu potvrdu razlika među populacijama uzeti su uzorci od prvih radilica koje je svaka od matica proizvela i poslani su u Laboratoriju za poljoprivrednu zoologiju i entomologiju, Poljoprivrednog Fakulteta u Atini, na mitohondrijalnu DNK analizu.

Za utvrđivanje razlika ispitivanih linija prema mtDNK korišćene su molekularne sekvence tri gena na lancu mtDNK i to 16s rDNA, COI i ND5. Korišćena je metoda PCR-RFLP (*Bouga et al. 2005*) sa tri seta prajmera za amplifikaciju svakog od navedenih genskih regiona. Uzeti su sledeći prajmeri za sledeće segmente:

5'-CAACATCGAGGTCGCAAACATC-3' i 5'-GTACCTTTTGTATCAGGGTTGA-3'  
za 16S rDNA

5'-GATTACTTCCTCCCTCATTA-3' i 5'-AATCTGGATAGTCTGAATAA-3'  
za COI

5'-TCGAAATGAATAGGATACAG-3' i 5'-GGTTGAGATGGTTTAGGATT-3'  
za ND5

Obrada rezultata obavljena je uz pomoć softverskog paketa *GenAlEx* (*Peakall, and Smouse, 2012*).

Pojedinačne sekvence utvrđjene su automatskim sekvencioniranjem oba soja mtDNK genskog segmenta koje je dostavila CEMIA Company (Larisa, Grčka). Podloge u reakcijama sekvencioniranja bile su iste kao i u postupku amplifikacije. Pomoću CLUSTALW2 (*Thompson i sar., 1994*) izvršena su poravnavanja višestrukih frekvencija korišćenjem predodređenih parametara, a kompjuterski izvršeno poravnavanje dalje je korigovano ručno. Takodje, poravnavanje podataka verifikovano je po sekvencama uzoraka *A. mellifera* koji se mogu naći u NCBI.



#### 4.9 Statistička obrada i analiza

Za analize anatomskih karakteristika matica (karakteristika kvaliteta) upotrebljena je jednofaktorijalna analiza varijanse (one-way ANOVA) metoda, uzimajući kao osnovni činilac četiri različita genotipa (populacije). Za analizu produktivnosti i osobina ponašanja korišćene su General Linear model, odnosno Analiza varijanse, uzimajući kao činioce godinu, populacije, period. Sve analize, kao i grafički prikazi, su napravljeni uz pomoć statističkog paketa SPSS v19 (*SPSS Statistics for Windows*, 2010). Specifičnosti svake analize su navedene za svaki konkretan slučaj u poglavlju sa rezultatima.

## 5 REZULTATI

### 5.1 Karakteristike kvaliteta matica

#### 5.1.1 Anatomske karakteristike

Anatomske karakteristike ispitivanih matica, koje se odnose na broj ovariola i na prečnik spermateke, prikazane su u (Tabelama 5-1 i 5-2). Matice sa područja Larise su imale više ovariola i spermateku većeg prečnika, dok su matice sa područja Kastorije imale manje ovariola. Matice iz Arte su u proseku imale manji prečnik spermateke. Fotografije razlika/varijacija u boji matica iz ispitivanih regiona prikazane su u Prilogu 2. (boja matica ne predstavlja značajnu morfološku karakteristiku da bi se obavila merenja).

Tabela 5-1. Broj ovariola matica iz ispitivanih populacija

Arta	Halkidiki	Kastorija	Larisa
120	160	120	165
155	130	114	140
155	150	132	150
152	140	120	140
122	135	170	150
135	120	152	140
141	140	143	170
152	130	138	165
149	130	160	160
	140	132	143
	145		
Prosečan broj ovariola			
142,33	138,18	138,1	152,3

Tabela 5-2. Prosečan prečnik spermateke matica iz ispitivanih populacija

Arta	Halkidiki	Kastorija	Larisa
1197,274	1196,02	1294,005	1279,987
1304,844	1398,295	1246,817	1255,174
1260,746	1278,17	1272,743	1280,461
1078,638	1242,815	1300,829	1551,104
1279,468	1201,735	1499,937	1393,945
1055,772	1294,145	1243,291	1340,655
1248,533	1316,318	1257,596	1353,211
1364,617	1253,106	1257,75	1232,833
1221,911	1264,058	1263,349	1396,671
	1187,182	1288,539	1228,159
	1290,795		
Prosečan prečnik spermateke ispitivanih populacija			
1223,534	1265,694	1292,486	1331,22

### 5.1.2 Karakteristike legla

Procenat praznih ćelija legla, kao karakteristika kvaliteta matice ispitivanih populacija, prikazan je u Tabeli 5-3, pri čemu matice sa Halkidikija imaju neznatno manje praznih ćelija od matica iz ostalih regiona. Takođe, karakteristično je da je prosek svih kontrolisanih osobina legla bio u granicama „kvaliteta matica“ koje su propisane od strane Akreditovane laboratorije Instituta za pčelarstvo iz Nea Moudania-e. U Prilogu 3 prikazane su sve fotografije obavljenih merenja praznih ćelija legla matica iz ispitivanih populacija.

Statistička analiza podataka o karakteristikama kvaliteta matica nije pokazala značajne razlike između ispitivanih populacija ni za jednu od gore navedenih karakteristika (Tabela 5-4).

Tabela 5-3. Procenat praznih ćelija legla

Arta	Halkidiki	Kastorija	Larisa
4,11	0,87	4,83	1,14
3,40	0,94	3,94	3,12
1,21	1,14	2,56	2,70
4,55	1,83	1,70	3,42
0,85	1,52	1,30	2,27
1,99	2,27	3,10	3,12
4,55	0,85	4,01	0,57
0,57	0,85	4,24	4,55
2,56	1,14	5,89	2,24
0,85	1,70	4,98	1,18
Prosečno praznih ćelija			
2,46	1,31	3,66	2,43

Tabela 5- 4. One-Way ANOVA (SPSS, 2010), analize karakteristika kvaliteta matica

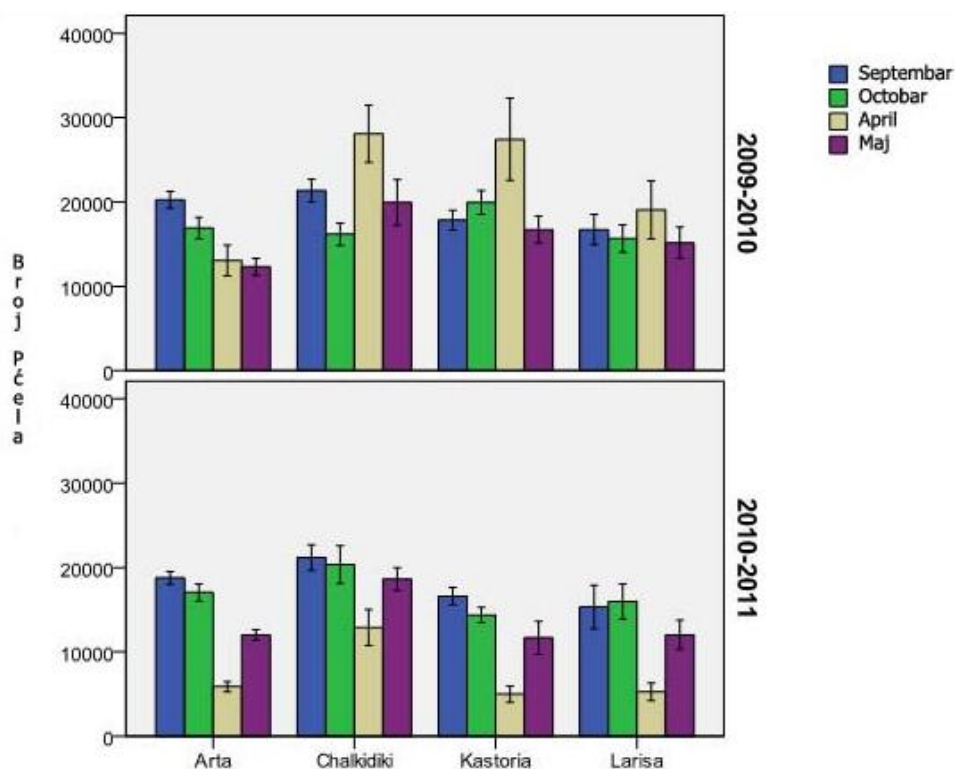
Obeležije	Suma kvadrata	df	Sredina kvadrata	F	p.
Broj ovariola	0,014	3	0,005	2,487	0,076
Prečnik spermateke	0,007	3	0,002	2,510	0,074
Procenat praznih ćelija legla	2,992	3	0,997	2,167	0,108

## 5.2 Proizvodne karakteristike i karakteristike ponašanja

### 5.2.1 Razvoj pčelinjih društava

Oscilacije u broju pčela u pčelinjim društvima u svakoj od ispitivanih populacija u toku dve godine, prikazane su na grafikonu 5-3. Broj pčela se kretao od 10.000 (Arta u maju) do čak 30.000 (Halkidiki u aprilu) u toku prve godine, i od 5.000 (Arta, Kastorija i Larisa u aprilu) do čak 22.000 (Halkidiki u septembru) u toku druge godine, pri čemu je razlika između dve godine statistički značajna (grafikon 5-3). Prosečan broj za sva pčelinja društva i sve mesece je bio za 4.500 pčela manji u drugoj godini. U proseku veći broj odraslih pčela je primećen u septembru, a manji u aprilu (za ove dve godine prosek je bio 18.500, odnosno 14.500 pčela) (Tabela 5-5). Primećene razlike među populacijama su bile statistički značajne pri čemu se u pčelinjim društvima sa Halkidiki javlja veći broj odraslih pčela (Tabela 5-6). Analitički podaci o broju

odraslih pčela po regionama u ispitivanim kontrolnim pregledima pčelinjih društava po sezoni i godini merenja prikazane su u Prilogu 4.



Grafikon 5-3. Prosečne oscilacije u broju odraslih pčela u pčelinjim društvima iz četiri regiona u toku dve godine

Tabela 5-5. GLM analysis (SPSS, 2010), analiza broja odraslih pčela, kao fiksni faktori su uzeti genotip (Genotype), sezona (Census) i godine (Year)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Model	8,392E10	32	2,622E9	68,587	,000
Genotype	1,244E9	3	4,145E8	10,841	,000
Census	6,606E8	3	2,202E8	5,759	,001
Year	1,300E9	1	1,300E9	34,000	,000
Genotype * Census	6,125E8	9	68059646,393	1,780	,073
Genotype * Year	3,574E8	3	1,191E8	3,115	,027
Genotype * Census * Year	2,398E9	12	1,998E8	5,226	,000
Error	8,947E9	234	38236060,052		
Total	9,287E10	266			

a. R Squared = ,904 (Adjusted R Squared = ,890)

Tabela 5-6. Prosečna vrednost ( $\pm$  SE) broja odraslih pčela. Prosek je prikazan za obe godine korigovan za efekat sezone

Genotip	Prosek
Arta	14524,500 $\pm$ 828,887 <b>b</b>
Halkidiki	19821,071 $\pm$ 746,097 <b>a</b>
Kastorija	16191,281 $\pm$ 792,029 <b>b</b>
Larisa	14393,431 $\pm$ 798,736 <b>b</b>

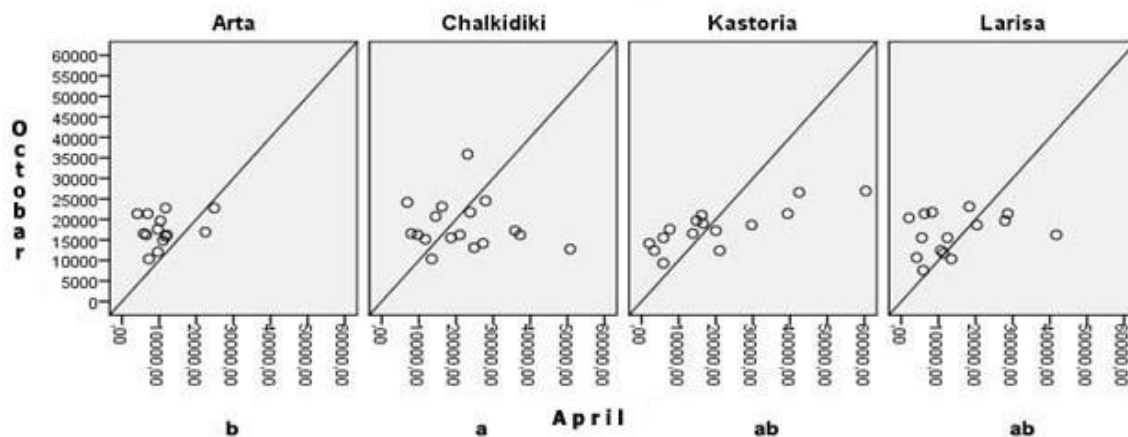
\* a,b, označavaju značajne razlike, na nivou  $P < 0.05$

Karakteristična je, takođe, i razlika u broju prolećnih pčela u odnosu na jesenje pčele, koja ukazuje na sposobnost prezimljavanja pčelinjih društava. Ukoliko na jednom pčelinjaku ima više prolećnih nego jesenjih pčela, onda pčele imaju veću sklonost ka prolećnom razvoju i boljem prezimljavanju. Statistička analiza je pokazala da su postojale statistički značajne razlike među ispitivanim populacijama i da su se pčelinja društva iz ispitivanih regiona ponašala na isti način u toku obe godine (Tabela 5-7). Zato se i odnos broja prolećnih pčela prema broju jesenjih pčela javlja kao prosek dvogodišnjeg posmatranja i prikazan je na grafikonu 5-4. Evidentno je da pčelinja društva na Halkidikiju i u Kastoriji imaju povećanu populaciju pčela u proleće, dok se, suprotno tome, u Arti i Larisi javljaju uvećani brojevi odraslih pčela u jesen.

Tabela 5-7. GLM analysis (SPSS, 2010), analiza veze broja odraslih pčela u aprilu i oktobru, kao fiksni faktori su uzeti genotip (Genotype) i godina (Year)

Source	Type III Suma kvadrata	df	Sredina kvadrata	F	p
Model	75,243 <sup>a</sup>	8	9,405	38,395	,000
Genotype	3,293	3	1,098	4,480	,007
Year	10,451	1	10,451	42,666	,000
Genotype * Year	1,007	3	,336	1,370	,262
Error	12,983	53	,245		
Total	88,226	61			

a. R Squared = ,853 (Adjusted R Squared = ,831)

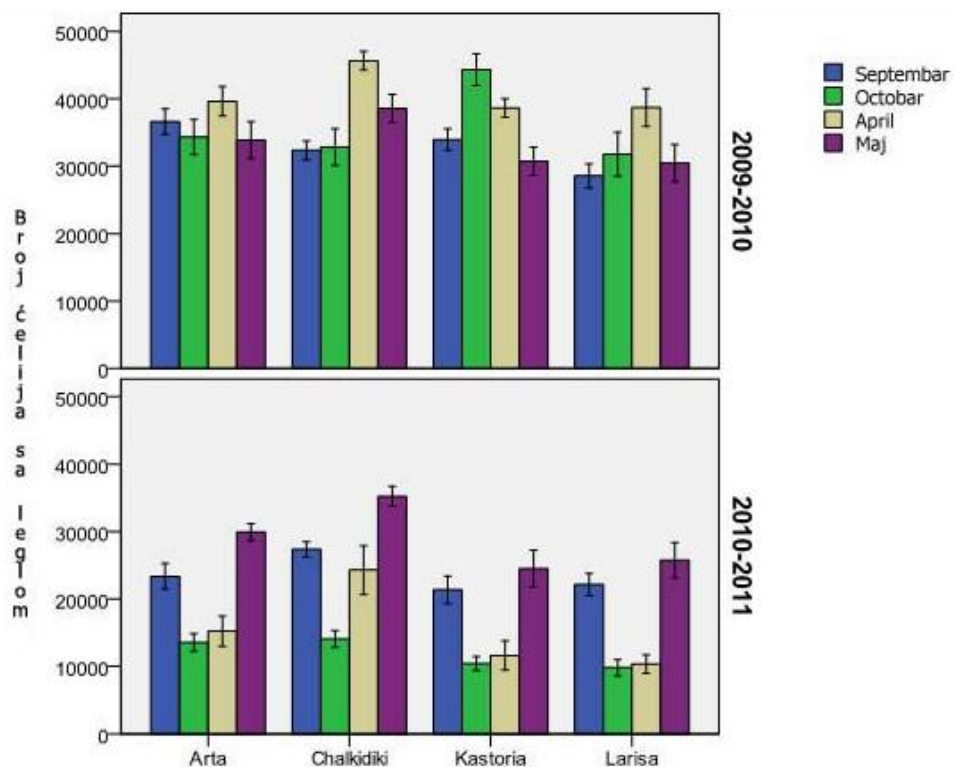


Grafikon 5-4. Odnos broja prolećnih pčela prema broju jesenjih pčela za prosek od dve godine posmatranja. Slova a, b, označavaju statističke razlike među ispitivanim populacijama

Broj ćelija legla pčelinjih društava iz ispitivanih populacija u toku dve godine posmatranja prikazan je shematski na grafikonu 5-5. U toku druge godine broj ćelija legla je bio znatno manji (14.300 i 8.000 ćelija u prvoj, odnosno u drugoj godini), kao i broj odraslih pčela (Tabela 5-8). U toku prve godine, najmanji broj ćelija legla je primećen kod pčelinjih društava iz Larise (29.000 ćelija, u septembru mesecu), a najveći je primećen kod pčelinjih društava sa Halkidikija (45.000 ćelija u aprilu).

U toku druge godine najmanji broj ćelija je primećen kod pčelinjih društava iz Larise i Kastorije (10.000 ćelija, u oktobru i aprilu), a najveći je primećen kod pčelinjih društava sa Halkidikija (35.000 ćelija u maju). Podaci o broju ćelija sa leglom po regionama pri kontrolnim pregledima ispitivanih pčelinjih društava po sezoni i godini merenja prikazane su u Prilogu 5.

Statistička analiza je pokazala da su razlike u broju ćelija sa leglom među ispitivanim regionima bile statistički značajne, pri čemu su matice sa Halkidikija stalno imale najveći broj ćelija sa leglom, a matice iz Larise najmanji broj ćelija sa leglom (Tabela 5-9). Takođe, broj ćelija je bio znatno veći u toku aprila i maja, a manji u toku meseca oktobra (13.000 ćelija sa leglom u aprilu i maju, a 10.000 ćelija sa leglom u oktobru).



Grafikon 5-5. Prosečne oscilacije u broju ćelija legla u pčelinjim društvima iz četiri regiona u toku dve godine.

Tabela 5-8. GLM analysis (SPSS, 2010), analiza broja ćelija sa leglom, kao fiksni faktori su uzeti genotip (Genotype), sezona (census) i godina (Year)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Model	4,071E10	32	1,272E9	195,268	,000
Genotype	2,358E8	3	78587800,706	12,063	,000
Census	2,671E8	3	89020874,619	13,664	,000
Year	2,418E9	1	2,418E9	371,122	,000
Genotype * Census	1,841E8	9	20460348,024	3,141	,001
Genotype * Year	79682955,880	3	26560985,293	4,077	,008
Genotype * Census * Year	8,337E8	12	69474327,544	10,664	,000
Error	1,524E9	234	6514885,774		
Total	4,223E10	266			

a. R Squared = ,964 (Adjusted R Squared = ,959)

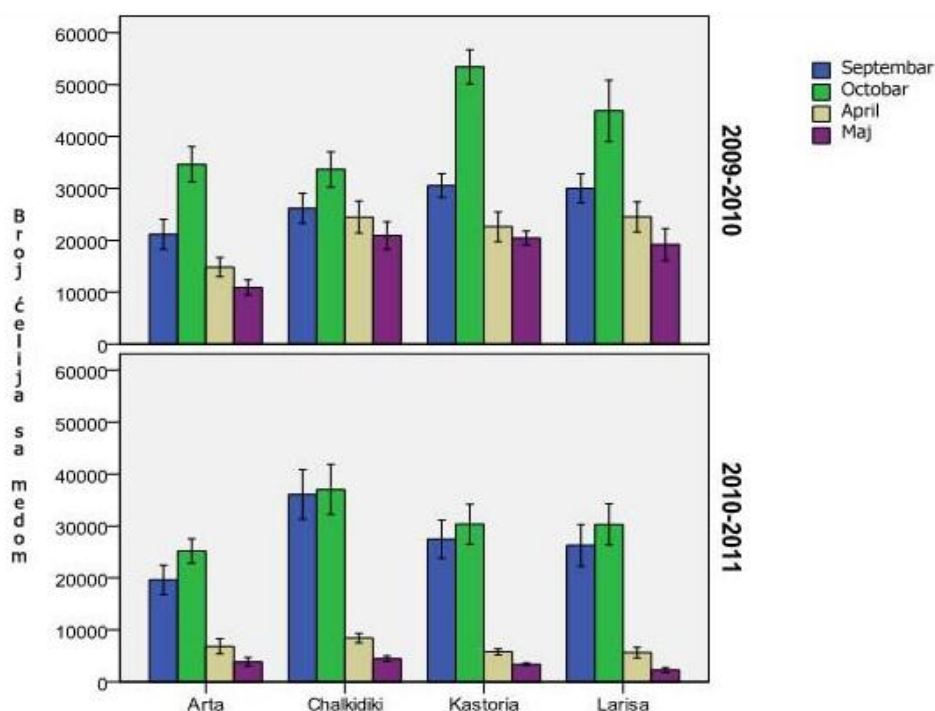


Tabela 5-9. Prosečna vrednost ( $\pm$  SE) broja ćelija sa leglom. Prosek je prikazan za obe godine korigovan za efekat sezone

Genotip	Prosek
Arta	11324,250 $\pm$ 342,147 <b>a</b>
Halkidiki	12518,444 $\pm$ 307,973 <b>a</b>
Kastorija	10775,625 $\pm$ 326,932 <b>ab</b>
Larisa	9877,875 $\pm$ 329,701 <b>b</b>

\* a,b, označavaju značajne razlike, na nivou  $P < 0.05$

Takođe, i u broju ćelija sa medom su postojale razlike između pčelinjih društava iz ispitivanih populacija, pri čemu pčele iz Arte imaju najmanji broj ćelija sa medom (Grafikon 5-7, Tabela 5-10, Tabela 5-11). Statistički značajna je bila, takođe, i razlika u broju ćelija sa medom između perioda posmatranja pri čemu se u oktobru i u septembru javljao najveći broj ćelija sa medom (Grafikon 5-7). Slično broju pčela, i broju ćelija sa leglom, i broj ćelija sa medom je u drugoj godini bila skoro upola manji u odnosu na prvu godinu (17.000, odnosno 27.000 ćelija). Podaci o broju ćelija sa medom po regionama, po sezonama i godinama merenja prikazani su u Prilogu 6.



Grafikon 5-7. Prosečne oscilacije u broju ćelija sa medom pčelinjih društava iz četiri regiona u toku dve godine.

Tabela 5-10. GLM analysis (SPSS, 2010), analiza broja ćelija sa medom, kao fiksni faktori su uzeti genotip (Genotype), sezona (Census) i godina (Year)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Model	1,933E11	32	6,039E9	68,069	,000
Genotype	1,910E9	3	6,367E8	7,176	,000
Census	2,576E10	3	8,587E9	96,777	,000
Year	6,069E9	1	6,069E9	68,398	,000
Genotype * Census	6,799E8	9	75546031,997	,851	,570
Genotype * Year	1,202E9	3	4,007E8	4,516	,004
Genotype * Census * Year	4,012E9	12	3,344E8	3,769	,000
Error	2,076E10	234	88725102,683		
Total	2,140E11	266			

a. R Squared = ,903 (Adjusted R Squared = ,890)

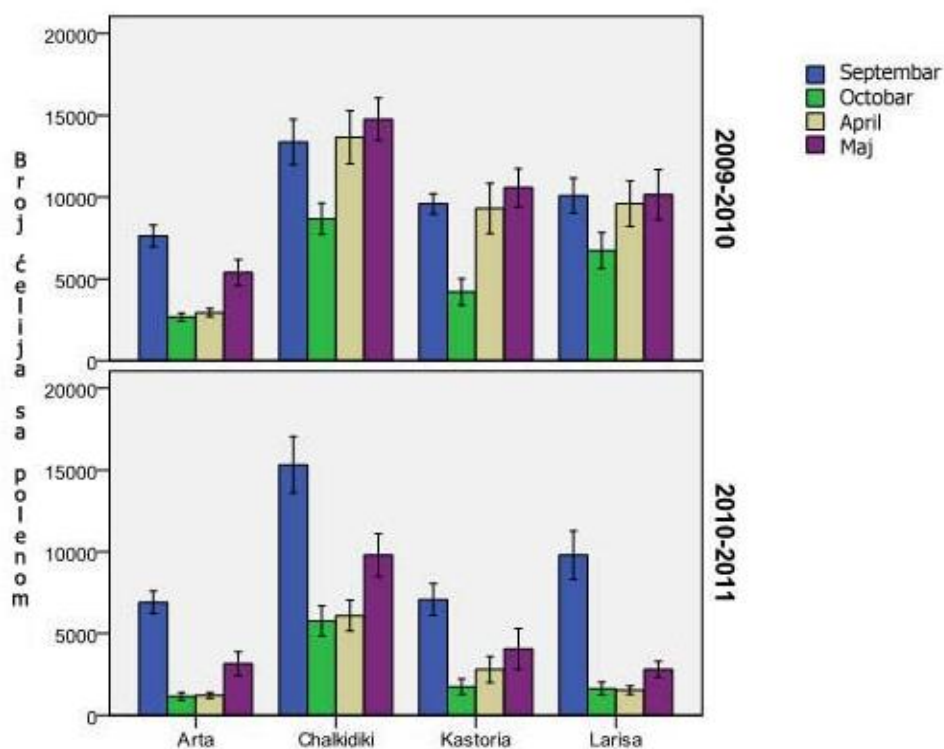
Tabela 5-11. Prosečna vrednost ( $\pm$  SE) broja ćelija sa medom. Prosek je prikazan za obe godine korigovan za efekat sezone

Genotip	Prosek
Arta	17128,125 $\pm$ 1262,648 b
Halkidiki	23894,306 $\pm$ 1136,533 a
Kastorija	24239,688 $\pm$ 1206,502 a
Larisa	22880,000 $\pm$ 1216,718 a

\* a,b, označavaju značajne razlike, na nivou  $P < 0.05$

Ispoljene su velike razlike između četiri ispitivane populacije pčela u broju ćelija sa polenom, pri čemu su pčele iz Arte imale najmanji broj ćelija sa polenom (Grafikon 5-8, Tabela 5-12, Tabela 5-13). Podaci o broju ćelija sa polenom po regionama, po sezonama i godinama merenja prikazani su u Prilogu 7.

Statistički značajna je bila, takođe, i razlika u broju ćelija sa polenom između perioda ispitivanja, pri čemu se u oktobru javljao najmanji, a u septembru najveći broj ćelija sa polenom (Grafikon 5-8). Znatno manje polena su prikupila sva ispitivana pčelinja društva u toku druge godine ispitivanja (u proseku 8.700 ćelija polena u prvoj i 5.000 ćelija polena u drugoj godini).



Grafikon 5-8. Prosečne oscilacije u broju ćelija sa polenom za pčelinja društva iz četiri regiona u toku dve godine.

Tabela 5-12. GLM analysis (SPSS, 2010), analiza broja ćelija sa polenom, kao fiksni faktori su uzeti genotip (Genotype), sezona (Census) i godina (Year)

Source	Type III Suma kvadrata	df	Sredina kvadrata	F	p
Model	1,914E10	32	5,981E8	56,096	,000
Genotype	1,549E9	3	5,163E8	48,427	,000
Year	7,595E8	1	7,595E8	71,231	,000
Census	1,179E9	3	3,930E8	36,857	,000
Genotype * Census	80654565,902	9	8961618,434	,841	,580
Genotype * Year	98473465,643	3	32824488,548	3,079	,028
Genotype * Year * Census	4,278E8	12	35651913,134	3,344	,000
Error	2,399E9	225	10662002,469		
Total	2,154E10	257			

a. R Squared = ,889 (Adjusted R Squared = ,873)

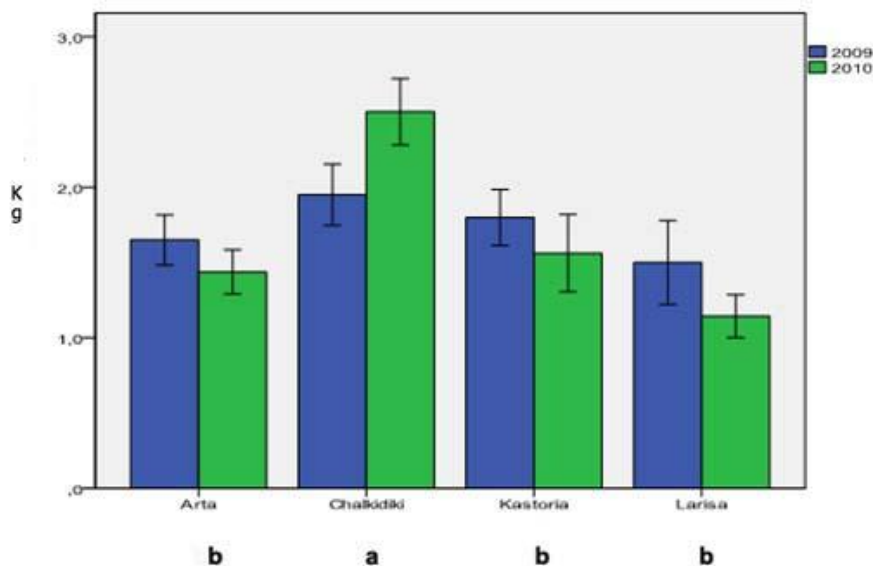
Tabela 5-13. Prosečna vrednost ( $\pm$  SE) broja ćelija sa polenom. Prosek je prikazan za obe godine korigovan za efekat sezone

Genotip	Prosek
Arta	3884,271 $\pm$ 475,699 <b>c</b>
Halkidiki	10933,403 $\pm$ 396,909 <b>a</b>
Kastorija	6170,938 $\pm$ 426,456 <b>b</b>
Larisa	6539,167 $\pm$ 426,456 <b>b</b>

\* a,b,c, označavaju značajne razlike, na nivou  $P < 0.05$

### 5.2.2 Produktivnost pčelinjih društava

Razlika u masi košnica u periodu od tri dana kao pokazatelj produktivnosti ispitivanih pčelinjih društava prikazana je na Grafikonu 5-9. Statistička analiza je pokazala da nisu postojale razlike između godina, već da su postojale značajne razlike među ispitivanim populacijama pčela (Tabela 5-14), pri čemu Halkidiki prednjači u odnosu na ostale (Tabela 5-15). Podaci za produktivnost meda (kg) po regionama, po sezoni i godini merenja, prikazani su u Prilogu 8



Grafikon 5-9. Prosečna masa košnica (razlika u težini u periodu od 3 dana) za vreme intenzivnog sakupljanja meda (jesen) za dve godine.

Tabela 5-14. GLM analysis (SPSS, 2010), analiza razlike u masi košnica u periodu od tri dana za vreme intenzivnog sakupljanja meda, kao fiksni faktori su uzeti genotip (Genotype) i godina (Year)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Model	221,605 <sup>a</sup>	8	27,701	69,131	,000
Genotype	8,018	3	2,673	6,670	,001
Year	,073	1	,073	,183	,671
Genotype * Year	2,367	3	,789	1,969	,127
Error	25,645	64	,401		
Total	247,250	72			

a. R Squared = ,896 (Adjusted R Squared = ,883)

Tabela 5- 15. Prosečna vrednost ( $\pm$  SE) razlika u masi košnica u periodu od tri dana za vreme intenzivnog sakupljanja meda. Prosek je prikazan za obe godine

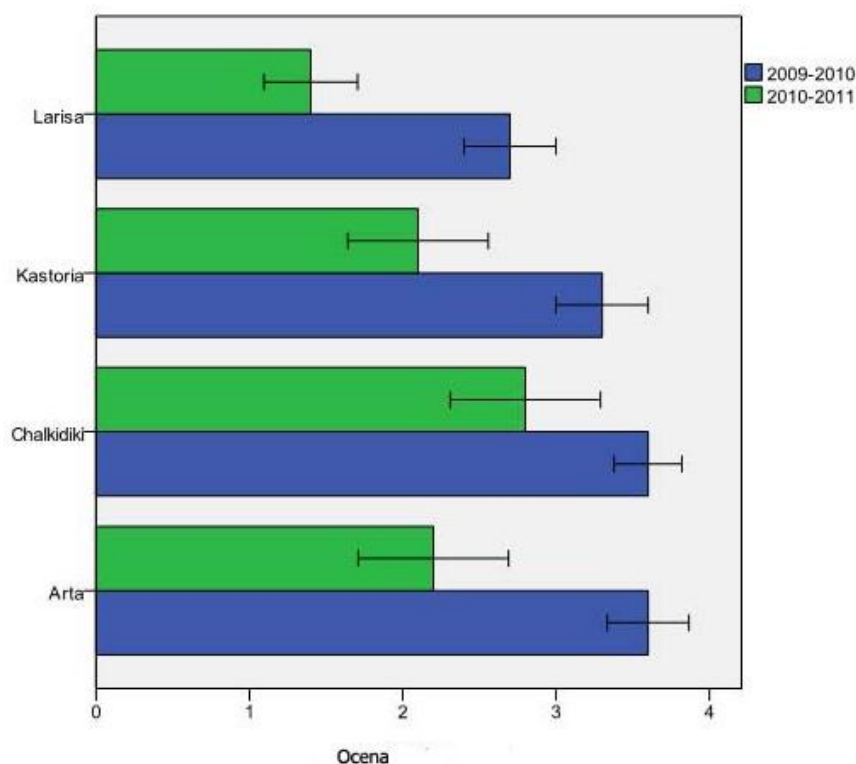
Genotip	Mean
Arta	1,544 $\pm$ 0,150 <b>b</b>
Halkidiki	2,225 $\pm$ 0,145 <b>a</b>
Kastorija	1,681 $\pm$ 0,150 <b>b</b>
Larisa	1,321 $\pm$ 0,156 <b>b</b>

\* a,b, označavaju značajne razlike, na nivou  $P < 0.05$

Oscilacija proizvodnih karakteristika (broj odraslih pčela , površina sa leglom, polenom i medom), četiri ispitivane populacija pčela, za ceo period posmatranja prikazana grafički u prilogu 9. Uz manja odstupanja, sve četiri populacije su imale isti trend rasta i produktivnosti za obe godine posmatranja.

### 5.2.3 Rojenje

Sklonost ka rojenju kod ispitivanih pčelinjih društava za dve godine posmatranja data je na grafikonu 5-10. Veće vrednosti ukazuju na manju sklonost ka rojenju. Primećene su razlike među godinama ispitivanja, ali i među ispitivanim regionima (Tabela 5-16). U drugoj godini su sve populacije pokazale povećanu sklonost ka rojenju (manja ocena) (grafikon 5-10), pri čemu se na Halkidikiju javlja manja sklonost (veća ocena), a u Larisi veća sklonost ka rojenju (manja ocena) (Tabela 5-17). Podaci sklonosti ka rojenju u obe godine posmatranja su prikazani u Prilogu 10.



Grafikon 5-10. Razlike u sklonosti ka rojenju pčelinjih društava za dve godine posmatranja

Tabela 5-16. GLM analysis (SPSS, 2010), analiza sklonosti ka rojenju, kao fiksni faktori su uzeti genotip (Genotype) i godina (Year)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Model	631,500 <sup>a</sup>	8	78,938	58,292	,000
Genotype	14,238	3	4,746	3,505	,020
Year	27,613	1	27,613	20,391	,000
Genotype * Year	1,038	3	,346	,255	,857
Error	97,500	72	1,354		
Total	729,000	80			

a. R Squared = ,866 (Adjusted R Squared = ,851)

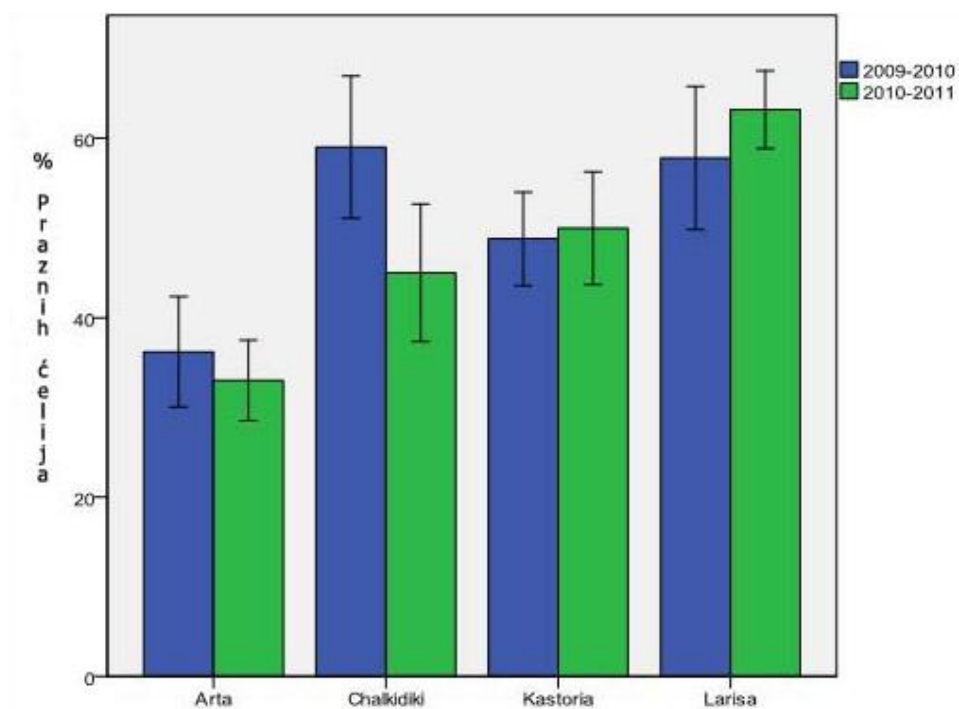
Tabela 5-17. Razlike u sklonosti ka rojenju među regionima (prosek ± SE). Prosek je prikazan za obe godine

Genotip	Prosek
Arta	2,900 ± 0,260 <b>ab</b>
Halkidiki	3,200 ± 0,260 <b>a</b>
Kastorija	2,700 ± 0,260 <b>ab</b>
Larisa	2,050 ± 0,260 <b>b</b>

\* a,b, označavaju značajne razlike, na nivou P<0.05

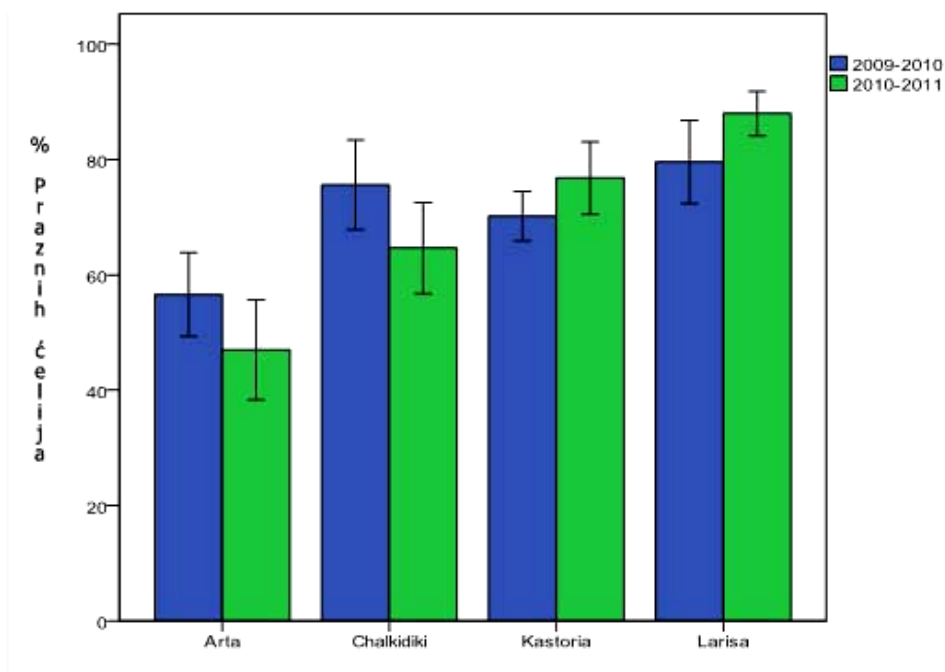
#### 5.2.4 Higijensko ponašanje

Higijensko ponašanje pčelinjih društava u toku 24 i 48 časova se kretalo od 34-64%, odnosno od 47-85% (grafikoni 5-11 i 5-12). Razlike između godina nisu bile značajne, ali su postojale značajne razlike između ispitivanih regiona, pri čemu se u Larisi i na Halkidikiju javlja najveći, a u Arti najmanji procenat očišćenih ćelija mrtvog legla (Tabele 5-18, 5-19, 5-20, i 5- 21) za 24, odnosno 48 časova. Podaci o broju očišćenih ćelija legla nakon 24 i 48 časa u obe godine su prikazani u Prilozima 11 i 12.



Grafikon 5-11. Razlike u procentima očišćenih ćelija uginulog legla između populacija posle 24 časa





Grafikon 5-12. Razlike u procentima očišćenih ćelija mrtvog legla između populacija posle 48 časa

Tabela5-18. GLM analysis (SPSS, 2010), analiza higijenskog ponašanja nakon 24 časa, kao fiksni faktori su uzeti genotip (Genotype) i godina (Year)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Model	154114,400 <sup>a</sup>	8	19264,300	49,024	,000
Genotype	4241,509	3	1413,836	3,598	,019
Year	92,351	1	92,351	,235	,630
Genotype * Year	747,862	3	249,287	,634	,596
Error	20433,600	52	392,954		
Total	174548,000	60			

a. R Squared = ,883 (Adjusted R Squared = ,865)

Tabela 5-19. Prosečna vrednost ( $\pm$  SE) razlike u procentu očišćenih ćelija mrtvog legla nakon 24 časa. Prosek je prikazan za obe godine

Genotip	Mean
Arta	34,600 $\pm$ 5,864 b
Halkidiki	52,000 $\pm$ 5,118 a
Kastorija	49,400 $\pm$ 5,429 ab
Larisa	60,500 $\pm$ 5,429 a

\* a,b, označavaju značajne razlike, na nivou  $P < 0.05$

Tabela 5-20. GLM analysis(SPSS, 2010), analiza higijenskog ponašanja nakon 48 časa, kao fiksni faktori su uzeti genotip (Genotype) i godina (Year)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Model	303969,067 <sup>a</sup>	8	37996,133	96,896	,000
Genotype	6476,941	3	2158,980	5,506	,002
Year	25,165	1	25,165	,064	,801
Genotype * Year	1066,396	3	355,465	,906	,444
Error	20390,933	52	392,133		
Total	324360,000	60			

a. R Squared = ,937 (Adjusted R Squared = ,927)

Tabela 5-21. Prosečna vrednost ( $\pm$  SE) razlike u procentu očišćenih ćelija mrtvog legla nakon 48 časa. Prosek je prikazan za obe godine

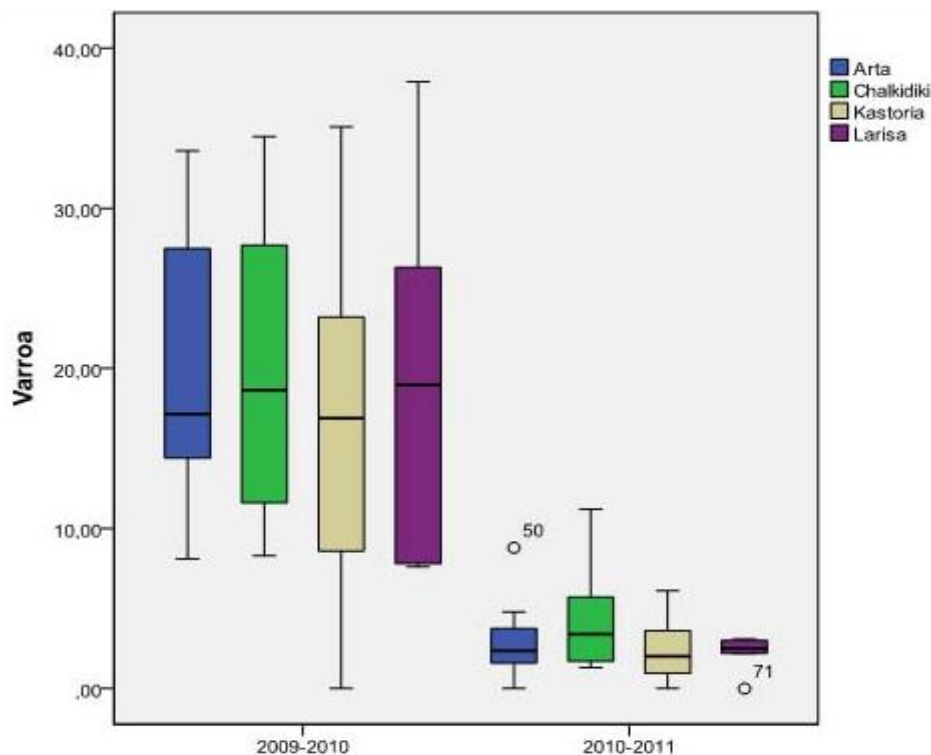
Genotip	Prosek
Arta	51,800 $\pm$ 5,858 <b>b</b>
Halkidiki	70,133 $\pm$ 5,113 <b>a</b>
Kastorija	73,500 $\pm$ 5,423 <b>a</b>
Larisa	83,800 $\pm$ 5,423 <b>a</b>

\* a,b, označavaju značajne razlike, na nivou  $P < 0.05$

## 5.2.5 Bolesti

### 5.2.5.1 Varooza

Infestiranost varoom je bila mnogo veća u prvoj godini nego u drugoj godini istraživanja (grafikon 5-13) i procenat invadiranosti se kretao od 16,6 do 19,9% u 2009, odnosno 2,2 do 4,2% u 2010. godini. Razlika između godina je bila statistički visoko značajna (prosek za 2009. bio je 18,6 %, a za 2010. bio je 3 %), ali nisu utvrđene značajne razlike između ispitivanih populacija. (Tabela 5-22 Tabela 5-23). Podaci zaraženosti varoom kod pčelinjih društava iz ispitivanih populacija po godinama merenja su prikazani u Prilogu 13.



Grafikon 5-13. Varijacije u procentu varroe između ispitivanih populacija pčela, tokom dve posmatrane godine.

Tabela 5-22. GLM analysis (SPSS, 2010), analiza nivoa zaraženosti sa varoom, kao fiksni faktori su uzeti genotip (Genotype), sezona (Census) i godina (Year)

Source	Type III Suma kvadrata	df	Sredina kvadrata	F	p
Model	857,799 <sup>a</sup>	8	107,225	120,559	,000
Genotype	2,078	3	,693	,779	,510
Year	99,505	1	99,505	111,879	,000
Genotype * Year	,378	3	,126	,142	,935
Error	56,921	64	,889		
Total	914,720	72			

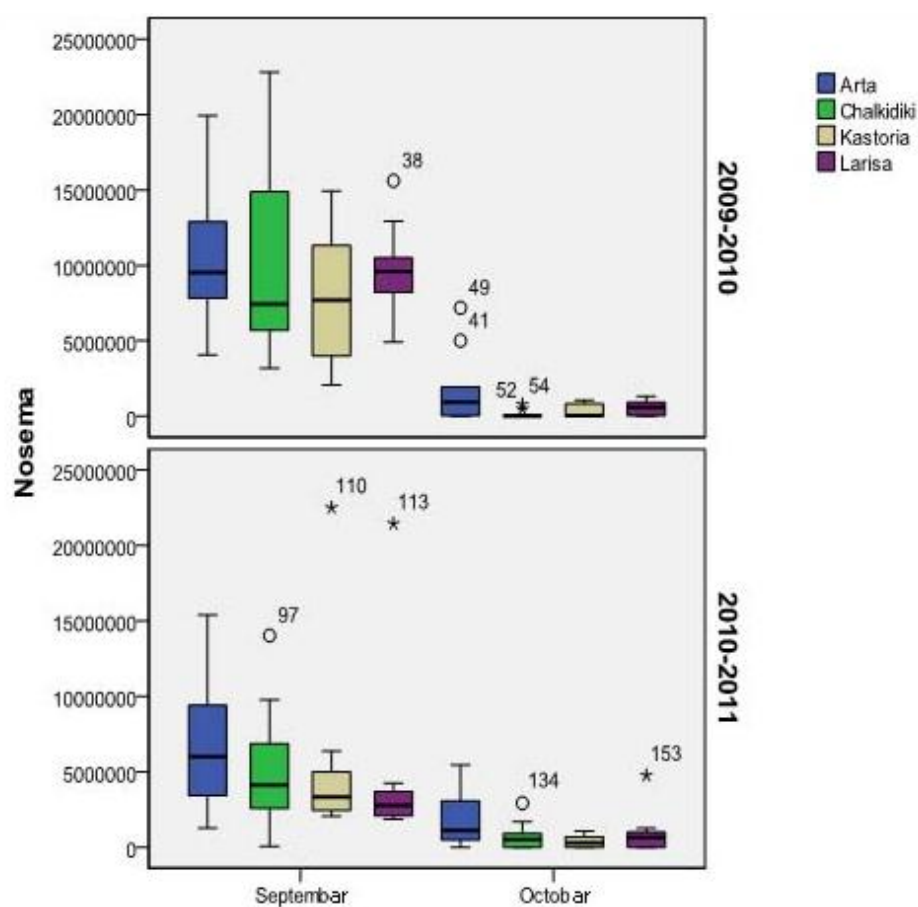
a. R Squared = ,938 (Adjusted R Squared = ,930)

Tabela 5-23. Prosečna vrednost ( $\pm$  SE) nivoa zaraženosti sa varoom između četiri ispitivane populacije. Prosek je prikazan za obe godine

Genotip	Prosek
Arta	11,473 $\pm$ 1,754
Halkidiki	11,971 $\pm$ 1,699
Kastorija	9,510 $\pm$ 1,754
Larisa	10,278 $\pm$ 1,823

### 5.2.5.2 Nozemoza

Nivo zaraze nozemom kretao se od niskih vrednosti (150.000 spora po pčeli) do veoma visokog nivoa (10.700.000 spora po pčeli), ali bez velikih posledica po ispitivanim pčelinjim društvima. Detaljan broj spora po pčeli za svaku sezonu i godinu ispitivanja prikazan je u prilogu 14, a varijacije u broju spora date su na Grafikonu 5-14. Statistička analiza je pokazala da nije bilo značajnih razlika između ispitivanih regiona (Tabela 5.24), ali je bilo veoma velike razlike između vremena uzorkovanja, sa najvišim nivoima zaraze u septembru.(Tabela 5-25).



Grafikon 5-14. Varijacije u nivou zaraženosti nozemom.

Tabela 5-24. GLM analysis (SPSS, 2010), analiza nivoa zaraženosti nozemom, kao fiksni faktori su uzeti genotip (Genotype), sezona (Census) i godina (Year)

Source	Type III Suma kvadrata	df	Sredina		
			kvadrata	F	p
Model	4958,570 <sup>a</sup>	16	309,911	252,483	,000
Genotype	9,669	3	3,223	2,626	,053
Census	141,824	1	141,824	115,543	,000
Year	,701	1	,701	,571	,451
Genotype * Census	5,856	3	1,952	1,590	,195
Genotype * Year	1,291	3	,430	,351	,789
Genotype * Census * Year	3,116	4	,779	,635	,639
Error	157,114	128	1,227		
Total	5115,684	144			

a. R Squared = ,969 (Adjusted R Squared = ,965)

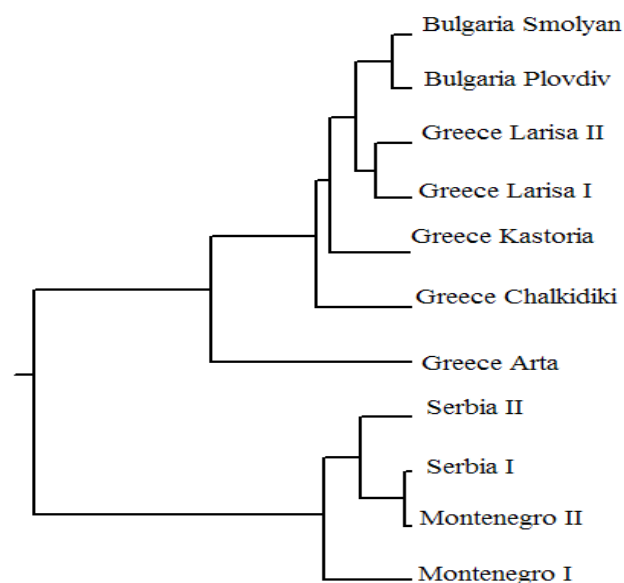
Tabela 5-25. Prosečna vrednost ( $\pm$  SE) nivoa zaraženosti nozemom između dva meseca tokom kojih je vršeno uzorkovanje. Prosek je prikazan za obe godine

Mesec tokom kog je vršeno uzorkovanje	Prosek
Septembar	7747562,599 $\pm$ 446254,572
Oktoibar	858808,110 $\pm$ 446254,572

## 5.3 Analiza genoma

### 5.3.1 Izoenzimska analiza

Kao što je prikazano u radu *Ivanova et al.*, (2012), enzimski sistemi MDH-1, ALP, PGM i HK koji su proučavani kod grčkih populacija bili su polimorfni, a neki od njih su primećeni samo kod određenih populacija. Prosečan broj alela po lokusu je 2,5 među grčkim populacijama (Larisa II, Halkidiki, Kastorija) dok je 2,0 bilo u Bugarskoj (Smoljan). Posmatrani i očekivani broj heterozigosita ( $H_o$  i  $H_e$ ) kretao se od 0,161 (Grčka – Larisa I) do 0,276 (Grčka – Halkidiki) i od 0,222 (Bugarska – Smoljan) do 0,335 (Grčka – Arta) (*Ivanova et al.*, 2012). Iz gore navedenih podataka i grafikona 5-15 očito je postojala jasna razlika među testiranim grčkim populacijama, i stoga ih u cilju dalje karakterizacije možemo posmatrati kao zasebne ekotipove.

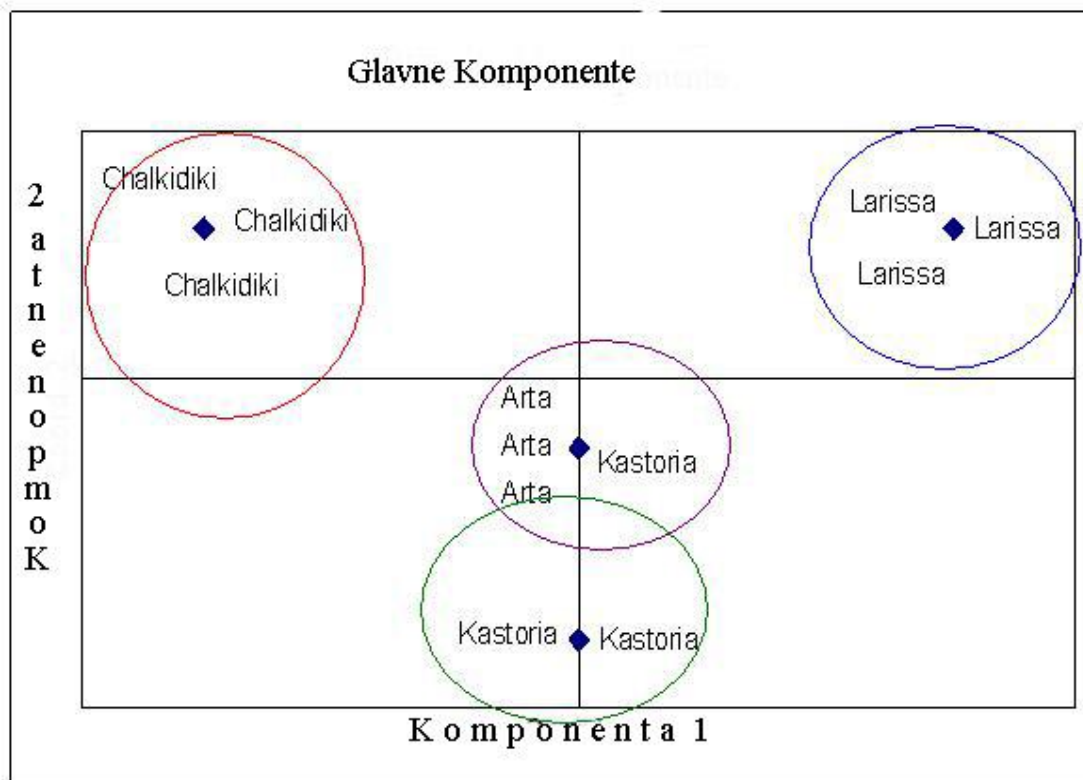


Grafikon 5-15. Razlikovanje populacije medonosnih pčela u Grčkoj i drugim balkanskim državama zasnovano na izoenzimskim sistemima (preuzeto iz *Ivanova et al., 2012.*)

Ova analiza je pokazala da je populacija iz Larise veoma homogena i da je moguće da pripada vrsti *A. mellifera cecropia*, dok ostale populacije, iako međusobno različite, mogu pripadati vrsti *A. mellifera macedonica*, poreklom iz severne Grčke (slika. 4-3).

### 5.3.2 Analiza mtDNK

Ispitivanje tri različita gena kako bi se utvrdile genetske razlike između populacija koje su testirane, dalo je kontradiktorne rezultate. Pošto je osnovni redosled različit kod svakog od gena, očekivane su i razlike u rezultatima. Analiza glavnih komponenti na 16s ribozomalnom genu pokazala je da se pčele iz Larise mogu dobro razlikovati od pčela Halkidikija kao i da su genetski izuzetno daleka od pčela iz Arte i Kastorije (Grafikon 5-16). Populacija pčela iz Kastorije se takođe sastoji od dve podpopulacije: jedne koja je slična pčelama Arte a druga, iako različita, genetski veoma bliska pčelama iz Arte.



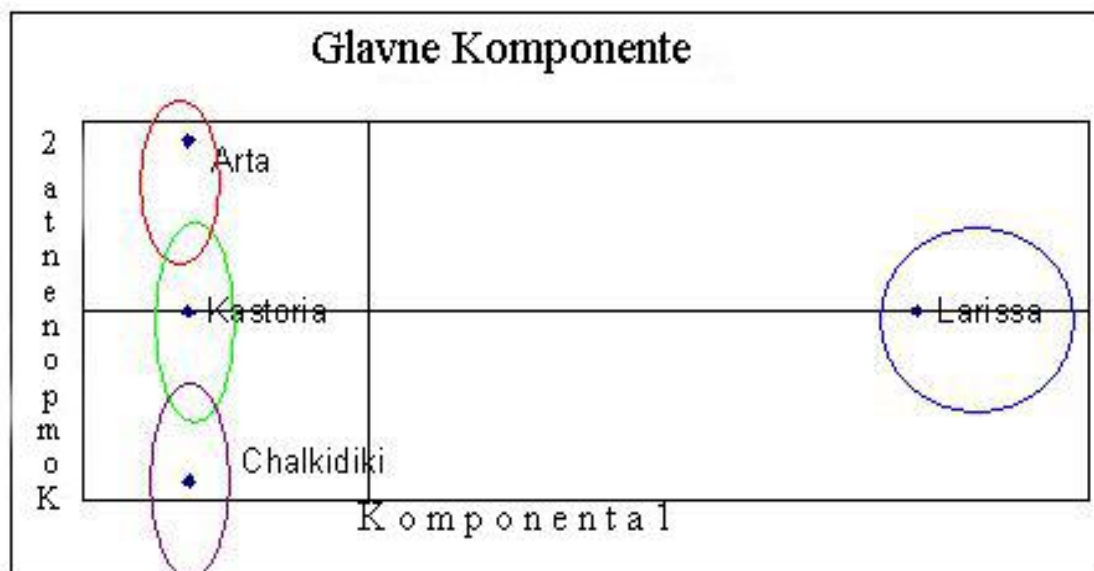
Grafikon 5-16. Analiza glavnih komponenti 16s ribozomalnog gena mtDNK

Genetska udaljenost, koja je prikazana u tabeli 5-26, potvrđuju veliku genetsku udaljenost između pčela Larise i ostalih populacija. Konstruisani dendrogram takođe potvrđuje navedene rezultate (Grafikon 5-17) Populacija pčela iz Larise je u drugačijoj klasi od ostalih, a pritom su pčele Halkidikija veoma bliske pčelama Kastorije, dok su pčele iz Arte malo udaljenije od obe populacije pčela.





Analiza gena COI (Citohrom c oksidaza), je takođe pokazala da je populacija pčela iz Larise mnogo udaljena od svih ostalih populacija koje su, i ako formiraju zasebne grupe, veoma bliske jedna drugoj. (Grafikon 5-18).

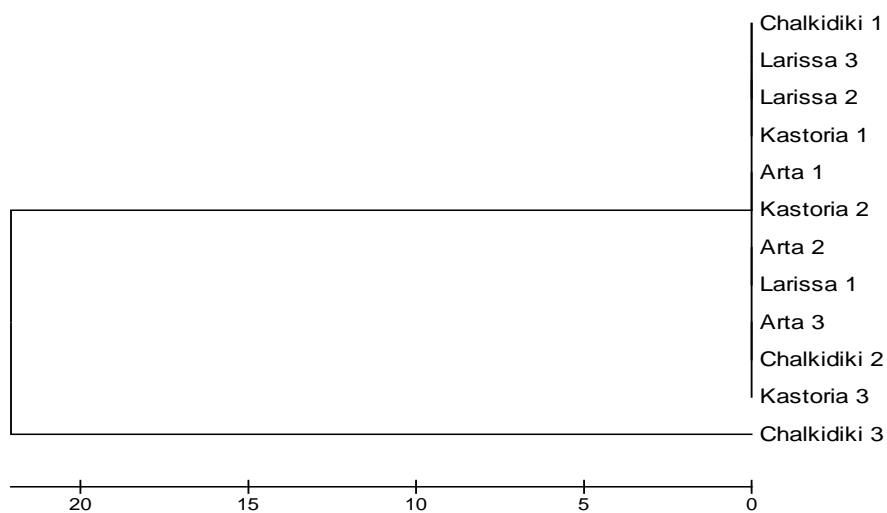


Grafikon 5-18. Analiza osnovnih komponenti COI gena u mt-DNk

Izračunata genetska udaljenost koja je prikazana u Tabeli 5-27, potvrđuje da je populacija pčela iz Larise izdvojena od ostalih. Međutim, UPGMA dendrogram ilustruje da se samo jedan deo populacije pčela iz Halkidikija nalazi u klasi odvojenoj od ostalih (Grafikon 5-19).

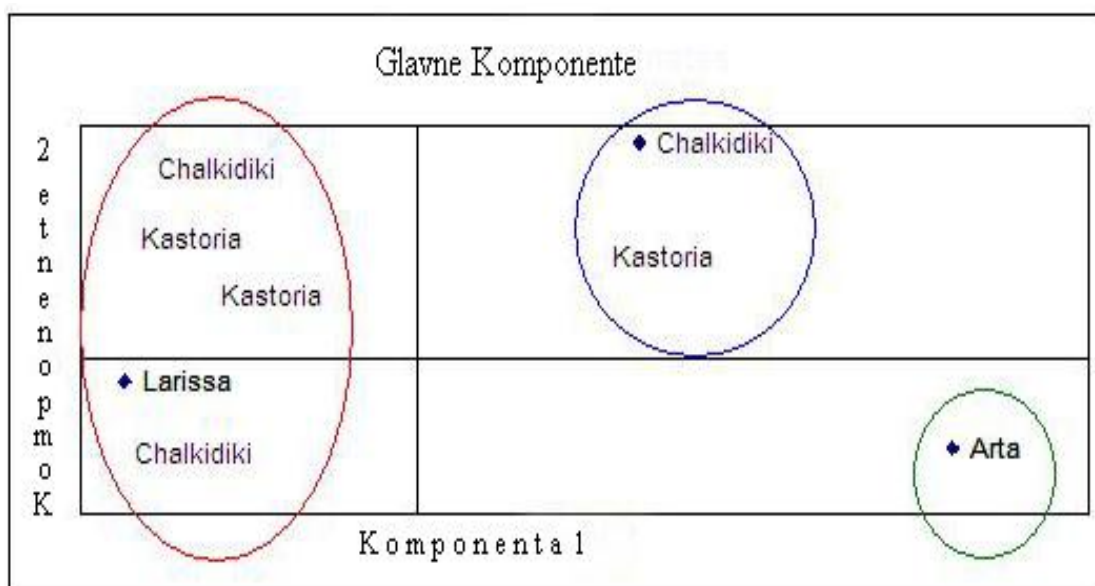
Tabela 5-27. Obračunata daljina između 4 oblasti na osnovu COI gena, prikazano u parovima

	Arta 1	Arta 2	Arta 3	Halkidiki 1	Halkidiki 2	Halkidiki 3	Kastorija 1	Kastorija 2	Kastorija 3	Larisa 1	Larisa 2	Larisa 3
Arta 1												
Arta 2	0.00											
Arta 3	0.00	0.00										
Halkidiki1	0.00	0.00	0.00									
Halkidiki 2	0.00	0.00	0.00	0.00								
Halkidiki 3	44.14	44.14	44.14	44.14	44.14							
Kastorija 1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	44.14						
Kastorija 2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	44.14	0.00					
Kastorija 3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	44.18	0.00	0.00				
Larisa 1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	44.14	0.00	0.00	0.00			
Larisa 2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	44.14	0.00	0.00	0.00	0.00		
Larisa 3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	44.14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	



Grafikon 5-19. UPGMA dendrogram koji pokazuje odnos između ispitivanih populacija zasnovan na Mt-DNK COI genu.

Treći gen, ND5, je pokazao drugačije rezultate. Populacija pčela iz Arte se razlikuje, od ostalih populacija. Iz druge dve grupe, u prvom slučaju, populacija pčela iz Larise je centralna populacija dok su populacije pčela Halkidikija i Kastorije prateće, a u drugom je populacija pčela iz Halkidikija centralna populacija dok je populacija Kastorije prateća (Grafikon 5-20).



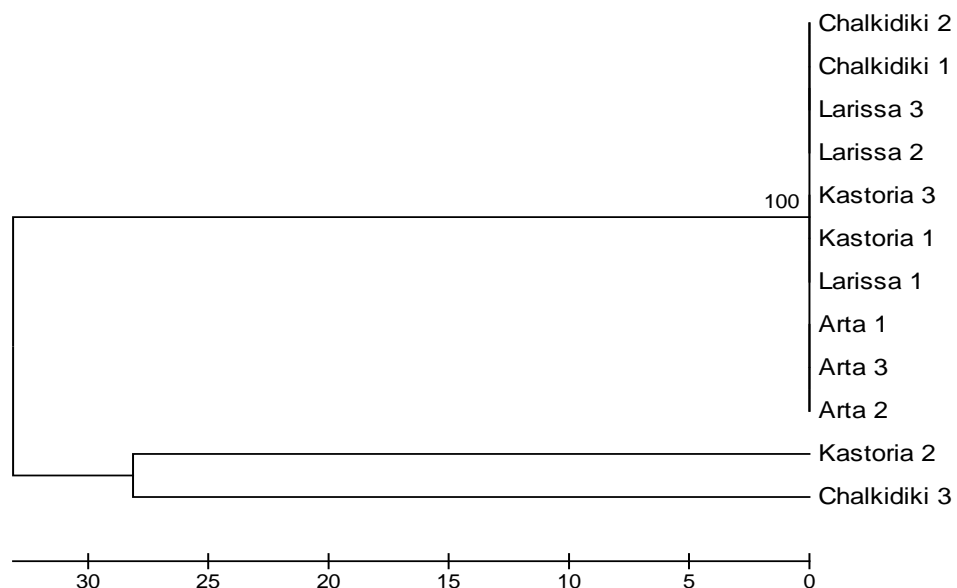
rafikon5-20. Analiza osnovnih komponenti ND5 gena kod mt-DNK

G

Genetska udaljenost između populacija prikazana je u Tabeli 5-28. Jedan deo populacije pčela iz Halkidikija i jedan deo populacije pčela iz Kastorije su u genetskom pogledu dosta udaljene od ostalih populacija, kao što je i prikazano na (Grafikon 5-21). Rezultati genetske udaljenosti, koji se odnose na ND5 i COI gene, sličniji su međusobno, a manje su slični rezultatima dobijenim na osnovu analize 16s ribozomalnog gena.

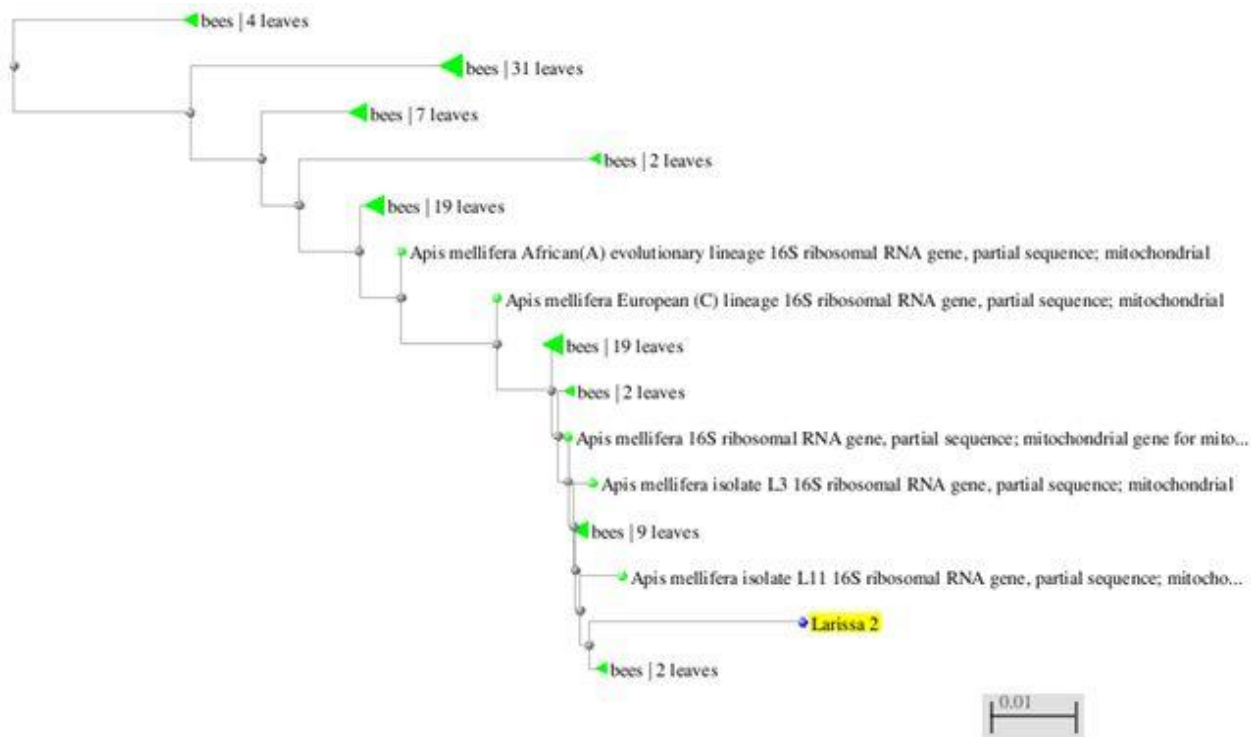
Tabela 5-28. Obračunata udaljenost između 4 oblasti na osnovu ND5 gena, prikazano u parovima

	Halkidiki 2	Kastorija 3	Kastorija 2	Kastorija 1	Halkidiki 1	Arta 3	Arta 2	Arta 1	Larisa 1	Larisa 2	Larisa 3	Halkidiki 3
Halkidiki 2												
Kastorija 3	0.00											
Kastorija 2	60.80	60.80										
Kastorija 1	0.00	0.00	60.80									
Halkidiki 1	0.00	0.00	60.80	0.00								
Arta 3	0.00	0.00	60.79	0.00	0.00							
Arta 2	0.00	0.00	60.79	0.00	0.00	0.00						
Arta 1	0.00	0.00	60.79	0.00	0.00	0.00	0.00					
Larisa 1	0.00	0.00	60.80	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00				
Larisa 2	0.00	0.00	60.80	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
Larisa 3	0.00	0.00	60.80	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
Halkidiki 3	71.70	71.70	56.27	71.70	71.70	71.68	71.68	71.68	71.70	71.70	71.70	



Grafikon 5-21. UPGMA dendrogram koji pokazuje odnos između ispitivanih populacija zasnovan na mt-DNK ND5 genu.

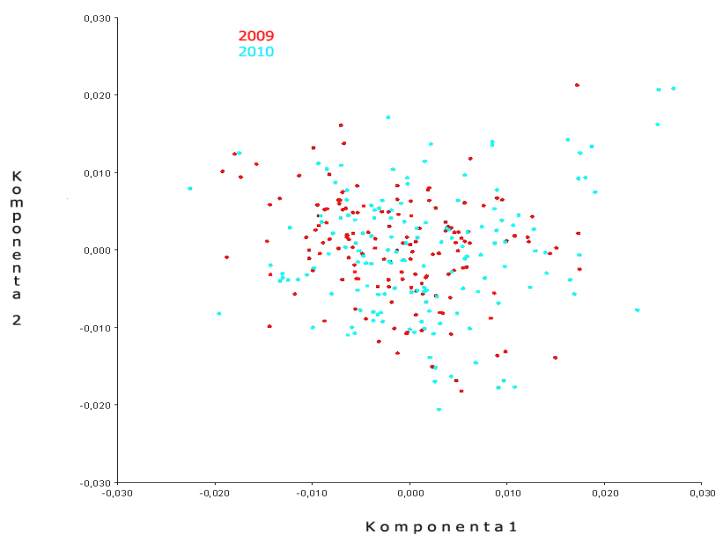
Osim toga, poređenje redosleda osnova svih populacija sa onima koji postoje u NCBI su pokazali da je Larisa populacija nova i da je u priličnoj meri udaljena od svih ostalih medonosnih pčela u Grčkoj koje postoje u Banci gena, kao što je i prikazano na Grafikonu 5-22.



Grafikon 5-22- Razlikovanje Larisa populacije od ostalih populacija u Grčkoj koja već postoji NCBI.

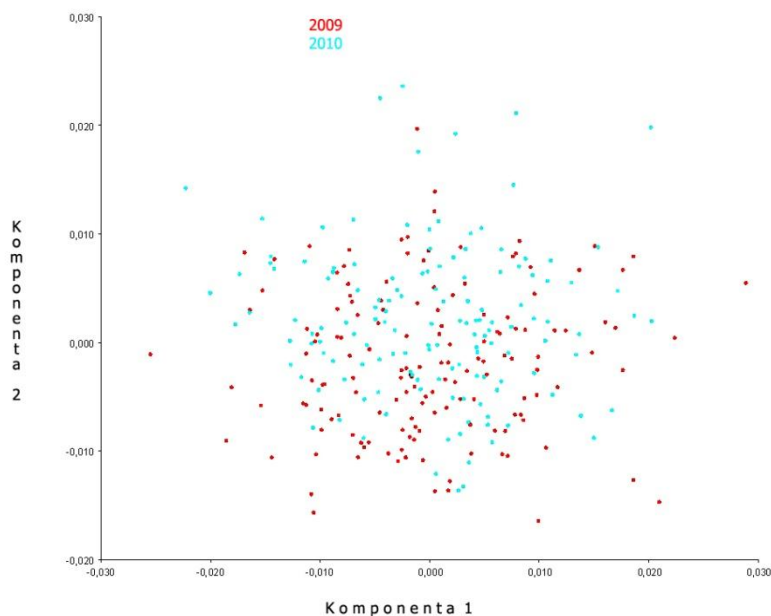
### 5.3.3 Analiza geometrijske morfometrije

Kanonična analiza varijanse veličine krila otkrila je strukturu populacija, za Artu, Halkidiki, Kastoriju i Larisu. Ovo je prikazano na grafikonu 5-23, grafikonu 5-24, grafikonu 5-25 i grafikonu 5-26. Takođe je prikazano da su populacije pčela iz Arte, Halkidikija i Larise više homogene nego populacija pčela u Kastoriji, jer su uzorci iz obe godine istraživanja u opadanju u istoj oblasti kanoničnih osa. Iako se uočava da se populacija pčela iz Kastorije sastoji iz dve potpopulacije, to se ipak odnosi samo na 2009. ali ne i na 2010. godinu.



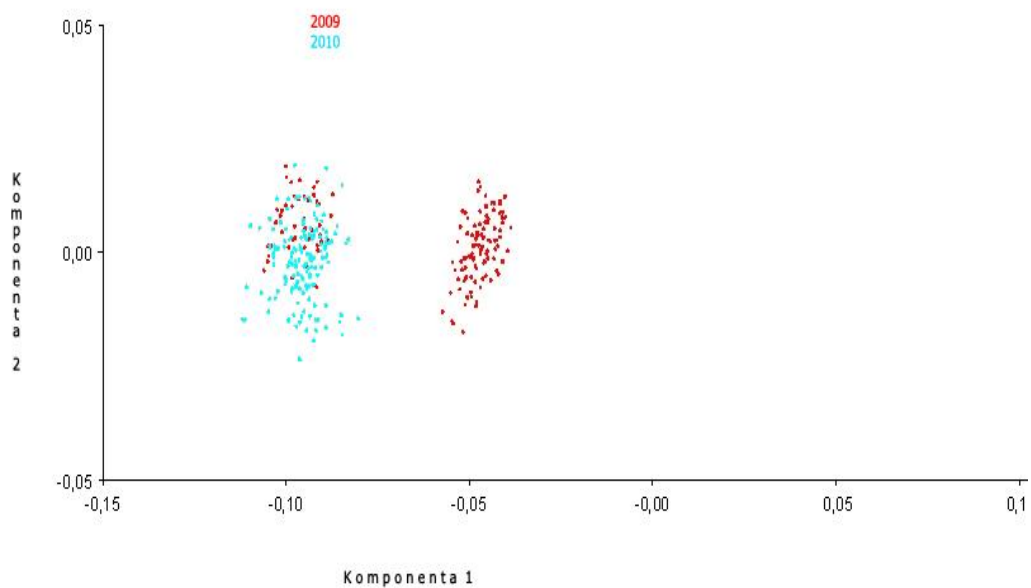
Grafikon 5-23. Raspored prema veličini krila iz uzoraka koji pripadaju Arta populaciji, za obe godine istraživanja

Uvidom u dijagram promene oblika krila, dobijenih preko MorphoJ programa, postaje jasno da je kod populacije pčela iz Kastorije veća deformacija prosečnog oblika krila u poređenju sa ukupnim prosečnim oblikom krila svih populacija.

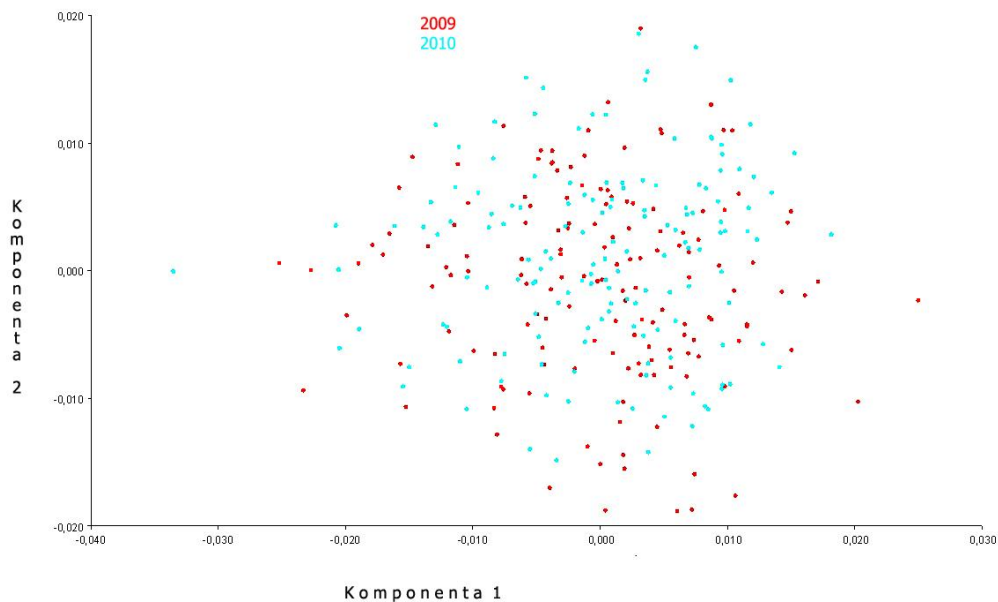


Grafikon 5-24. Raspored prema veličini krila iz uzoraka koji pripadaju Halkidiki populaciji, za obe godine istraživanja

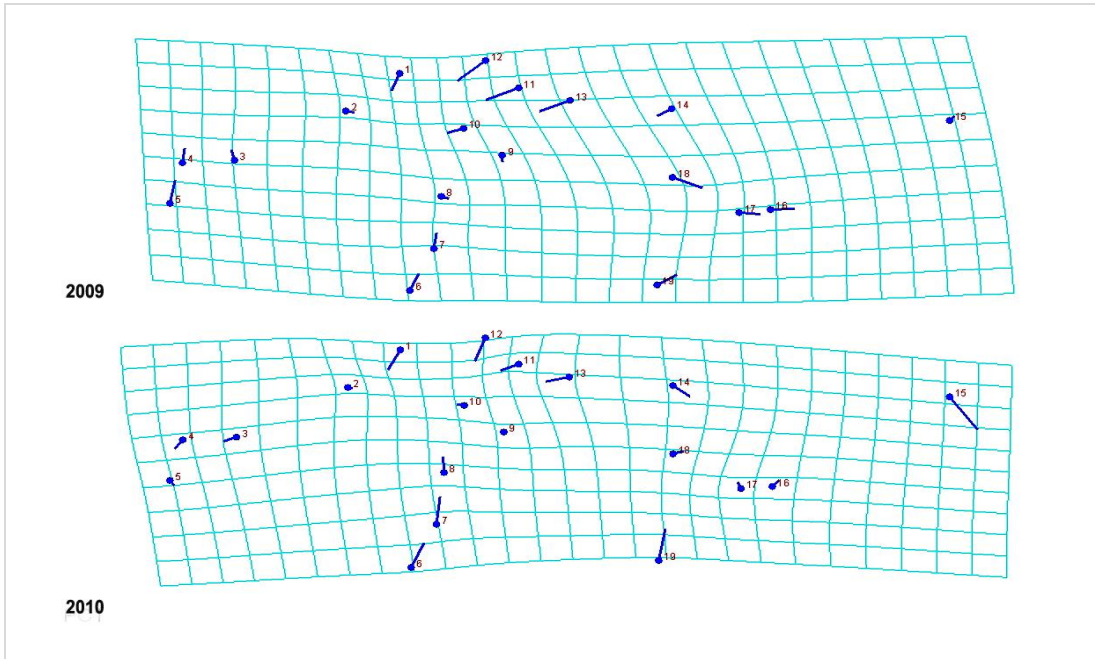




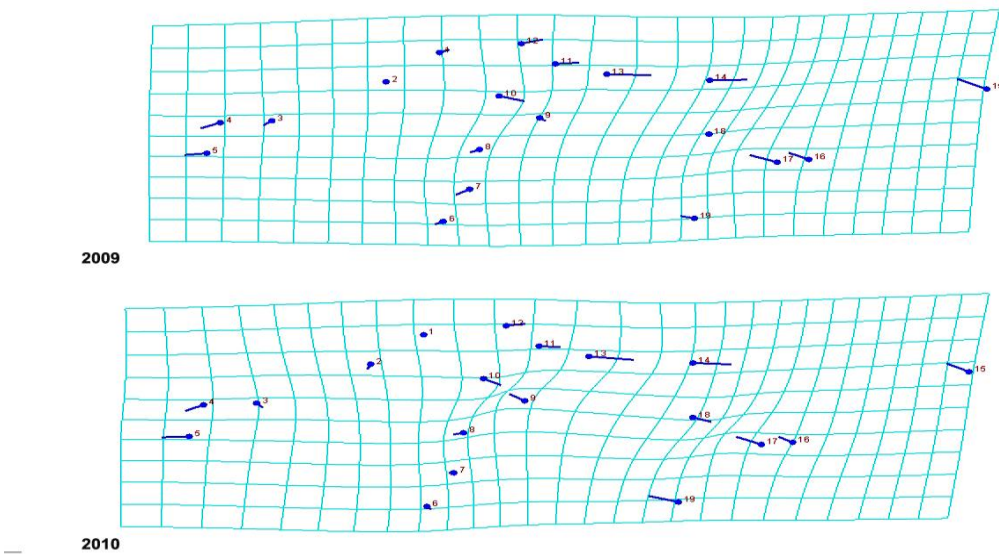
Grafikon 5-25. Raspored prema veličini krila iz uzoraka koji pripadaju Kastorija populaciji, za obe godine istraživanja



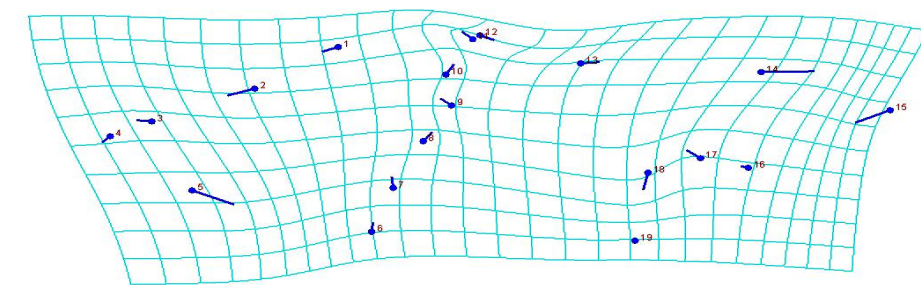
Grafikon 5-26. Raspored prema veličini krila iz uzoraka koji pripadaju Larisa populaciji, za obe godine istraživanja.



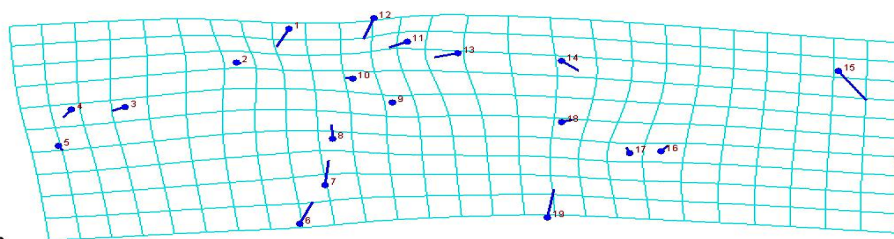
Grafikon 5-27. Dijagram promene oblika krila iz uzoraka koji pripadaju Arta populaciji, za obe godine istraživanja.



Grafikon 5-28. Mreža transformacija oblika krila iz uzoraka koji pripadaju Halkidiki populaciji, za obe godine istraživanja.

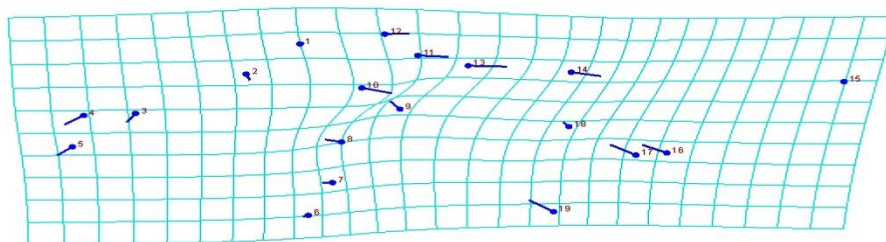


2009

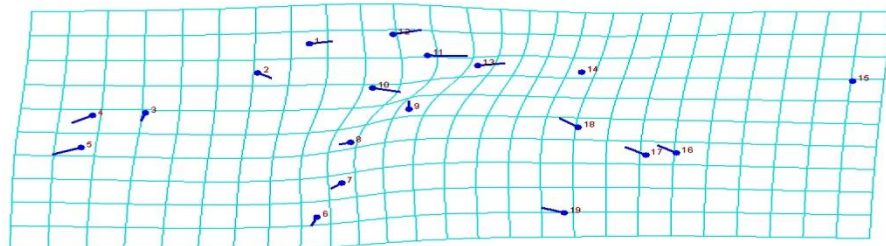


2010

Grafikon 5-29. Mreža transformacija oblika krila iz uzoraka koji pripadaju Kastorija populaciji, za obe godine istraživanja.



2009

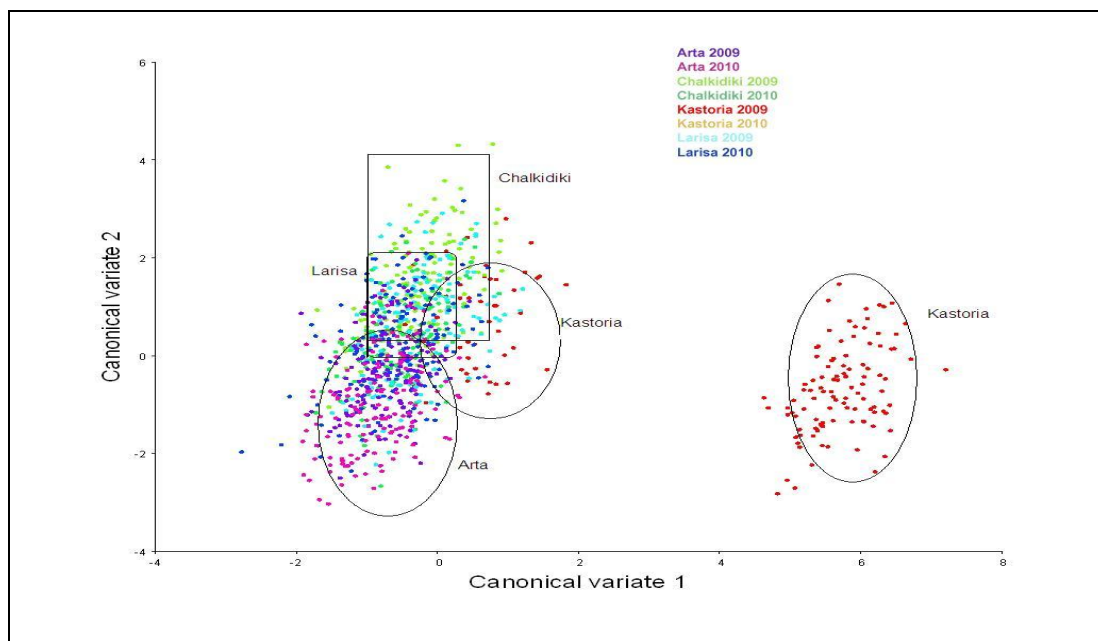


2010

Grafikon 5-30. Mreža transformacija oblika krila iz uzoraka koji pripadaju Larisa populaciji, za obe godine istraživanja.

Kako bi se izvršilo poređenje populacija iz ove četiri oblasti, rezultati Kanonične analize varijanse prikazani su zajedno, kao što se vidi na grafikonu 5-31. Uzorci uzeti od Arta populacije (za obe godine), Halkidiki (za obe godine) i Kastorija (za 2010.

godinu) formiraju tri odvojene grupe sa ponekim sličnostima (preklapanje). Osim toga, ispitivana populacija Larisa spada negde između ovih grupa a uglavnom u okviru oblasti Halkidikija, stoga je nemoguće razlikovati ih, dok potpopulacija Kastorije za 2009. godinu, formira potpuno odvojenu grupu, udaljenu od ostalih grupa.



Grafikon 5-31. Kanonična analiza varijanse veličine krila/oblika za sve testirane populacije

#### 5.4 Klasična morfometrija

Sa ciljem jasnijeg morfološkog razlikovanja pčela iz izučavanih populacija, primenjena je kanonijska diskriminaciona analiza. Rezultati ove analize prikazani su u Tabelama 5-29. do 5-36. i na Grafikonima 5-32 do 5-39. Analize su vršene odvojeno za obe godine istraživanja.

Pre sprovođenja kanonijske diskriminacione analize, urađena je multivarijantna analiza da bi se proverilo da li postoje razlike između analiziranih grupa i da bi se potvrdila opravdanost daljih analiza. Rezultati MANOVA analize su:

- za 2009. godinu: Wilks'  $\Lambda$ : 0,853,  $F(30,1723) = 3,199$ ,  $p < 0,001$ .

- za 2010. godinu: Wilks'  $\Lambda$ : 0,531,  $F(30,1723) = 13,824$ ,  $p < 0,001$ .

Iz iznetih rezultata jasno je da je opravdano uraditi i dalje analize, jer su otkrivene veoma značajne razlike među istraživanim grupama ispitivanih linija pčela, na osnovu morfoloških karaktera.

Vrednosti Mahalanobisovih distanci nisu visoke, naročito u analizama prema godini istraživanja, dok su nešto veće u zbirnim analizama i analizama po linijama pčela. Uspešnost klasifikacije je relativno niska u obe godine istraživanja: 2009 (38,83%) i 2010 (54,33%). Karakteri koji najviše doprinose ovakvoj klasifikaciji su na kanonijskim osama (CV 1, 2 i 3) sa vrednostima većim od  $\pm 0,3$ .

Prilično uspešnoj diskriminaciji populacije pčela iz Arte i populacije iz Kastorije u 2009. godini (CV1, 56,1% varijabilnosti) najviše doprinose sledeći karakteri: dužina prednjeg krila, a/b, dužina bazitarzusa, dužina tibie i širina zadnjeg krila (Tabela 5-29). Diskriminacija linija na drugoj kanonijskoj osi (CV2, 27,2% varijabilnosti) je prilično slaba, a uočljivo je razdvajanje populacije pčela iz Larise od ostalih ispitivanih populacija pčela (Grafikoni 5-32, 5-33 i 5-34). Ovakvom odvajanju doprinose sledeći karakteri: širina zadnjeg krila, dužina bazitarzusa, dužina tibije. Treća kanonijska osa (CV 3) opisuje svega oko 16,7% varijabilnosti, i nije uzeta u dalje razmatranje.

Tabela 5-29. Kanonijska diskriminaciona analiza varijabilnosti pčela u 2009. godini (\*<0,05,\*\*<0,01 i \*\*\*<0,001 )

N=600	Wilks'Λ	Partial Λ	F-remove (3,585)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
<u>PREDNJE KRILO</u>						
dužina(mm)**	0,870	0,980	3,973	0,008	0,740	0,260
širina(mm)	0,858	0,994	1,126	0,337	0,727	0,276
a/b**	0,873	0,976	4,717	0,003	0,978	0,022
<u>JEZIK</u>						
dužina (mm)	0,857	0,995	1,039	0,375	0,983	0,017
<u>BAZITARSUS</u>						
dužina (mm)***	0,883	0,966	6,794	0,000	0,860	0,140
širina (mm)	0,861	0,990	1,792	0,147	0,889	0,111
<u>TIBIA</u>						
dužina (mm)** *	0,879	0,971	5,881	0,001	0,824	0,176
<u>FEMUR</u>						
dužina (mm)	0,858	0,993	1,276	0,281	0,962	0,038
<u>ZADNJE KRILO</u>						
dužina (mm)	0,863	0,988	2,389	0,068	0,897	0,103
širina (mm)***	0,875	0,974	5,139	0,001	0,871	0,128

Tabela 5-30. Klasifikaciona Matrica u 2009. godini: Redovi: Posmatrana klasifikacija, Kolone: Očekivana klasifikacija

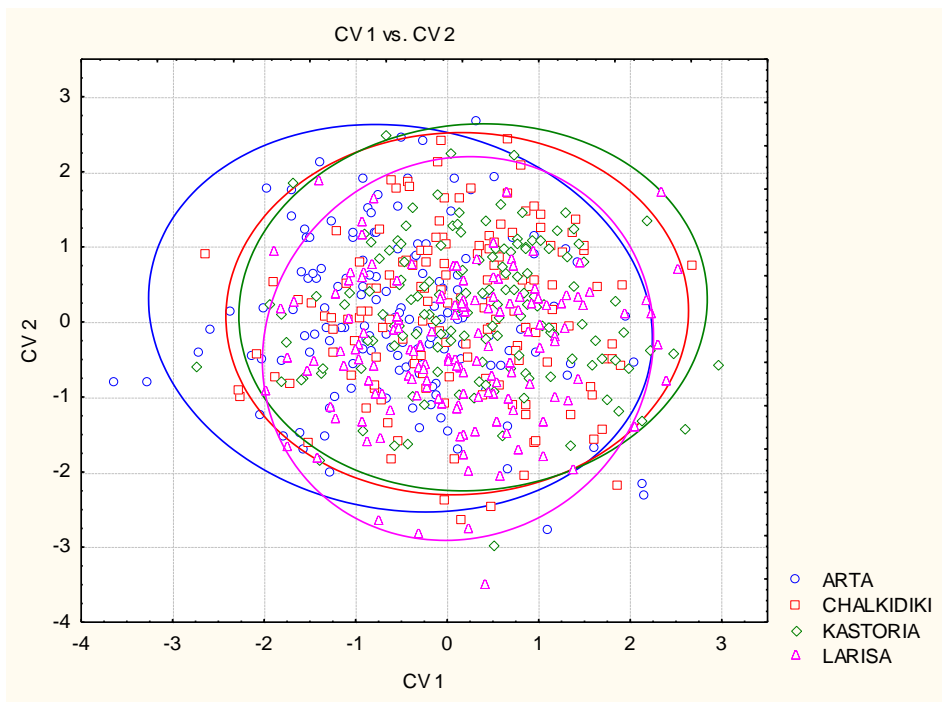
	Procenat korektnosti	Arta p=.25000	Halkidiki p=.25000	Kastoria p=.25000	Larisa p=.25000
Arta	50,00	75	18	26	31
Halkidiki	30,00	36	45	37	32
Kastoria	37,33	40	30	56	24
Larisa	38,00	37	23	33	57
Ukupno	38,83	188	116	152	144

Tabela 5-31. Standardizovani koeficijenti za kanonijske promenljive (CV) u 2009. godini.

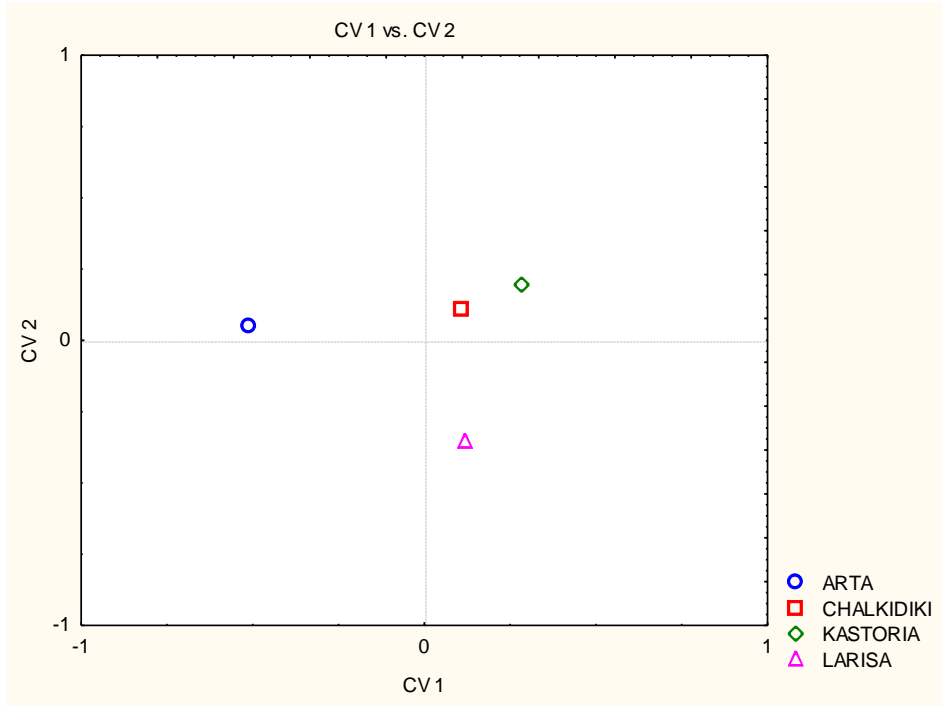
Parametar	CV 1	CV 2	CV 3
<u>PREDNJE KRILO</u>			
dužina(mm)	0,255	0,590	-0,492
širina(mm)	-0,279	-0,172	-0,017
a/b	-0,076	-0,632	-0,492
<u>JEZIK</u>			
dužina (mm)	0,224	0,154	0,072
<u>BAZITARSUS</u>			
dužina (mm)	-0,626	0,163	0,425
širina (mm)	-0,331	-0,123	0,107
<u>TIBIA</u>			
dužina (mm)	0,625	-0,009	-0,305
<u>FEMUR</u>			
dužina (mm)	-0,048	-0,366	0,174
<u>ZADNJE KRILO</u>			
dužina (mm)	-0,222	-0,465	0,020
širina (mm)	-0,452	0,353	-0,504
Eigen vrednost	0,092	0,045	0,028
Kum. proporcija	0,561	0,833	1,000

Tabela 5-32. Kvadrirane Mahalanobisove distance (kanonijska analiza u 2009. godini).

	Arta	Halkidiki	Kastoria	Larisa
Arta	0,000	1,381	2,579	1,826
Halkidiki	1,381	0,000	1,359	0,460
Kastoria	2,579	1,359	0,000	2,108
Larisa	1,826	0,460	2,108	0,000

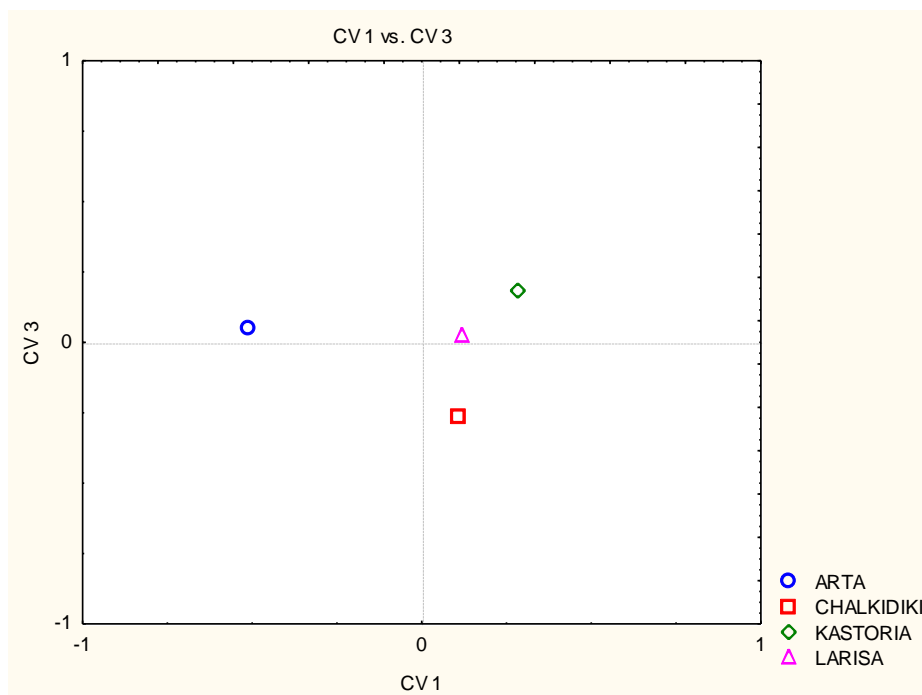


Grafikon 5-32. Raspored jedinki pčela između kanonijskih osa (CV1 i CV2) na nivou celokupnog uzorka u 2009. godini.



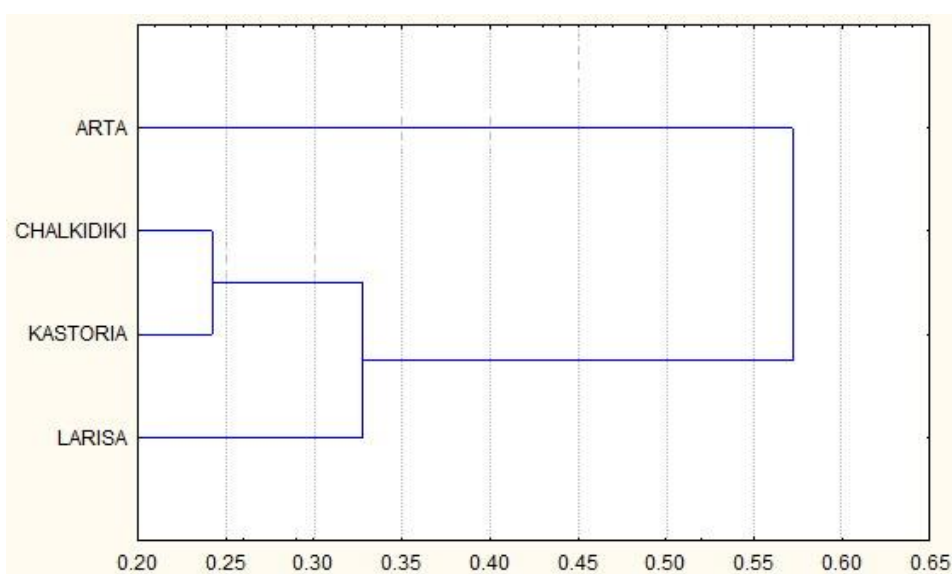
Grafikon 5-33. Raspored centrida linija pčela između kanonijskih osa (CV1 i CV2) na nivou celokupnog uzorka u 2009. godini.





Grafikon 5-34. Raspored centroida linija pčela između kanonijskih osa (CV1 i CV3) na nivou celokupnog uzorka u 2009. godini.

Na osnovu kvadriranih Mahalanobisovih distanci, klaster analizom konstruisan je UPGMA dendrogram (Grafikon 5-35), na kome se jasnije uočavaju sličnosti i razlike između istraživanih populacija pčela. Populacija pčela iz Arte se izdvaja u posebnu granu u odnosu na ostale tri populacije pčela. Takođe, među ostalim populacijama, postoji velika morfološka sličnost između populacija iz Halkidikija i Kastorije koje su jasno razdvojene od populacije iz Larise.



Grafikon 5-35. Odnosi ispitivanih linija pčela na UPGMA dendrogramu u 2009. godini.

Međusobno delimičnoj diskriminaciji linija pčela Kastorija i Larisa sa jedne strane i Arta i Halkidiki sa druge strane u 2010. godini na prvoj kanonijskoj osi (CV1, 65,5% varijabilnosti) najviše doprinose sledeći karakteri: dužina i širina prednjeg krila, dužina bazitarsusa i dužina femura (Tabela 5-33). Diskriminacija linija Kastoria i Chalkidiki sa jedne strane i Arta i Larisa sa druge strane na drugoj kanonijskoj osi (CV2, 24,5% varijabilnosti) je prilično slaba, tako da nije uočljivo jasno razdvajanje ovih linija pčela. Karakteri koji doprinose tom slabom razdvajanju su: dužina prednjeg i zadnjeg krila i širina bazitarsusa. Treća kanonijska osa (CV3) opisuje oko 10% varijabilnosti, i na njoj se posebno ne izdvajaju karakteri koji doprinose razdvajanju grupa.

Tabela 5-33. Kanonijska diskriminaciona analiza varijabilnosti pčela u 2010. godini (\*<0,05, \*\*<0,01 i \*\*\*<0,001 )

N=600	Wilks'Λ	Partial Λ	F-remove (3,585)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
<u>PREDNJE KRILO</u>						
dužina(mm) ***	0,567	0,937	13,125	0,000	0,354	0,654
širina(mm) ***	0,551	0,963	7,434	0,000	0,549	0,451
a/b	0,540	0,982	3,340	0,017	0,974	0,025
<u>JEZIK</u>						
dužina (mm) ***	0,549	0,966	6,793	0,000	0,954	0,046
<u>BAZITARSUS</u>						
dužina (mm) ***	0,567	0,935	13,587	0,000	0,643	0,356
širina (mm) ***	0,559	0,951	10,132	0,000	0,826	0,173
<u>TIBIA</u>						
dužina (mm)*	0,544	0,976	4,797	0,003	0,637	0,363
<u>FEMUR</u>						
dužina (mm)***	0,621	0,855	33,059	0,000	0,615	0,385
<u>ZADNJE KRILO</u>						
dužina (mm) ***	0,554	0,959	8,309	0,000	0,463	0,537
širina (mm)***	0,547	0,972	5,705	0,000	0,680	0,320

Tabela 5-34. Klasifikaciona Matrica u 2010. godini: Redovi: Posmatrana klasifikacija, Kolone: Očekivana klasifikacija

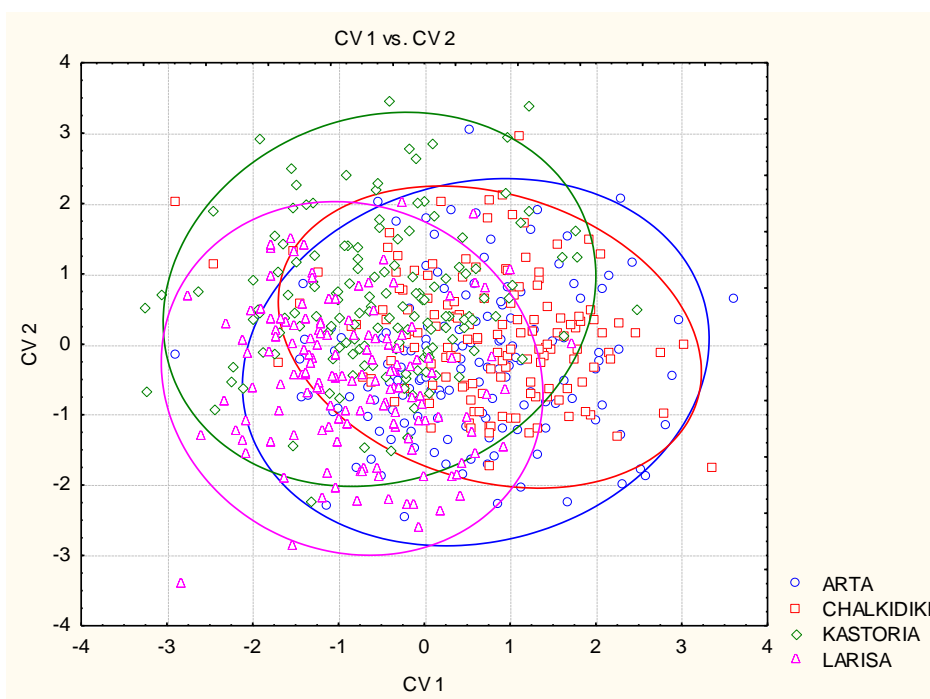
	Procenat korektnosti	Arta p=.25000	Halkidiki p=.25000	Kastoria p=.25000	Larisa p=.25000
Arta	49,33	74	35	15	26
Halkidiki	56,66	32	85	23	10
Kastoria	50,67	23	19	76	32
Larisa	60,67	21	9	29	91
Ukupno	54,33	150	148	143	159

Tabela 5-35. Standardizovani koeficijenti za kanonijske promenljive (CV) u 2010. godini.

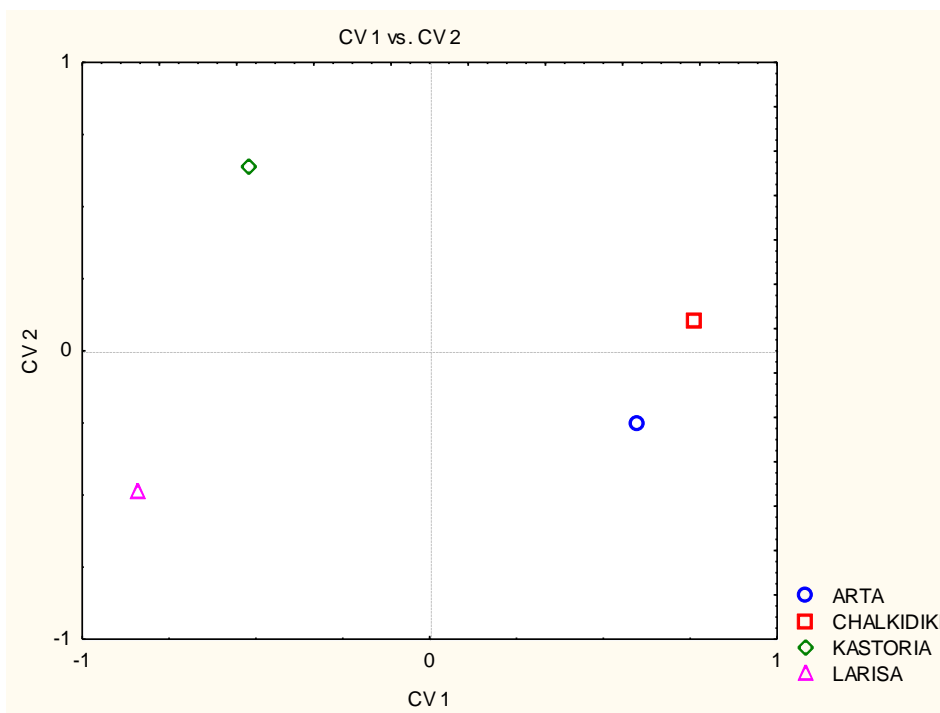
Parametar	CV 1	CV 2	CV 3
<u>PREDNJE KRILO</u>			
dužina(mm)	0,027	1,073	0,099
širina(mm)	-0,076	-0,643	-0,144
a/b	0,163	-0,010	0,357
<u>JEZIK</u>			
dužina (mm)	-0,253	0,175	-0,426
<u>BAZITARSUS</u>			
dužina (mm)	-0,500	-0,339	-0,154
širina (mm)	-0,132	0,587	-0,131
<u>TIBIA</u>			
dužina (mm)	0,332	0,050	0,128
<u>FEMUR</u>			
dužina (mm)	0,840	0,167	-0,101
<u>ZADNJE KRILO</u>			
dužina (mm)	-0,247	-0,434	0,754
širina (mm)	-0,319	0,174	0,236
Eigen vrednost	0,485	0,181	0,074
Kum. proporcija	0,655	0,900	1,000

Tabela 5-36. Kvadrirane Mahalanobisove distance (kanonijska analiza u 2010. godini).

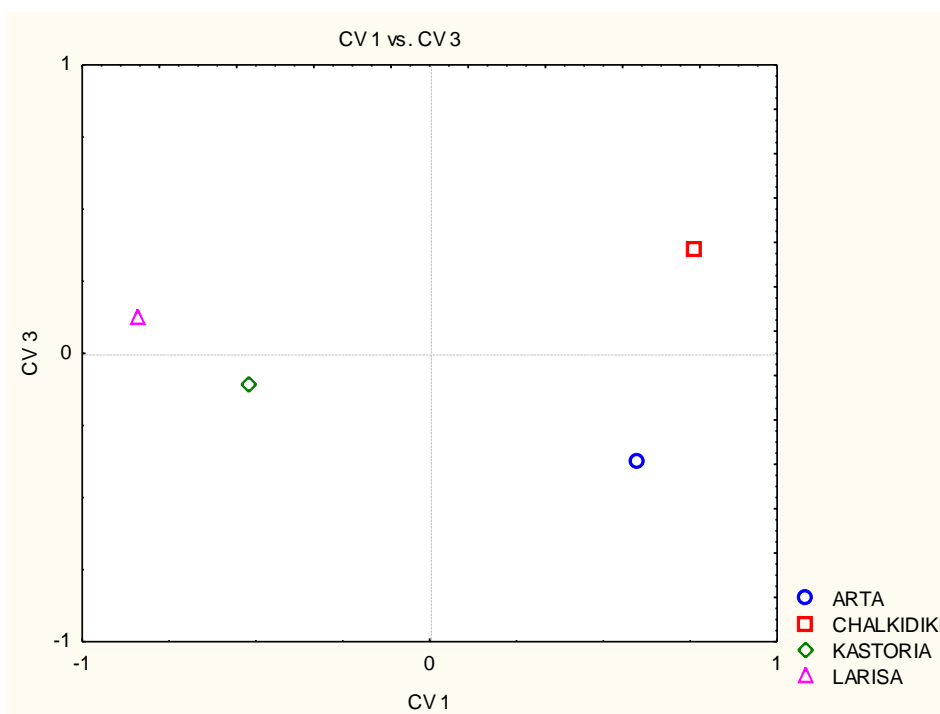
	Arta	Halkidiki	Kastoria	Larisa
Arta	0,000	0,688	2,127	2,381
Halkidiki	0,688	0,000	2,160	2,976
Kastoria	2,127	2,160	0,000	1,420
Larisa	2,381	2,976	1,420	0,000



Grafikon 5-36. Raspored jedinki pčela između kanonijskih osa (CV1 i CV2) na nivou celokupnog uzorka u 2010. godini.

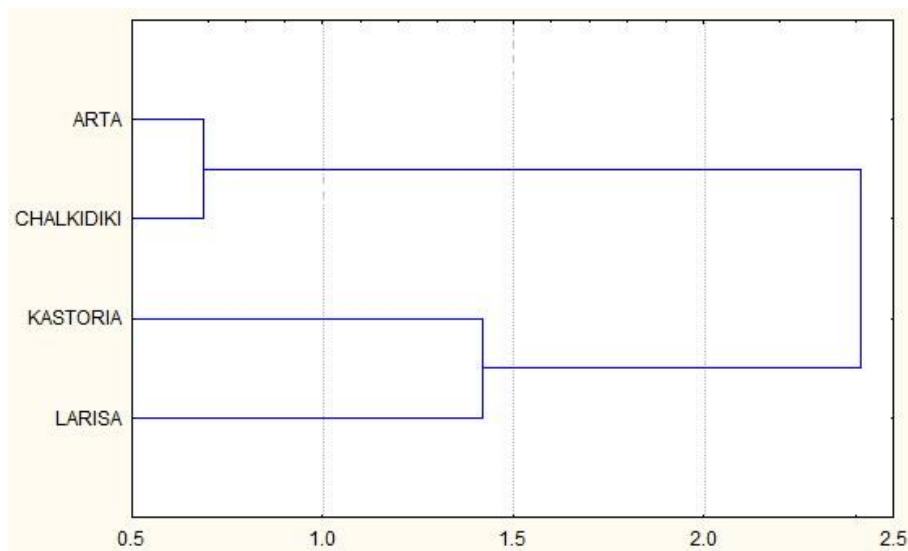


Grafikon 5-37. Raspored centroida linija pčela između kanonijskih osa (CV1 i CV2) na nivou celokupnog uzorka u 2010. godini



Grafikon 5-38. Raspored centroida linija pčela između kanonijskih osa (CV1 i CV3) na nivou celokupnog uzorka u 2010. godini.

Na osnovu kvadriranih Mahalanobisovih distanci, klaster analizom konstruisan je UPGMA dendrogram, na kome se jasnije uočavaju sličnosti i razlike između istraživanih geografskih grupa pčela. Populacije pčela iz Arte i Halkidikija se jasno razdvajaju od populacija pčela iz Kastorije i Larise. (Grafikon 5-39).



Grafikon 5-39. Odnosi ispitivanih linija pčela na UPGMA dendrogramu u 2010. godini.

Rezultati ove diskriminacije pokazuju da su klasični (izmereni na telu, telesni) morfometrijski karakteri manje važni za uspešnu diskriminaciju selekcionisanih linija, u obe godine istraživanja. Samo neki od telesnih karaktera uspešno odvajaju ispitivane linije pčela.

## 6 DISKUSIJA

Halkidiki je po broju profesionalnih pčelara i po broju pčelinjih društava jedna od „najbogatijih“ oblasti u Grčkoj. Geografska raspodela bogate flore pomaže, takođe, da se pčelarstvo odvija u toku najvećeg dela godine, pri čemu je fokus na proizvodnji borovog meda, u jesen.

Popis medonosnog bilja na području Halkidikija, gde je obavljen ogled, otkrio je jedan bogat spektar biljaka sa kojih su pčele skupljale polen. Popisane biljke pripadaju velikom broju porodica i ukazuju na to da postoji obilje polena u toku cele godine. Karakteristična je činjenica da je populacija pčela sa Halkidikija uvek prikupljala najveće količine polena u toku trajanja istraživanja. Ovaj podatak ukazuje na sposobnost prilagođavanja ove populacije lokalnim uslovima (*Louveaux et al., 1966*).

Za četiri različite populacije medonosnih pčela, koje su proučavane, prethodno je obavljena provera kvaliteta matica na osnovu tri glavne osobine, broja ovariola, prečnika spermateke i kvaliteta legla koje su proizvodile. Kvalitet matica nesumnjivo utiče i na efikasnost i ponašanje svakog posmatranog pčelinjeg društva. Reprodukcijska i oplodnja matice predstavljaju glavne faze njenog životnog ciklusa i određuju kasniji razvoj pčelinjeg društva. Osobine kao što su produktivnost, prolećni razvoj, rojivost i otpornost na određene bolesti, u velikoj meri zavise od rase i kvaliteta matice, a u određenoj meri i od faktora spoljašnje sredine. Matice visokog kvaliteta imaju veliki broj ovariola i veliki prečnik spermateke, pa stoga proizvode i veliki broj jaja i u konačnoj proceni su veoma produktivne pri medobranju i pri proizvodnji ostalih pčelinjih proizvoda. Veliki broj ovariola omogućava povećanu proizvodnju jaja, a veliki prečnik spermateke dozvoljava skladištenje veće zapremine sperme.

Mnogi istraživači su u prošlosti dokazali da postoji veza između broja ovariola i prečnika spermateke (*Weaver, 1957; Woyke, 1971*), između broja ovariola i produkcije legla (*Avetisyan, 1961*), između težine matice i produkcije legla (*Makarov, 1969; Akyol, 2008*). Naravno, produkcija legla i broj pčela se kasnije odražava na sakupljanje nektara i polena.

Reproduktivna sposobnost i popunjenost spermateke matice zavise od raspoloživosti i reproduktivne sposobnosti trutova. Na kvalitet matice utiču, naravno, i faktori kao što su ishrana, uslovi odgajanja matice i rasa (*Gencer, 2003; Guler & Alpay 2005; Akyol et al. 2006; Al-Ghzawi & Zaitoun, 2008*).

U ovom radu, nisu pronađene značajne razlike među ispitivanim maticama ni u jednoj proučavanoj osobini kvaliteta. Ova činjenica dozvoljava da zaključimo kako svaka razlika u razvoju košnica ne proizilazi iz anatomskih karakteristika ispitivanih matice, već verovatno iz sposobnosti prilagođavanja lokalnim uslovima. Konkretno, slika kvaliteta legla svih matice je bila veoma dobra i karakteristična za mlade matice (Prilog 3). Iako razlike među ispitivanim populacijama pčela nisu bile značajne, prepoznaje se tendencija da se kod ispitivanih matice iz Larise javljaju veći broj ovariola i veći prečnik spermateke nego kod ispitivanih matice iz ostalih populacija (Tabela 5-1, Tabela 5-2). Moguće je da ova anatomska karakteristika izdvaja ovu populaciju od ostalih, kao što je to slučaj kod italijanske pčele i karnike (*Rhodes & Somerville, 2003*), ali broj uzoraka ne dozvoljava izvođenje ovakvog zaključka. Takođe, sem u malobrojnim slučajevima, sve matice su imale broj ovariola veći od 130 i veliki prečnik spermateke (>1,2 mm). Zato se može reći da su na osnovu zadatih graničnih vrednosti ispitivane matice bile „dobre“ i da u celini ispoljavaju anatomske karakteristike matice koje se proizvode u komercijalne i nekomercijalne svrhe u Grčkoj. Dakle sve matice iz ispitivanih populacija pčela se uklapaju u vrednostima koje su nađene u istraživanju Akreditovane Laboratorije Instituta za pčelarstvo (*Hatjina et al., 2014*). Naime, „dobre“ matice bi trebale da budu i veoma produktivne po pitanju broja pčela u pčelinjem društvu, ali i u pogledu količine meda i drugih pčelinjih proizvoda. Ovakva istraživanja se obavljaju po prvi put za ispitivane populacije jer ne postoje ranija istraživanja osobina produktivnosti matice iz ispitivanih geografskih područja.

Ispitujući vremenske uslove koji su vladali u periodu prolećnog razvoja pčelinjih društava, očigledno je da se druga godina odlikuje većom vlažnošću, nižim temperaturama i kašnjenjem u prolećnom razvoju kod svih ispitivanih pčelinjih društava (Grafikon 4-1 i 4-2). Ovo se jasno vidi prema broju odraslih pčela, kao i prema broju ćelija sa leglom (Grafikoni 5-3 i 5-5; Tabele 5-6 i 5-9) koji su bili manji u toku druge godine posmatranja (proleće 2010). Kasni prolećni razvoj se, takođe, vidi i iz podatka



da je najeksplozivniji razvoj pčelinjih društava primećen u aprilu, u proleće 2009., dok je najbrži razvoj pčelinjih društava u 2010. bio u maju mesecu (Grafikoni 5-3 i 5-5; Tabele 5-6 i 5-9). Još jedan značajan faktor za različiti razvoj pčelinjih društava u proleće 2009. i 2010. je bila i starost matica. Matice su bile godinu dana starije i njihova produktivnost je prirodno bila malo smanjena. Veliki broj istraživanja su pokazala da su pčelinja društva sa mladim maticama (od godinu ili dve dana) do 30% produktivnija od onih sa starijim maticama (Woyke, 1984; Genç, 1992; Kostarelou-Damianidou, 1995; Akyol et al., 2008).

Uočava se takođe da je populacija pčela sa Halkidikija imala najveći broj pčela i ćelija sa leglom, dok su populacije pčela iz Arte i Larise imale najmanji broj ćelija sa leglom i najmanje pčela (Tabele 5-6 i 5-9). Veličina pčelinjeg društva je genetska uslovljena osobina, kao i osobina prilagođavanja uslovima spoljne sredine ili uslovima ishrane (Hatjina et al. 2014; Buchler et al., 2014). Sva istraživanja su obavljena u aprilu i maju, pa tako ne znamo da li su se pčelinja društva ponašala na isti način i u junu i julu. Istražujući odnos broja odraslih pčela u proleće i u jesen (Grafikon 5-4) uočava se da su populacije iz Halkidikija i Kastorije, međusobno sličnije nego druge dve ispitivane populacije pčela. Ovo dokazuje bolju sposobnost prilagođavanja zimskim uslovima kod pčela Halkidikija, što se i očekivalo jer su ove pčeli ispitivane na svom području rasprostranjenja. Pčele iz Arte i Larise su se razlikovale po pitanju prezimljavanja od pčela sa Halkidikija jer su došle iz različitih uslova spoljne sredine koji se umnogome razlikuju od spoljašnjih uslova Halkidikija gde je istraživanje inače obavljeno. Pojava različitog prilagođavanja različitih genotipa različitim uslovima spoljašne sredine se naziva genotipska i ekološka interakcija i dosta je proučavana poslednjih godina (Falconer and Mackay, 1996). Razvoj pčelinjih društava koji pripadaju različitim genotipovima se umnogome razlikuje kad se ispituje u različitim mikroklimatskim uslovima (Hatjina et al, 2014).

Spoljašni faktori i uslovi sredine su takođe uticali i na razlike u sakupljanju meda i sakupljanju polena. Pčelinja društva iz Arte, nisu prikupljala velike količine nektara i polena u odnosu na ostale ispitivane populacije pčela (Tabele 5-11 i 5-13; Prilozi 6 i 7). Na sakupljanje meda i polena direktno utiču i veličina pčelinjeg društva i broj ćelija sa leglom. Kod većih populacija pčela veća je i potreba za hranom, a samim tim i veće je

sakupljanje nektara. Kombinacija ova dva faktora (veličina pčelinjeg društva i kratak razvojni period) direktno utiče na produktivnost jednog pčelinjeg društva. To je i razlog zašto ispitivane populacije pčela nemaju maksimalnu produktivnost u svim ekološkim stanjima i periodima godine. Raspoloživost izvora hrane (npr. polen), temperature iznad 0° C i vlažnost, su verovatno neki od najznačajnijih faktora spoljne sredine koji utiču na dinamiku uvećavanja pčelinje populacije u toku godine. Takođe, genotip koji se smatra superiornim u jednom području nije superioran u nekoj drugoj sredini (*Burdon, 1977*).

Karakteristično prilagođavanje jedne populacije pčela vegetaciji i razvoju flore određenog područja karakteriše je kao ekotip. Takav primer ekotipa pčela predstavlja populacija pčela *Apis mellifera* u oblasti Landes u Francuskoj (*Strange et al., 2007*).

U ovom istraživanju proizvodnja meda je bila intenzivnija u jesenjim mesecima, što je karakteristično za oblast Halkidikija (Grafikon 5-7; Prilog 7). Područje Halkidikija nema posebno veliki razvoj u proleće, ali raspolaže velikim površinama pod borovom šumom, a najveća proizvodnja borovog meda je u jesen i to u oktobru. Ovo je uticalo na sve četiri ispitivane populacije pčela bez obzira na njihovo geografsko poreklo. Naravno, jedan od faktora koji utiču na sklonost pčela ka sakupljanju nektara je i genetska predispozicija pčela (*Gene & Page, 1989; Page & Fondrk, 1995*). Ovaj fenomen se jasno primećuje na Grafikonu 5-9. Na njemu se uočava da je u periodu od tri dana, dok je merena produktivnost, populacija pčela sa Halkidikija intenzivno sakupljala med. Ostale populacije pčela su imale nešto slabiji unos nektara. Dakle, prilagodljivost ove populacije je karakteristična i liči na prilagodljivost ekotipa koji opisuju *Strange et al. (2007)*. Sve četiri ispitivane populacije pčela pokazivale su isti model razvoja sa oscilacijama u dinamici razvoja i produktivnosti (Prilog 9). Naravno, postoje dosta razlika u rasponu oscilacija među ispitivanim populacijama, ali to je i očekivano pošto se ove populacije pčela nisu dobijene iz istog genetskog materijala niti pod istim uslovima. Zato ih njihov genetski sastav, ali i njihova prilagodljivost, dovode do sličnih rezultata. Odstupanja od opšteg trenda razvoja su mala, pri čemu su naglašenija odstupanja populacije pčela iz Arte.

Rojivost je karakteristika koja je pod genetskom kontrolom i razlikuje se od rase do rase. Međutim, uslovi uzgoja, reprodukcije i pčelarske prakse igraju veliku ulogu u

manjoj ili većoj izraženosti ove osobine (*Uzunov et al., 2014*). Dakle, bilo je očekivano da će postojati velika razlika u sklonosti ka rojenju među ispitivanim populacijama pčela, ali i među godinama, imajući u vidu različit razvoj pčelinjih društava u toku dve godine. Karakteristična pojava je kod populacije iz Larise koja potiče sa pčelinjaka gde uzgoj matice nije obavljan sistematski kao kod ostalih i to je rezultiralo povećanom sklonošću ka rojenju (Grafikon 5-10).

Higijensko ponašanje pčelinjih društava je karakteristika ponašanja pčelinjih društava, koja može međusobno da razdvoji ispitivane populacije, a u skladu sa mišljenjem koje prevladava u međunarodnim naučnim krugovima (*Spivak and Downey 1998; Spivak & Reuter, 1998; Harbo & Harris, 2005; Harris, 2007*). U našem istraživanju pojavile su se razlike između ispitivanih populacija, pri čemu populacija iz Arte pokazuje najmanju sposobnost prepoznavanja mrtvog legla (Tabela 5-19, Tabela 5-21). Najbolje rezultate pokazala je populacija pčela iz Larise, kod koje je sposobnost prepoznavanja uginulih larvi 26 %, koliko je bilo pri merenju nakon 24 časa, odnosno 32 % pri merenju za 48 časova. Nijedna od ispitivanih populacija nije imala izraženo higijensko ponašanje u toku prva 24 časa. Ovaj period je i najvažniji jer se u naučnoj literaturi navodi da su „najhigijenskiji“ pčelinjaci oni kod kojih je higijensko ponašanje veće od 70% u toku prvih 8 časova (*Costa et al., 2012*). Primećeno higijensko ponašanje nije povezano sa procentom infekcije varoom ili nozemozom (Grafikon 5-13 i Grafikon 5-14), s obzirom na to da ove populacije ne potiču iz programa sistematskog uzgoja čiji je cilj otpornost (*Rinderer et al., 2001; Büchler et al., 2002, 2008; Fries & Bommarco, 2007; Le Conte et al., 2007; Seeley, 2007*) ili tolerancija, pre svega na varou, kao što se verovatno desilo u drugim zemljama ili populacijama (*Spivak, 1996; Harbo and Harris, 2000; Spivak and Reuter, 2001; Ibrahim and Spivak, 2006; Harris, 2007*).

U našem istraživanju obe bolesti, i varooza i nozemoza, su izraženije u prvoj godini posmatranja. Njihovo manifestovanje je bilo mnogo manje u drugoj godini ispitivanja, iako je u drugoj godini zima bila duža, a prosečna vlažnost u proleće veća. Ovo je verovatno zbog toga što je povećani razvoj ispitivanih pčelinjih društva u toku prve godine uslovio i povećanje varoe, zahvaljujući postojanju velikog broja ćelija sa leglom (*Buchler et al., 2014*). Velika naseljenost pčelinjim društvima u borovim šumama je dodatno otežala situaciju. Što se tiče zaraženosti nozemom, moguće je da su se u prvoj

godini u blizini nalazili zaraženi pčelinjaci, što se nije desilo u drugoj godini ispitivanja. Takođe, prikupljanje nektara sa pamuka ponekad stvara probleme i samim pčelama, ali i odbrambenom sistemu pčela zbog postojanja neonikotinoida što ima za rezultat širenje ove bolesti (*Prisco et al, 2013; Hatjina et al., submitted; Hatjina et al., in preparation*).

### 6.1 Analiza genoma

U ovom radu su analizirane pčele iz četiri populacija pčela koje potiču iz poprilično različitih oblasti kontinentalne Grčke (Slika 4-3). Izoenzimska analiza (*Ivanova, et al 2012*) je napravila razliku između ispitivanih populacija pčela i svrstala ih na jednoj široj grani sa pčelama Bugarske (Grafikon 5-15). Druga istraživanja su, takođe, pokazala da bugarske pčele pripadaju Makedonskoj rasi (*De la Rúa 2009; Martimianakis et al., 2011*), pošto je područje na kom se prostiru mnogo veće nego što se prvobitno verovalo (*Stevanovic et al., 2010*). Interesantna je i činjenica da se grčke populacije pčela javljaju sa velikim brojem višestrukih alela gena i velikom merom homozigotnosti, što znači da među njima postoje razlike i da je svaka populacija prilično homogena. Iz tog razloga možda mogu da se okarakterišu kao četiri različita ekotipa čije produktivne karakteristike treba da se detaljnije istraže.

Analiza mt-DNK sad već predstavlja jedan od najkorišćenijih metoda razlikovanja populacija pčela i u Grčkoj. Geni 16sr, COI i ND5 su bili najčešće korišćeni i u prošlosti (*Bouga et al., 2011; Martimianakis et al., 2011*) i mogli su da međusobno razdvoje grčke populacije. Naravno, različiti geni ili drugačiji pristup rezultatima (način analize i kalkulacije genetičkih distanci) daju malo drugačiju sliku, međutim primena Analize glavnih komponenti (Principal Component Analysis) je najnovija. Na osnovu gena 16sr, populacije pčela iz četiri ispitivana regiona su jasno razdvojene, a posebno pčele iz Larise i Arte (Grafikon 5 – 16). Pčele iz Kastorije i Halkidikija liče na različite populacije pčela, ali su na maloj međusobnoj udaljenosti, što su rezultati slični onima dobijenim nakon izoenzimske analize (*Ivanova, et al 2012*). Drugačiji pristup istom genu potvrđuje veliku udaljenost populacije pčela iz Larise (populacija Centralne Grčke) u odnosu na ostale, ali stavlja ostale ispitivane pčele na jednu granu (populacije Makedonskog regiona), kao što to karakteristično navode i drugi istraživači (*Brother Adam, 1982; Infantidis, 1979; Ruttner, 1988*). (*A. m. cecropia* iz Centralne Grčke; i *A. m. macedonica* iz oblasti Makedonije).

Primena analize glavnih komponenti na genu COI, potvrdila je veliku udaljenost populacije pčela iz Larise u odnosu na ostale, kao i veoma bliske, srodne udaljenosti između ostalih populacija (Grafikon 5-18). Međutim, pristup genetičkih distanci pokazuje različite rezultate tako što se samo jedan deo populacije pčela sa Halkidikija razlikuje, dok se svi ostali nalaze veoma blizu jedan drugom, skoro da se preklapaju (Grafikon 5-19).

Na osnovu analize urađene po analizi glavnih komponenti na genu ND5, jvalja se različito izdvajanje populacija u odnosu na dva prethodna gena: populacija pčela iz Arte se javlja kao najudaljenija od svih, populacija pčela iz Larise se, takođe, izdvaja i dominira na drugom polu, jedan deo pčela sa Halkidikija formira treći pol, dok se drugi delovi ove populacije i populacije pčela iz Kastorije međusobno prepliću (Grafikon 5-20). I opet merenje genetičkih distanci među populacijama pokazuje da su deo Halkidikija i deo Kastorije drugačiji od ostalih. Na kraju, zasnivajući se na otkrićima Gene Bank i činjenici da se lanac baza DNK populacije iz Larise razlikuje od do sada deponovanih (Grafikon 5-22), rezultat potvrđuje izdvajanje populacije iz Larise od ostalih, možda čak i kao drugačije podvrste (*A. m. cecropia*, u poređenju sa *A. m. macedonica*), kao što se karakteristično navodi i u prethodnom istraživanju (Martimianakis et al., 2011).

Analiza karakteristika geometrije krila je pokazala da postoje razlike, ali i mnoge zajedničke tačke među populacijama. Populacije pčela iz Kastorije, Halkidikija i Arte bi se mogle razlikovati na osnovu geometrijske morfometrije, ali ne i populacija pčela iz Larise, koja po ovim karakteristikama predstavlja deo populacije sa Halkidikija. Međutim, u ranijim radovima se populacija iz Larise razlikovala od ostalih (Charistos et al., 2014, accepted). Takođe, karakteristično je i formiranje oblika krila u odnosu na prosek (graf. 5-27 do 5-30). Međutim, uprkos tome deo genetskog materijala iz Kastorije pokazuje razlike između dva uzimanja uzoraka. Geometrijska morfometrija kao metod ukazuje na genetske razlike koje se nasleđuju i od trutova i od matice i na taj način, karakteristike koje se nisu ispoljile pri jednom uzimanju uzoraka, mogu se ispoljiti u sledećem, ukazujući na veliku genetičku udaljenost između trutova kojima su matice oplođene. Takođe, deformacija oblika krila u odnosu na prosek populacije potvrđuje veliko odstupanje dela ove populacije od ostalih.

Analiza karakteristika morfometrije u suštini je pokazalo da postoji delimično razdvajanje populacija, gde Arta varira više od drugih, ali metod nije potvrdio rezultate genetičkih analiza. Ne može se koristiti u budućnosti kao metoda diskriminacije grčkih populacija, kao što je to pokazano u jednom ranijem istraživanju. (*Bouga et al., 2004*)

Na osnovu morfoloških i genetskih razlika nađenih među populacijama i korelacija i genetskih distanci među njima, može se reći da ove populacije pčela predstavljaju dve šire grupe, populaciju iz Larise (verovatno potomak *A. m. cecropia*) i populaciju makedonske pčele koja se javlja u tri različita ekotipa (Kastorija, Arta i Halkidiki – ekotipovi *A. m. macedonica*). Obe šire grupe odgovaraju početnom razgraničavanju zbog geografskog porekla. Populacija iz Larise kao *Cekropia* pčela ili pčela centralne i južne Grčke i makedonska pčela kao pčela severne Grčke.

Takođe, očigledno je da se neke od produktivnih karakteristika razlikuju kod ova četiri ekotipa i verovatno ih karakterišu, iako su istraživanja i pregledi obavljani na jednom području, u oblasti Halkidikija. Ovo istraživanje je pokazalo da je važno ispitati karakteristike različitih ekotipova i to, naravno, mnogo detaljnije. Merenja treba da se obavljaju na svakih 21 dana ili maksimalno jednom mesečno u produktivnom periodu, posmatranje da se obavi u dve ili čak i tri različite oblasti, a anatomske karakteristike bi trebalo da se prouče na većem broju uzoraka. Na taj način ćemo dobiti potpuniju sliku svojstava i specifičnosti različitih populacija koje postoje u Grčkoj, a koja će pomoći i uzgajivačima matica, ali pre svega pčelarima.

Povrh toga, samo detaljno ispitivanje specifičnih karakteristika će moći da nam pruži neophodno znanje koje nam omogućuje da održimo ove populacije i da ih efikasno umnožavamo. Treba imati u vidu i to da su lokalne populacije pčela te koje mogu uspešno da prezime i da proizvedu više pčelinjih proizvoda, ali i da budu otpornije na pčelinje bolesti (*Buchler et al, 2014; Hatjina et al, 2014*).

## 7 ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata koji su dobijeni ispitivanjem proizvodnih, genetskih i morfometrijskih karakteristika ispitivanih populacija medonosne pčele iz Grčke, mogu se izvesti sledeći zaključci:

- ❖ Nisu pronađene statistički značajne razlike među ispitivanim maticama ni u jednoj proučavanoj osobini kvaliteta, što je činjenica koja dozvoljava da zaključimo kako svaka razlika u razvoju društva medonosne pčele ne proizilazi iz anatomskih karakteristika matice, već verovatno iz sposobnosti prilagođavanja lokalnim uslovima.
- ❖ Mada statistički, razlike među populacijama nisu bile značajne, prepoznaje se tendencija da se kod populacije pčela iz Larise javljaju veći broj ovariola i prečnik spermateke nego kod ostalih.
- ❖ Karakteristična je činjenica da je populacija sa Halkidikija sakupljala najveće količine polena. Ovaj podatak nam ukazuje na najbolju prilagodljivost ove populacije pčela lokalnim uslovima.
- ❖ Populacija pčela sa Halkidikija je sa najvećim brojem ćelija legla i najvećim brojem odraslih pčela. Pčele iz Kastorije su po broju pčela i ćelija sa leglom odmah iza populacije pčela iz Halkidikija, dok su pčele iz Arte i Larise imale najmanji broj ćelija sa leglom i najmanje pčela.
- ❖ Pčele Halkidikija i pčele Kastorije su međusobno sličnije nego pčele sa ostala dva loklita. One pokazuju bolju sposobnost prezimljavanju na Halkidikiju, na mestu svog porekla.
- ❖ Pčelinja društva iz Arte, iz razloga koji ne može biti objašnjen na osnovu postojećih podataka, nisu sakupljala velike količine polena i meda u odnosu na pčele iz ostalih ispitivanih oblasti.
- ❖ Produktivnost izražena sakupljanjem meda je bila intenzivnija u jesenjim mesecima, što je povezano sa medonosnim biljkama na području Halkidikija.

Ovo se odnosilo na sve četiri ispitivane populacije pčela nezavisno od njihovog geografskog porekla.

- ❖ Populacija pčela sa Halkidikija je imala najveću produktivnost u medu dok su sve ostale ispitivane populacije pčela bile sa slabijom produktivnošću. Stepen prilagodljivost ove populacije je veoma karakterističan i izdvaja ovu grupaciju pčela kao poseban ekotip.
- ❖ Generalno, sve četiri ispitivane populacije pčela pokazuju i prate isti model razvoja (oscilacije u dinamici razvoja i produktivnosti).
- ❖ U osobini rojivosti se očekivala velika razlika između ispitivanih populacija i između godina ispitivanja, imajući u vidu različit razvoj pčelinjih društava u toku obe godine ispitivanja. Ovde je karakteristična pojava velike rojivosti kod populacija pčela iz Larise koja potiče sa pčelinjaka gde uzgoj matice nije obavljan sistematski kao kod ostalih ispitivanih populacija pčela.
- ❖ Kod higijenskog ponašanja pčelinjih društava pojavile su se razlike između ispitivanih populacija, pri čemu su pčele iz Arte ispoljile najslabije higijensko ponašanje i najmanju sposobnost prepoznavanja i čišćenja mrtvog legla.
- ❖ Generalno, ni kod jedne od ispitivanih populacija pčela nije bilo izraženo higijensko ponašanje u prvih 24 časa. Prvo merenje je i najvažnije jer su u međunarodnoj naučnoj literaturi „najhigijenskiji“ pčelinjaci oni kod kojih je higijensko ponašanje u toku prvih 8 časova veće od 70%.
- ❖ Primećeno higijensko ponašanje nije povezano sa procentom infestacije varoom ili nozemom, s obzirom na to da ispitivane populacije pčela ne potiču iz planskog uzgoja i reprodukcije pčela čiji je cilj otpornost na pčelinje bolesti.
- ❖ Izoenzimska analiza je napravila razliku između ispitivanih populacija i svrstala ih na jednoj široj grani koja obuhvata i Bugarske pčele. Moguće je da ispitivane grčke populacije pčela predstavljaju dve šire grupe, grupa pčela iz Larise (verovatno poreklom od *A. m. cecropia*) i grupe makedonske pčele koja se javlja u tri različita ekotipa (Kastorija, Arta i Halkidiki – ekotipovi *A. m. macedonica*). Obe šire grupe odgovaraju početnom razgraničavanju zbog



geografskog porekla. Populacija iz Larise kao Cekropia pčela ili pčela centralne i južne Grčke i Makedonska pčela kao pčela severne Grčke.

- ❖ Nalazi iz banke gena potvrđuju da se ispitivane populacije pčela iz Larise razlikuju od ostalih populacija pčela po 16s rDNA.
- ❖ Ispitivane populacije pčela iz Kastorie, Halkidikija i Arte bi mogle da se razlikuju po rezultatima geometrijske morfometrije.
- ❖ Analiziranjem prosečnih merenih vrednosti (Prilog 15 i Prilog 16) za pojedine morfometrijske parametre za period u 2009. godini utvrđeno je da najviše minimalnih dimenzija merenih parametara imaju pčele koje pripadaju populaciji Larise. Čak u pet od dvanaest analiziranih obeležja populacija iz Larise je pokazala minimalne dimenzije (dužina prednjeg krila 9,164 cm, širina prednjeg krila 3,116 cm, dužina stranice a 0,571 cm, odnosno stranice b 0,232 cm i dužina bazitarsusa 2,039 cm). U 2010. godine najviše minimalnih dimenzija merenih parametara imaju pčele koje pripadaju populaciji pčela iz Arte i to takodje u pet od dvanaest analiziranih obeležja (dužina prednjeg krila 9,223 cm, širina prednjeg krila 3,173 cm, širina bazitarsusa 1,157 cm, dužina zadnjeg krila 6,725 cm i širina zadnjeg krila 1,974 cm).
- ❖ Najviše maksimalnih vrednosti je utvrđeno merenjem morfometrijskih parametara pčela iz populacije Arte 2009. godine u pet od dvanaest analiziranih obeležja (širina prednjeg krila 3,136 cm, dužina stranice b 0,242 cm, dužina bazitarsusa 2,069 cm, širina bazitarsusa 1,201 cm, i širina izadnjeg krila 1,887 cm). U 2010. godine najviše maksimalnih dimenzija merenih parametara imaju pčele koje pripadaju populaciji pčela iz Kastorije (dužina stranice b 0,226 cm, dužina jezika 5,929 cm, dužina bazitarsusa 2,067 cm, širina bazitarsusa 1,182 cm i dužina zadnjeg krila 6,807 cm).
- ❖ Najveće vrednosti za kubitalni index utvrđene su kod populacije pčela iz Larise, u uzorku iz 2009. godine (2,499 cm), i kod populacije pčela iz Halkidikija (2,762 cm) u uzorku iz 2010. godine. Namanje vrednosti za kubitalni index su utvrđene kod pčela iz populacije pčela iz Arte u uzorku iz 2009. godine (2,408 cm) i kod populacije pčela iz Kastorije (2,547 cm) u uzorku iz 2010. godine.

- ❖ Najduža prednja krila su utvrđena kod pčela iz populacije Halkidikija u 2009. godini (9,227 cm), a u 2010. godini kod pčela iz populacije Kastorije (9,345 cm). Najkraća prednja krila su kod populacije pčela iz Larise u 2009. godini (9,164 cm), a u 2010. godini kod populacije pčela iz Arte (9,223 cm).
- ❖ Najduža tibija je utvrđena kod populacije pčela iz Kastorije u 2009. godini (3,011 cm), a u 2010. godine kod populacije pčela iz Halkidikija (2,601 cm). Najkraća tibija je utvrđena kod populacije pčela iz Arte iz 2009. godine (2,986 cm), a u 2010. godini kod populacije pčela iz Larise (2,545 cm).
- ❖ Najduži femur je utvrđen kod pčela iz populacije Larise u 2009. godini (2,553 cm), a u 2010. godini kod populacije pčela iz Halkidikija (3,138 cm). Najkraći femur u 2009. godini je utvrđen kod populacije pčela iz Arte (2,986 cm), a u 2010. godini kod populacije pčela iz Larise (3,044 cm).
- ❖ Prilično uspešnoj diskriminaciji populacije pčela iz Arte i populacije iz Kastorije u 2009. godini (CV1, 56,1% varijabilnosti) najviše doprinose sledeći karakteri: dužina prednjeg krila, a/b, dužina bazitarsusa, dužina tibije i širina zadnjeg krila. Na osnovu kvadriranih Mahalanobisovih distanci, klaster analizom konstruisan je UPGMA dendrogram na kome se jasnije uočavaju sličnosti i razlike između istraživanih linija pčela. Populacija pčela iz Arte se izdvaja u posebnu granu u odnosu na ostale tri populacije pčela. Takođe, među ostalim populacijama, postoji velika morfološka sličnost između populacija iz Halkidikija i Kastorije koje su jasno razdvojene od populacije iz Larise.
- ❖ Međusobno delimičnoj diskriminaciji linija pčela Kastoria i Larisa sa jedne strane i Arta i Halkidiki sa druge strane u 2010. godini na prvoj kanonijskoj osi (CV1, 65,5% varijabilnosti) najviše doprinose sledeći karakteri: dužina i širina prednjeg krila, dužina bazitarsusa i dužina femura. Na osnovu kvadriranih Mahalanobisovih distanci, klaster analizom konstruisan je UPGMA dendrogram, na kome se jasnije uočavaju sličnosti i razlike između istraživanih geografskih grupa pčela. Populacije pčela iz Arte i Halkidikija se posebno grupišu i razdvajaju od populacija pčela iz Kastorije i Larise.

- ❖ Ovo istraživanje je pokazalo da je veoma važno da se evidentiraju karakteristike različitih ekotipova pčela sa što više detalja, kako bi se izvršila njihova što potpunija karakterizacija.
- ❖ Dalja evidencija i praćenje specifičnih karakteristika različitih ekotipova medonosnih pčela Grčke će nam pružiti neophodna saznanja koja će nam pomoći da se ispitivane populacije održe i da se dalje reprodukuju , jer samo lokalne populacije pčela sigurno i uspešno prezimljavaju, proizvode više pčelinjih proizvoda i otpornije su na bolesti pčela i pčelinjeg legla.

## 8 LITERATURA

- Al-Ghzawi, A. A–M. and S. Zaitoun (2008). Origin and rearing season of honeybee queens affect some of their physiological and reproductive characteristics. *Entomological Research* 38 (2): 139-148.
- Al-Qarni AS, Smith BH, Cobey SW. (2003). Performance evaluation of naturally mated and instrumentally inseminated honeybee (*Apis mellifera* L.) queens in field colonies. *Pakistan J. Biol. Sci.* 6: 1476–1481.
- Akyol, E., N. Sahinler, and D. Ozkok. (2006). Honeybee (*Apis mellifera*) races, ecotypes, and their general characteristics in Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 5: 9771–774.
- Akyol, E., Yeninar, H., Korkmaz, A., Çakmak, I. (2008). An observation study on the effects of queen age on some characteristics of honey bee colonies. *Italian Journal of Animal Sciences* 7: 19-25.
- Aronne, G. (1999). Effects of relative humidity and temperature stress on pollen viability of *Cistus incanus* and *Myrtus communis*. *Grana* 38(6): 364-367.
- Avetisyan, GA. (1961). The relation between interior and exterior characteristics of the queen and fertility and productivity of the bee colony. XVIII Int Beekeep Congr. 44–53.
- Badino, G., Celebrano, G., Manino, A., Ifantidis, M.D. (1988), Allozyme variability in Greek Honeybees (*Apis mellifera* L.), *Apidologie* 19(4), 377-386.
- Banschbach, VS. (1994). Colour association influences honey bee choice between sucrose concentrations. *J. Comp. Physiol. A* 175: 107–114.
- Berger, B., Carmargo Abdalla, F. (2005). *Braz. J. Morphol. Sci.* 22(1), 1–4.
- Bieńkowska, M., Panasiuk, B., Gerula, D., Węgrzynowicz, P (2009). Weight of honeybee queens and its effect on the quality of instrumentally inseminated queens. In Proceedings of 41th *Apimondia Congress, 2009*, Montpellier, France, 15-20 September, p135.
- Boigenzahn, C., Pechhacker, H. (1993). Über die Art der Anpaarung, *Bienenvater* 114, 151–152.

- Boyer, S.H. (1961). Alkaline phosphatase in human sera and placentae. *Science* 134: 1002-1004. DOI:10.1126/science.134.3484.1002
- Bookstein, F.L. (1991). Morphometric tools for land-mark data: Geometry and Biology. Cambridge University Press.
- Bouga M., Tsipi, M., Mavroudis, M., Harizanis, P., Garnery, L., Arnold G., and Tselios, D. (2004). Genetic variation in Greek Honey Bees: molecular and classical morphometrics approach. First European Conference of Apidology, Udine, Italy. Proceedings p. 39.
- Bouga, M., Kiliyas, G., Harizanis, P., Papasotiropoulos, V., Alahiotis, S. (2005a). Allozyme variability and phylogenetic relationships in honey bee (Hymenoptera: Apidae: *A. mellifera*) populations from Greece and Cyprus. *Biochemical Genetics* 43:471-484.
- Bouga, M., Harizanis, P., Kiliyas, G., Alahiotis, S. (2005b). Genetic divergence and phylogenetic relationships of honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) populations from Greece and Cyprus using PCR - RFLP analysis of three mtDNA segments. *Apidologie* 36: 335-344.
- Bouga, M., Alaux, C., Bienkowska, M., Büchler, R., Carreck, N.L., Cauia, E., Chlebo, R., Dahle, B., Dall'olio, R., De La Rúa, P., Gregorc, A., Ivanova, E., Kence, A., Kence, M., Kezic, N., Kiprijanovska, H., Kozmus, P., Kryger, P., Le Conte, Y., Lodesani, M., Murilhas, A.M., Siceanu, A., Soland, G., Uzunov, A. & Wilde, J. (2011). A review of methods for discrimination of honey bee populations as applied to European beekeeping. *J. Apicult. Res. Bee World* 50: 51–84.
- Brother, A. (1968). In Search of the Best Strains of Bees.
- Büchler, R., Drescher W., Tornier I. (1992). Grooming behaviour of *Apis cerana*, *Apis mellifera* and *Apis dorsata* and its effects on the parasitic mites *Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae*, *Exp. Appl. Acarol.* 16, 313-319.
- Büchler, R. (1994a). Investigations into a method of standardized colony infestation for the test of *Varroa* population development, *Apidologie* 25, 29–30.
- Büchler, R., Berg, S., Kezic, N., Pechhacker, H., Van Prragh, J., Bubalo, D., Ritter, W., Bienefeld, K. (2002). Survival test 239 without treatment against varroaosis - the island project in Croatia. *Apidologie*, 33: 493-494.

- Büchler, R., Garrido, C., Bienefeld, K., Ehrhardt, K. (2008). Selection for *Varroa* tolerance: concept and results of a long-term selection project, *Apidologie* 39, 598.
- Büchler, R., Andonov, S., Bienefeld, K., Costa, C., Hatjina, F., Kezic, N., Kryger, P., Spivak, M., Uzunov, A., Wilde, J. (2013). Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. In V Dietemann; J D Ellis., P Neumann (Eds.) The COLOSS BEEBOOK, Volume I: standard methods for *Apis mellifera* research. *Journal of Apicultural Research* 52(1): <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.07>.
- Büchler, R., Andonov, S., Berg, S., Bienkowska, M., Bouga, M., Le Conte, Y., Costa, C., Drazic, M., Dyrba, W., Hatjina, F., Kryger, P., Meixner, M., Panasiuk, B., Pechhacker, H., Petrov, P., Kezic, N., Korpela, S., Uzunov, A., Wilde J. (2014). The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe. (*Journal of Apicultural Research*, submitted).
- Burdon, RD. (1977). Genetic correlation as a concept for studying genotype-environment interaction in forest tree breeding. *Silvae Genet* 26:168–175.
- Charistos, L., Hatjina, F., Bouga, M., Mladenovic, M., Maistros, M., A-D. (2014). Study on Genetic Structure of Greek Honey Bee *A. mellifera* L. based on Geometric Morphometrics approach. *Journal of Apicultural Science* (accepted).
- Cobey, S. (1998). A Comparison Of Colony Performance Of Instrumentally Inseminated and Naturally Mated Honey Bee Queens. *Proc. American Bee Research Conference*, Colorado Springs, CO, *Am. Bee J.* 138, 292.
- Collins, A.M. (2000). Survival of honey bee (Hymenoptera: Apidae) spermatozoa stored at above-freezing temperatures, *J. Econ. Entomol.* 93, 568–571.
- Cook, S. M., Awmack, C. S., Murray, D. A., Williams, I. H. (2003). Are honey bees foraging preferences affected by pollen amino acid composition? *Ecological Entomology*, v. 28, n. 2, p. 622-627.
- Costa, C., Berg, S., Bienkowska, M., Bouga, M., Bubalo, D., Büchler, R., Charistos, L., Le Conte, Y., Drazic, M., Dyrba, W., Fillipi, J., Hatjina, F., Ivanova, E., Kezic, N., Kiprijanovska, H., Kokinis, M., Korpela, S., Kryger, P., Lodesani, M., Meixner, M., Panasiuk, B., Pechhacker, H., Petrov, P., Oliveri, E., Ruottinen, L., Uzunov, A., Vaccari, G., Wilde, J. (2012). A Europe-wide experiment for

- assessing the impact of genotype-environment interactions on the vitality of honey bee colonies: methodology. *Journal of Apicultural Science* 56: 147-157.
- Curik, I., Kezić, N. (1994). Morfometrijske razlike između sive pčele (*Apis mellifera carnica* Pollman) iz Hrvatske i tamne evropske pčele (*Apis mellifera mellifera* Linnaeus) iz Norveške. *Poljoprivredna znanstvena smotra* 59: 405-412.
- Delaplane, K S., Van Der Steen, J., Guzman, E. (2013). Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. In V Dietemann; J D Ellis; P Neumann (Eds) *The COLOSS BEEBOOK, Volume I: standard methods for Apis mellifera research. Journal of Apicultural Research* 52(1): <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.03>.
- De La Rúa, P., Fuchs, S., Serrano, J. (2005). Biogeography of European honey bees. In: M Lodesani, and C Costa, (eds). *Beekeeping and conserving biodiversity of honey bees. . sustainable bee breeding. Theoretical and practical guide.* Northern Bee Books, Hebden Bridge, UK; pp. 15–52.
- De La Rúa P., Jaffé R., Dall'olio R., Munoz I., Serrano J. (2009). Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees, *Apidologie* 40, 263–284.
- Dražić, M., Bubalo, D., Kezić, N. (1999). Diversity of Carnolian bee (*A.m.carnica*) in Croatia. Book of abstract. XXXVI International Apiculture Congress (*APIMONDIA 1999*), Vancouver, Canada. p 282.
- Dryden, IL., Mardia, KV. (1998). *Statistical shape analysis.* Wiley, Chichester.
- Engel, M. (1999). The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*). *Journal of Hymenoptera Research* 8 (2): 165-196.
- Estoup, A., Solignac, M., Harry, M., Cornuet, J M. (1993). Characterization of (Gt)n and (Ct)n Microsatellites in 2 Insect Species - *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. *Nucleic acids research* 21(6): 1427-1431. DOI: 10.1093/nar/21.6.1427.
- Falconer, D.S. and Mackay, T.F.C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics.* 4th Edition. Longman Scientific and Technical, New York.
- Felsenstein, J. (1991). *PHYLIP : Phylogenetic Inference Package.* University of Washington, Seattle, WA.
- Free, J. B. (1970). *Insect pollination of crops.* (1970). Academic New York.

- Fries I., Huazhen W., Jin C.S., Wei S. (1996). Grooming behavior and damaged mites (*Varroa jacobsoni*) in *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica*, *Apidologie* 27, 3–11.
- Fries, I., Bommarco, R. (2007). Possible host-parasite adaptations in honey bees infested by *Varroa destructor* mites, *Apidologie* 38, 525–533.
- Gahne, B. (1967). Alkaline phosphatase isoenzyme in serum and seminal plasma. *Hereditas* 57: 83-99. DOI:10.1111/j.1601-5223.1967.tb02094.x
- Garnery, L., Solignac, M., Celebrano, G., Cornuet, J.M. (1993). A simple test using PCR amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L., *Experientia* 49 1016-1021.
- Garnery, L., Franck, P., Baudry, E., Vautrin, D., Cornuet, J M., Solignac, M. (1998). Genetic diversity of the west European honey bee (*Apis mellifera mellifera* and *A. m. iberica*). II. Microsatellite loci. *Genetics Selection Evolution* 30S49-S74. DOI: 10.1051/Gse:19980703.
- Gene, E., Robinson, R. E., Page, Jr., Colette S., Alain, S. (1989). Hormonal and Genetic Control of Behavioral Integration in Honey Bee Colonies. *Science* 6 October 1989: Vol. 246 no. 4926 pp. 109-1 DOI:10.1126/science.246.4926.109
- GenBank. (2013). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>
- Genç, F. (1992). A study on determination of the effects of rising different ages queens on colony performance. Proc. 1st Beekeeping Seminar East Anatolia, Erzurum, Turkey: 76-95.
- Gençer, H. (2003). Overwintering of honey bee queens en mass in reservoir colonies in a temperate climate and its effect on queen performance. *Journal of Apicultural Research* 42: 61–64.
- Gilley, D.C., Tarpy, D.R., Land, B.B. (2003). Effect of queen quality on interactions between workers and dueling queens in honeybee (*Apis mellifera* L.) Colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 55(2): 190-196.
- Guler, A., Alpaya, H. (2005). Reproduction characteristics of some honeybee (*Apis mellifera* L.) genotypes, *J. Anim. Vet. Advan.* 4, 864–870.
- Hall, HG. (1990.) Parental analysis of introgressive hybridization between African and European honeybees using nuclear DNA RFLPs. *Genetics*, 125,611-621.



- Harbo, J R., Szabo, T I. (1984). A comparison of instrumentally inseminated and naturally mated queens, *Journal of Apicultural Research* 23: 31-36.
- Harbo, J R., Harris, J W. (2005). Suppressed mite reproduction explained by the behavior of adult bees. *Journal of Apicultural Research* 44: 21-23.
- Harbo, J.R., Harris, J.W. (2000). Using Free-mated Queens to introduce Genes for Varroa Resistance into a Population of Honey Bees. *American Bee Journal*. 140(11):904-905.
- Harder, L.D. (1986). Effects of nectar concentration and flower depth on flower handling efficiency of bumble bees. *Oecologia*, 69, 309315.
- Harris, H., Hopkinson, D.A. (1976). Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.
- Harris, J W. (2007). Bees with Varroa sensitive hygiene preferentially remove mite infested pupae aged  $\leq$  five days post capping. *Journal of Apicultural Research* 46: 134-139.
- Haristos, L., Hatjina, F., Gounari, S., Tsellios, D. (2003). A method for determining the infestation level of *Nosema apis* in different areas of Greece. Poster 283 in *APIMONDIA 2003*, Ljubljana (Book of Abstracts, p. 608).
- Hatjina, F., Gounari, S., Thrasylvoulou, A., Kalapanida, M., Tsellios, D. (2002). Honeydew producing insects of pine trees. Proceedings of the 1<sup>st</sup> Hellenic Scientific Conference of Apiculture- Sericulture, Athens, p. 95.
- Hatjina, F., Haristos, L., (2005). Indirect effects of oxalic acid administered by trickling method on honey bee brood. *Journal of Apicultural Research* 44(4): 172-174.
- F. Hatjina (2012) Greek Honey Bee Queen Quality Certification. *Bee World*, 89: 18-20
- Hatjina, F., Bieńkowska, M., Charistos, L., Chlebo, R., Costa, C., Dražić, M., Filipi, J., Gregorc, A., Ivanova, E N., Kezic, N., Kopernicky, J., Kryger, P., Lodesani, M., Lokar, V., Mladenovic, M., Panasiuk, B., Petrov, P P., Rašić, S., Smodis-Skerl, M I., Vejsnæs, F., Wilde, J. (2013) Examples of different methodology used to assess the quality characteristics of honey bee queens. *Journal of apicultural Research* (in press).
- Hatjina, F., Costa, C., Ruottinen, L., Uzunov, A., Drazic, M., Kezic, N., Andonov, S., Büchler, R., Charistos, L., Berg, S., Bienkowska, M., Meixner, M., Bouga, M., Le Conte, Y., Dariusz, G., Dyrba, W., Kiprijanovska, H., Korpela, S., Kryger, P.

- Panasiuk, B., Pechhacker, H., Vaccari, G., Petrov, P., Wilde J. (2014). Population dynamics of European honey bee genotypes under different environmental conditions (*Journal of Apicultural Research*, submitted).
- Hatjina, F., Papaefthimiou, C., Charistos, L., Dogaroglu, T., Bouga, M., Emmanouil, C., Arnold, G. (2014). Sublethal doses of imidacloprid decreased size of hypopharyngeal glands and respiratory rhythm of honeybees in vivo. *Apidologie* (accepted).
- Hatjina, F., K. Kasiotis, M., Charistos, L., Machera, K., Emmanouil, N. (2014). Honey bee colony performance and imidacloprid residual analysis in cotton fields. *Environmental Monitoring and Assessment* (under revision).
- Ibrahim, A., Spivak, M. (2006). The relationship between hygienic behavior and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanisms of resistance to *Varroa destructor*. *Apidologie* 37: 31-40. DOI: 10.1051/APIDO:2005052
- Ifantidis, M.D. (1979). Morphological characters of the Greek bee *Apis mellifica cecropia*. In Proceedings of XXVII International Apicultural Congress, Athens, Greece, 1979. pp. 271-277.
- Imdorf, A., Buehlmann, G., Gerig, L., Kilchenmann, V., Wille, H (1987). Überprüfung der Schätzmethode zur Ermittlung der Brutfläche und der Anzahl Arbeiterinnen in freifliegenden Bienenvölkern. *Apidologie* 18: 137-146.
- Ivanova, E. (1996). Variability of *Apis mellifera* in Bulgaria – ontogenetic and population-genetic aspects. Phd Thesis, University of Plovdiv, Bulgaria.
- Ivanova, E., Bouga, M., Staikova, T., Mladenović, M., Rašić, S., Charistos, L., Hatjina, F., Petrov, P. (2012). The genetic variability of honey bees from the Southern Balkan Peninsula, based on alloenzimyc data. *Journal of Apicultural Research* 51(4): 329-335 (2012) DOI 10.3896/IBRA.1.51.4.06.
- Kahya, Y., Gençer, Y., Woyke, J. (2008). Weight at emergence of honey bee (*Apis mellifera caucasica*) queens and its effect on live weights at the pre and post mating periods. *Journal of Apicultural Research and Bee World* 47(2): 118-125. DOI 10.3896/IBRA.1.47.2.06.

- Klingenberg, CP., Monteiro, LR. (2005). Distances and directions in multidimensional shape spaces: Implications for morphometric applications. *Systematic biology*, 54(4), 678-688. eScholarID:1c4071 | 10.1080/10635150590947258.
- Klingenberg, C. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353-357.
- Konopacka, Z. (1987). - Biological quality of instrumentally inseminated queens, Proc. XXXIst International Apimondia Congress, Warsaw, pp. 163-167.
- Kostarelou-Damianidou, M., Thrasyvoulou, A., Tselios, D., Bladenopoulos, K. (1995). Brood and honey production of honey bee colonies requeened at various frequencies. *Journal of Apicultural Research* 34(1): 9-14.
- Kulinčević, J., Aleksovski, S., Krunić, M. (1990). Selekcija autohtone medonosne pčele (*Apis mellifera* L.) na produktivnost. Arhiv za polj. Nauke, 51, str. 15-26.
- Le Conte, Y., De Vaublanc, G., Crauser, D., Jeanne, F., Rouselle, J C., Becard, J M. (2007). Honey bee colonies that have 299 survived *Varroa destructor*. *Apidologie*, 38(6): 566-572.
- Louveaux, J., Albisetti, M., Delangue, M. and Theurkauff J. (1966). Les modalités de l'adaptation des abeilles (*Apis mellifera* L.) au milieu naturel. *Annales de l'Abeilles*, 9: 323-350.
- Makarov, Y. I. (1969). Dissertation: biologically and economically useful character of far eastern bees and their selection. Timiryazev Academy of Agriculture, Moscow.
- Martimianakis, S., Klossa-Kilia, E., Bouga, M., Kiliadis, G. (2011). Phylogenetic relationships of Greek *Apis mellifera* subspecies based on sequencing of mtDNA segments (COI and ND5). *Journal of Apicultural Research* 50: 42-50.
- Mendes, M.F.M., Franco, T.M., Nunes-Silva, P. and Menezes, C. (2007). Intra-populational variability of *Nannotrigona testaceicornis* Lepelletier 1836 (Hymenoptera, Meliponini) using relative warps analysis. *Bio sci. J.*, 23 (1): 147-152.
- Miguel, I., Baylac, M., Iriondo, M. et al. 2010. Both geometric morphometrics and microsatellite data support the differentiation of the *Apis mellifera* M evolutionary branch. *Apidologie*. DOI: 10.1051/apido/2010048.
- Mladenović, M., Peševa, Valentina., Radoš ,Renata., Rašić, S. (2011). Morphometric parameters of grey and yellow honey bee from Serbia. 3rd International congress

in animal husbandry: New perspectives and challenges of sustainable livestock production, 5-7 October, Belgrade. *Biotechnology in animal husbandry*, 27(3), ISSN 1450-9156, UDC 638.1:1395-1400.

- Moritz, R.F.A. (1986). Comparison of Within-Family and Mass Selection in Honeybee Populations, *Journal of Apicultural Research* 25(3):146-153.
- Moritz, R.F.A., Crewe, R.M. (1988.) Reaction of honey bee workers ( *Apis mellifera* L.) to fatty acids in queen signals. *Apidologie* 19: 333–342.
- Nedić, N. (2009). Biološko proizvodne osobine medonosne pčele *Apis mellifera carnica* Poll na teritoriji Srbije. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
- Nelson, D.L. and Jay, S.C. (1989). The effect of colony relocation on loss and disorientation of honeybees. *Apidologie* 20: 245-250.
- Nunamaker, R.A. and Wilson, W.T. (1982). Isozyme changes in the honeybee, *Apis mellifera* L., during larval morphogenesis. *Insect Biochem.* 121, 99-104.
- Núñez, J. A. and Giurfa, M. (1996). Motivation and regulation of honey bee foraging. *Bee World* 77, 182–196.
- Oldroyd, B., T. Rinderer and S. Buco. (1991). Heritability of morphological characters used to distinguish European and Africanized honeybees. *Theoretical Applied Genetics*, 82: 499-504.
- Papanagiotou E. (2010). Οικονομική ανάλυση της Μελισσοκομίας στην Ελλάδα. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. Γεωπονική Σχολή. Τομέας Αγροτικής Οικονομίας. Εργαστήριο Γεωργικής Οικονομικής Έρευνας.
- Pernal, S. F., Currie, R. W. 2002. Discrimination and preferences for pollen-based cues by foraging honeybees, *Apis mellifera* L.- *Animal Behaviour*, 63: 369-390.
- Page, R.E. and Fondrk M.K. (1995). The effects of colony-level selection on the social organization of honey bee (*Apis Mellitera* L.) colonies: colony-level components of pollen hoarding. *Behav Ecol Sociobol* 36:135-144.
- Pearson, W. D. & Braiden, V. (1990). Seasonal pollen collection by honey bees from grass/shrub highlands in Canterbury, New Zealand. *Journal of Apicultural Research.*, 29, 206–213.
- Prisco, G., Cavaliere, V., Annoscia, D., Varricchio, P., Caprio, E., Nazzi, F., Gargiulo, G. and Pennacchio, F. (2013). Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect

- immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. [www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.1314923110//DCSupplemental](http://www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.1314923110//DCSupplemental).
- Pritsch, G., Bienefeld, K. (2002). Comparison of performance of bee colonies with naturally mated and artificially inseminated queens (*A.m. carnica*), *Apidologie* 33, 513.
- Rašić, S. (2013). Morfološke, genetske i proizvodne karakteristike selekcionisanih linija medonosne pčele (*Apis mellifera carnica*). Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
- Rath, W. and Drescher, W., (1990). Response of *Apis cerana* Fabr towards brood infested with *Varroa jacobsoni* Oud and infestation rate of colonies in Thailand. *Apidologie*, 21: 311–321.
- Rinderer, TE, de Guzman, LI, Delatte, GT et al. (2001). Resistance to the parasitic mite *Varroa destructor* in honey bees from far-eastern Russia. *Apidologie* 32, 381–394
- Rodríguez-Rajo, F. J., Méndez, J. & Jato, V. (2005). Airborne Ericaceae pollen grains in the atmosphere of Vigo (Northwest Spain) and its relationship with meteorological factors. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47(7): 792-800.
- Rhodes, J.W., Somerville, D.C. (2003). Introduction and early performance of queen bees, Report: Rural Industries Research & Development Corporation, NSW Agriculture Pub # 03/049. Project # DAN-182A.
- Rhodes, J.W., Somerville, D.C., Harden, S. (2004). Queen honey bee introduction and early survival-effects of queen age at introduction, *Apidologie* 35, 383–388.
- Rohlf, F.J. (2000a). Statistical power comparisons among alternative morphometric methods. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 111: 463-478.
- Rohlf, F.J. (2000b). On the use of shape spaces to compare morphometric methods. *Hystrix*, 11: 9-25.
- Rohlf, F.J. (2001). Tpsdig: digitize landmarks from image files, scanner, or video. Department of Evolutionary Biology, University of New York, Stony Brook, New York.
- Rothenbuhler, W.C. (1964). Behavior genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F1 and backcross generations to disease-killed brood, *Am. Zool.* 4, 111-123.

- Rosenkranz, P., Tewarson, N. C., Rachinsky, A., Strambi, A., Strambi, C. and Engels, W. (1993). Juvenile hormone titer and reproduction of *Varroa jacobsoni* in capped brood stages of *Apis cerana indica* in comparison to *Apis mellifera ligustica*. *Apidologie*, 24: 375–382.
- Ruttner, H. (1972). Technical recommendations for methods of evaluating performance of bee colonies. In F. Ruttner, *Controlled mating and selection of the honey bee* Bucharest, *Apimondia*, pp: 87-92.
- Ruttner, F., Tassencourt, L., Louveaux, J. (1978). Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L. 1. Materials and Methods. *Apidologie* 9:363–381.
- Ruttner, F. (1988). *Biogeography and taxonomy of honey bees*. Springer-Verlag; Berlin, Germany.
- Ruttner, F. (1992). *Naturgeschichte der Honigbienen*, Ehrenwirth Verlag, Munich, Germany.
- Saitou, N., Nei, M. (1987). The neighbour-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4):406–425.
- Schmid-Hempel P. (1987). Efficient nectar collection by honey bees. I. Economic models. *Journal of Animal Ecology* 56:209–218.
- Schmid-Hempel, P., and Schmid-Hempel, R. (1987). Efficient Nectar-Collecting by Honeybees. Response to Factors Determining Nectar Availability. *Journal of Animal Ecology* Vol.56, No. 1, pp.219-227.
- Seeley, T.D. and P.K. Visscher (1985). Survival of honey bees in cold climates: the critical timing of colony growth and reproduction. *Ecological Entomology* 10:81-88.
- Seeley, T.D. (2007) Honey bees of the Arnot Forest: a population of feral colonies persisting with *Varroa destructor* in the northeastern United States, *Apidologie* 38, 19–29.
- Shaw, C.R., Prasad, R. (1970). Starch-gel electrophoresis - a compilation of recipes. *Biochemical Genetics* 4: 297-320. DOI:10.1007/BF00485780
- Sheppard, W. S., Arias, M. C., Greech, A., and Meixner, M. D. (1997). *Apis mellifera ruttneri*, a new honey bee subspecies from Malta. *Apidologie* 28:287–293.

- Sheppard, W S., Meixner, M.D. (2003) *Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia. *Apidologie* 34: 367-375.
- Silva, E. M. and B. B. Dean. (2000). Effect of nectar composition and nectar concentration on honey bee (Hymenoptera: Apidae) visitations to hybrid onion flowers. *J. Econ. Entomol.* 93:1216–1221.
- Siuda, M., Wilde, J. (2006). Effect of queen body weight on start of oviposition. International Apicultural Scientific Conference in centenary of Jan Dzierżon's death. Puławy 25-27.04.2006. Materiały konferencyjne: 88-92.
- Skowronek, W., Bienkowska, M., Kruk, C. (2004). Changes in body weight of honey bee queens during their maturation. *Journal of Apicultural Science* 48(2): 61-68.
- Smith, D.R., Crespi, B.J. & Bookstein, F.L. (1997). Fluctuating asymmetry in the honey bee, *Apis mellifera*: effects of ploidy and hybridization. *Journal of Evolutionary Biology*, 10: 551-574.
- Sneath, Ph; Sokal, Rr. (1973). Numerical Taxonomy: The principle and practice of numerical classification. W. H. Freeman, San Francisco.
- SPSS Statistics for Windows (2010). Version 19.0. IBM Corp. Armonk, NY: IBM Corp.
- Spivak, S. (1996). Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 27: 245-260.
- Spivak, M., Reuter, G. S. (1998). Honey bee hygienic behavior. *American Bee Journal* 138: 283-286.
- Spivak, M., and Gilliam, M. (1998a). Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and varroa Part I. Hygienic behaviour and resistance to American foulbrood. *Bee World* 79(3): 124-134.
- Spivak, M., and Gilliam, M. (1998b). Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and varroa Part II. Studies on hygienic behaviour since the Rothenbuhler era. *Bee World* 79(4): 169-186.
- Spivak, M., Downey, D L. (1998). Field assays for hygienic behavior in Honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 91: 64-70.
- Spivak M., Reuter G.S. (2001). *Varroa jacobsoni* infestation in untreated honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies selected for hygienic behavior, *J. Econ. Entomol.* 94, 326–31.

- Stevanović, J. (2002). Istraživanja morfometrijske i hromozomske varijabilnosti u funkciji ocuvanja diverziteta kranjske medonosne pčele (*Apis mellifera carnica* Pollman, 1879) na teritoriji Srbije. Magistarska teza, Univerzitet u Beogradu, Veterinarski fakultet.
- Stevanovic, J., Stanimirovic, Z., Radakovic, M., Kovacevic, S.R. (2010). Biogeographic study of the honey bee (*Apis mellifera* L.) from Serbia, Bosnia and Herzegovina and Republic of Macedonia based on mitochondrial DNA analyses. *Russian Journal of Genetics*, 46(5): 603-609.
- Strange, J.P., Garnery, L., Sheppard, W.S. (2007). Persistence of the Landes ecotype of *Apis mellifera mellifera* in southwest France: confirmation of a locally adaptive annual brood cycle trait. *Apidologie* 38, 259-267
- Strid, A. (1996). Phytogeographia Aegaea and the Flora Hellenica Database. Ann. Naturhist. Mus. Wien 279 – 289. Wien, Dezember 1996.
- Swofford, D.L., Selander, R.B. (1981). BIOSYS-1: A computer program for the analysis of allelic variation in genetics Rel. 1.0 Department of Genetics and Development University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, Illinois 60801, USA.
- Szabo, T. I. and Townsend, G. F. (1974). Behavioral studies on queen introduction in the honeybee. I. Effect of the age of workers (from a colony with a laying queen) on their behaviour towards an introduced virgin queen. *J. Apic. Res.*, 13(1): 19-25.
- Szabo, T.I. (1982). Correlations between colony traits in the honeybee. *American Bee Journal* 112: 611-616.
- Taber, S. (1982). Bee behavior: Breeding for disease resistance. *American Bee Journal* 122: 823-825.
- Taranov, GF. (1974). Condiciones para mejorar la calidad de las reinas en las granjas apícolas especializadas. *Apiacta* 9, 8-10.
- Tares, S., Cofwuet, J.M. and Abad, P. (1993). Characterization of an unusually conserved AluI highly reiterated DNA sequence family from the honeybee, *Apis mellifera*. *Genetics* 134: 1195-1204.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence



- weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.*, 22, 4673–4680.
- Tofilski, A. (2004). DrawWing, a programme for numeral description of insect wings. *Journal of Insect Science* 4: 105.
- Uzunov, A., Andonov, S., Büchler, R., Fillipi, J., Hatjina, F., Ivanova, E., Kiprjanovska, H., Le Cont, Y., Malgorzata, B., Petrov, P., Panasiuk, B., Wilde J., (2014). Behavioural traits of European honey bee genotypes under different environmental conditions. (*Journal of Apicultural Research*, submitted).
- Vaissière, B.E., Vinson, S.B. (1994). Pollen morphology and its effect on pollen collection by honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), with special reference to upland cotton, *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae). *Grana* 33: 128–138.
- Vesely, V., Peroutka, M. (1984). Bewertung der Methode zur radikalen Eindämmung der Varroatose. *Apidologie*, 15 (4), 379-388.
- Viscosi, V., Cardini, A. (2011). Leaves, taxonomy and geometric morphometrics: a simplified protocol for beginners. PLoS ONE 6:e25630. *Journal of Apicultural Research* 10(1): 45-55.
- Weaver, N. (1957). Effects of larval age on dimorphic differentiation of the female honeybee. *Annals of Entomological Society of America* 50: 283-294.
- Winston, M L. (1980). Swarming, afterswarming, and reproductive rate of unmanaged honeybee colonies (*Apis mellifera*). *Insects Sociaux* 27: 391-398.
- Winston, M L. (1987). The biology of the honey bee. Harvard University Press. 281pp
- Woyke, J. (1960). Naturalne i sztuczne unasienianie matek pszczelich/Natural and artificial insemination of queen honeybees/Pszczel. Zesz. IVauk. 4/3-4/ : 183-275.
- Woyke, J. (1964). Causes of repeated mating flights by queen honeybees. *Journal of Apicultural Research*. 3, 17-23.
- Woyke, J. (1971). Correlations between the age at which honeybee brood was grafted, characteristics of the resultant queens, and results of insemination.
- Woyke, J. (1984). Correlation and interaction between population, length of worker life and honey production by honeybees in a temperate region. *Journal of Apicultural Research* 23(3):148-156.

## 9 BIOGRAFIJA

Leonidas Charistos je rođen 1. novembra 1970. godine u Neas Marmarasu na Halkidikiju. Završio je Poljoprivredni fakultet, na smeru za voćarstvo i vinogradarstvo 1996. godine u Beogradu. Školske 2008/09. godine upisao je doktorske studije na Odseku za voćarstvo i vinogradarstvo na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Od 15. juna 2001. do 15. aprila 2002. godine je radio kao Agronom u Upravi za agrarni razvoj na Halkidikiju. Od 16. aprila 2002. do danas je zaposlen kao naučni saradnik na Institutu za pčelarstvo na Halkidikiju (*Hellenic Institute of Agriculture (N.AG.RE.F), N.Moudania, Greece*).

### Laboratorijsko iskustvo:

Poznavanje laboratorijskih tehnika , od kojih su osnovne :

- Organska hemijska analiza.
- Primene tačne hromatografije visokih performansi ( HPLC ) radi analize šećera u medu.
- Tehničke analize fizičkih i hemijskih karakteristika meda ( vlažnost , HMF , električna provodnost , kiselost - PH ).
- Primene spektrofotometrije.
- Analiza biodiverziteta pčela metodom geometrijske morfometrije.
- Laboratorijski uzgoj pčela u kavezima .

### Pohađao i završio:

- Obrazovni seminar za obuku lica koja se bave izradom planova oplodnje i planova delovanja – (za poljoprivrednike) (Geotehnička komora Grčke, 2-5. decembra 2004. godine).
- Obrazovni seminar za lica koja vrše kontrolu sistema HACCP – (Društvo za tehnički konsalting UCAT SA, 3-5. juna 2006. godine).

- Obuka u oblasti veštačkog osemenjavanja matica koju je držala Dr. Malgorzata Bienkowska (Poljska)- (Nea Mudanja, 24-28. aprila 2010. godine).

- Odobrenje za posebnu obuku u oblasti veštačkog osemenjavanja od strane Cost Action FA 0803- COLOSS (Pulawy –Poland , 21-29 Juli, 2011). Učestvovao je u „COLOSS STSM ACTION - Application of instrumental insemination in obtaining resistant bees“ u Pulawy, u Poljskoj, u „Research Institute of Horticulture - Apiculture Division.

- Sertifikat za instruktora dobijen od strane EKEPIS nakon pohađanja šestomesečnog seminara.

#### Obrazovno iskustvo:

- Obuka pčelara u sklopu primene regulative KAN 1221/97 & 797/04 Evropske Unije u čitavoj Grčkoj posredstvom organizacije OGEEKA «DEMETRA» (oko 800 sati).

- Obuka pčelara uključenih u programe mladih poljoprivrednika u čitavoj Grčkoj preko organizacije OGEEKA «DEMETRA» (oko 500 sati).

- Obuka preko 500 pčelara u okviru seminara održanih na Institutu za pčelarstvo od 2005. godine do danas.

Takođe je koautor i učesnik preko 60 radova iz oblasti pčelarstva od kojih su devet sa SCI liste.

Koristi i služi se engleskim i srpskim jezikom. Živi u N. Moudanija na Halkidikiju u Grčkoj.

## 10 PRILOZI

Prilog 1. Klimatski podaci za područje istraživanja – Nea Moudania

Datum	T ( $\bar{x}$ )	T (max)	T (min)	H ( $\bar{x}$ )	Padavine	Datum	T ( $\bar{x}$ )	T (max)	T (min)	H ( $\bar{x}$ )	Padavine
1/3/10	8,8	15	5	43,5	0	1/3/11	6,6	7,9	5,2	71,1	0
2/3/10	8,2	10,6	5	45,8	0	2/3/11	4,3	5,2	2,7	77,5	3,2
3/3/10	10,2	16	6	37,6	0	3/3/11	4,9	7,4	2,9	87,7	3,8
4/3/10	8,1	12	5	42,6	0	4/3/11	6,3	9,1	4,4	74,2	0
5/3/10	6,4	10	4	31,4	0	5/3/11	6,6	8,6	4,5	77,6	0
6/3/10	2	5,5	-0,4	22,4	0	6/3/11	8,1	11,1	5,9	76,9	0
7/3/10	0,5	4,5	-5,2	20,4	0	7/3/11	3,2	6,3	1,9	72,5	3,6
8/3/10	0	1,4	-0,6	31,3	7,1	8/3/11	2,5	7,4	-1,2	44,6	0
9/3/10	0,2	3	-2	29,5	7,9	9/3/11	1,1	7,6	-4,5	45	0
10/3/10	-1,8	0,5	-3,8	26,2	7,9	10/3/11	4,5	11,9	-1,9	48,8	0
11/3/10	0,5	5	-4,5	30,4	7,1	11/3/11	7,2	14,5	1,6	52,4	0
12/3/10	0	4,6	-6	29,4	3,1	12/3/11	9,7	16,3	3,8	67,3	0
13/3/10	6,1	9,5	-0,4	29,6	0,8	13/3/11	10,3	16,9	3,3	73,5	0
14/3/10	6	10,5	2,5	27,3	0,8	14/3/11	11,1	17,5	6,1	74,9	1,8
15/3/10	7,2	11,5	3,2	26,6	0	15/3/11	11,5	17,6	5,2	82,5	0
16/3/10	7	14,2	-0,5	25,4	0	16/3/11	10,8	16,6	4,8	91,5	0,2
17/3/10	5,2	10,5	-2	27,9	0	17/3/11	11,6	15,6	8	95,1	4,8
18/3/10	3,4	10,8	-5,5	28,1	0	18/3/11	12	17,9	7,6	89,5	0
19/3/10	5,7	15,5	-4	30,1	0	19/3/11	10,5	11,5	8,6	97,3	15
20/3/10	7,9	18	-2	33,8	0	20/3/11	9,8	11,4	8,6	84,7	2,2
21/3/10	9,4	22,6	-0,5	36,8	33,5	21/3/11	8,5	11	6,2	75,9	0,2
22/3/10	15,9	24,4	5	42,2	0	22/3/11	8,1	12,1	3,6	67,2	0
23/3/10	12,3	21	8,5	46,8	0	23/3/11	8,6	14,2	2,3	66,2	0
24/3/10	11,2	17	5	45,4	0	24/3/11	10,9	17,8	4,4	74,5	0
25/3/10	10,7	15	6,5	43,4	0	25/3/11	11,2	17,9	4,9	80,9	0
26/3/10	8,4	17	0	36,8	0	26/3/11	12,5	18,6	6	70,1	0
27/3/10	8,7	17	-0,6	37,8	0	27/3/11	13,8	20,6	8,1	65,3	0
28/3/10	6,8	13	3	40,3	0	28/3/11	12,7	18,7	5,6	78	0
29/3/10	11,7	19,5	5,5	36,8	0	29/3/11	12,7	17,4	8,8	86,7	1
30/3/10	11,2	20,5	0	39,9	0	30/3/11	12,8	20,1	6,8	83,6	0
31/3/10	13,8	22	7	48,4	0	31/3/11	12	15,1	7,5	88,4	3,4
1/4/10	13,9	21,5	6,2	42,1	0	1/4/11	12,2	14,7	10,7	88,5	1,8
2/4/10	10,1	16	3,5	43,1	0	2/4/11	12,3	17,2	7,6	87,4	0,6
3/4/10	12	20	4	42	0	3/4/11	12,5	19,4	7,2	77,5	0
4/4/10	12	20,2	2	40,4	0	4/4/11	12,4	16,8	8	81,6	0
5/4/10	12,1	19,5	3,5	44,7	0	5/4/11	11,2	15	6,3	89,5	0
6/4/10	9,6	15	8	45	0	6/4/11	11	14,2	7,2	88,7	0,6
7/4/10	11,8	17,5	8,5	41,4	0	7/4/11	13	17,9	9,6	78,8	0
8/4/10	13,2	18,6	9,4	44,2	0	8/4/11	16,6	23,7	7,7	58,7	0
9/4/10	10,8	19,5	3	40,5	0	9/4/11	18,6	24,5	14,3	49,6	0
10/4/10	11,2	18,5	2	41,7	0	10/4/11	15,9	20,6	7,6	36,1	0
11/4/10	12,1	16,5	8	42,8	0	11/4/11	12,6	18,8	5,5	45,4	0
12/4/10	9,5	14,4	4,6	41,9	0	12/4/11	11,9	18,1	4,9	63,8	0
13/4/10	12	18,5	5	44,4	0	13/4/11	14,2	19,5	7,1	68,5	0
14/4/10	9,1	14,5	7	45,3	0	14/4/11	11,3	16,6	5,3	51,5	1,4
15/4/10	11,1	15,2	8,5	48,2	0	15/4/11	11,1	18,8	4,6	56,4	0
16/4/10	12,6	17,2	7,4	52,5	0	16/4/11	11,8	15	7,6	60,1	0
17/4/10	11,7	14,5	10,2	51,7	0	17/4/11	11,3	14,8	7,9	64,8	3,4
18/4/10	13,1	18	9,5	49	0	18/4/11	8	10,1	6	86,9	3,2
19/4/10	10,2	13,5	5,5	46,8	0	19/4/11	10,3	14,9	6	80,3	0,4
20/4/10	13,1	19	8,4	47	0	20/4/11	11,3	18,7	5,5	82,6	0
21/4/10	15,8	22	10,2	45	0	21/4/11	12,3	18,1	6,2	57,1	0
22/4/10	16,1	24,5	7,2	47	0	22/4/11	11,1	16,8	4,7	67,8	0

23/4/10	15,2	22,5	5,5	50,3	0	23/4/11	10,4	16,6	4,5	76,4	0
24/4/10	15,1	20	9,8	51,4	0	24/4/11	11,9	17,7	4,9	74,3	0
25/4/10	15,4	19,4	13	47,9	0	25/4/11	12,5	17,6	7	73,6	0
26/4/10	13,4	19,5	7,4	46,4	0	26/4/11	12,2	16,2	7,9	73,8	1,6
27/4/10	11,4	18	4	38,2	0	27/4/11	11,8	13,6	10,8	90	2
28/4/10	10,9	19,4	0	38,8	0	28/4/11	13,5	18,6	10,8	85	0
29/4/10	12,9	20,5	3,5	41,8	0	29/4/11	14,4	18,8	11	86,5	0
30/4/10	14	22,5	3,5	44	0	30/4/11	14,7	20,7	7,6	84,6	0,6
1/5/10	15,1	23,5	4,5	46,6	0	1/5/11	14,9	17,9	12,6	91,2	3,2
2/5/10	15,5	24	5,6	47,4	0	2/5/11	16	20,6	11	87,4	0
3/5/10	16,3	24,2	7,4	50,2	0	3/5/11	17,2	21,1	14	85,6	0,2
4/5/10	17,1	24,8	8	52,2	0	4/5/11	16,4	20,1	14,8	97,9	2,6
5/5/10	17,5	24,5	9,5	55,6	0	5/5/11	13,1	15,4	10,8	95,8	43,4
6/5/10	16,2	22	11	55,3	0	6/5/11	13,2	18	8,8	70,9	0
7/5/10	16,3	23,6	10	53,8	0	7/5/11	13,4	17,9	7,8	77,5	0
8/5/10	15,1	21,6	7,5	51,5	0	8/5/11	14,9	20,5	8,3	76,9	0
9/5/10	17,2	23,4	12	52,6	0	9/5/11	12,9	15,4	10,6	71,3	0
10/5/10	18,8	26	11	49,1	0	10/5/11	15,1	19,4	10,9	68,4	0
11/5/10	20,1	29	8	53,5	0	11/5/11	14,6	19,5	9,9	72,3	0
12/5/10	20,5	28	14	61,1	0	12/5/11	14,4	19,5	11	78,8	0
13/5/10	19,9	26,5	12,5	57,6	0	13/5/11	16,4	22,7	10,9	69,1	0
14/5/10	21,3	28	13,5	53	0	14/5/11	18,1	24,7	10,9	63	0
15/5/10	20,5	27	14,8	57	0	15/5/11	18,3	24,1	11,6	60,5	0
16/5/10	17,3	25,6	9,5	48,4	0	16/5/11	18,9	23,8	14,1	69,4	0
17/5/10	12,6	18	10	42,3	0	17/5/11	18,9	22,2	14,9	75,3	0
18/5/10	13,5	19	9	41,1	0	18/5/11	17,4	22,4	11,3	77,7	0
19/5/10	13,8	17,5	11	41,4	0	19/5/11	16,7	19,6	14	75,8	0
20/5/10	15,2	21,5	9	45,4	0	20/5/11	19,7	25,9	14,9	63,3	0
21/5/10	16	22	9	50,8	0	21/5/11	20,1	25,6	14,3	65,6	0
22/5/10	16,1	22	11,8	54,2	0	22/5/11	21	27,5	14,2	61,7	0
23/5/10	17,4	24	11,8	54,3	0	23/5/11	20,5	26,1	15,2	68,7	0
24/5/10	17	25,8	11,6	56,1	0	24/5/11	22	27,8	16,1	58,7	0
25/5/10	20,2	29,6	8	52,5	0	25/5/11	21,6	27,5	16,2	68,1	0
26/5/10	20,9	31	9,5	56,8	0	26/5/11	23,4	28,3	17,6	59	0
27/5/10	22,8	31,5	10,5	57,3	0	27/5/11	19,7	22,2	16,2	77,9	0
28/5/10	22,4	30,2	12,58	58,1	0	28/5/11	19,8	23,9	16,9	80,3	0
29/5/10	22,4	30,2	14	61,2	0	29/5/11	20	24,8	14,8	79,3	0
30/5/10	20,6	26,8	12	61	0	30/5/11	20,8	28	17,2	73,6	0
31/5/10	21,7	30,5	15,4	61,4	0	31/5/11	20,8	25,1	16,4	76,1	0

**Prilog 2. Fotografije disekovanih matica**

**ARTA**



**HALKIDIKI**



**KASTORIJA**



**LARISA**





**Prilog 3-1.** Fotografije iz populacije Arta, ramovi na kojima su obavljena merenja praznih ćelija legla



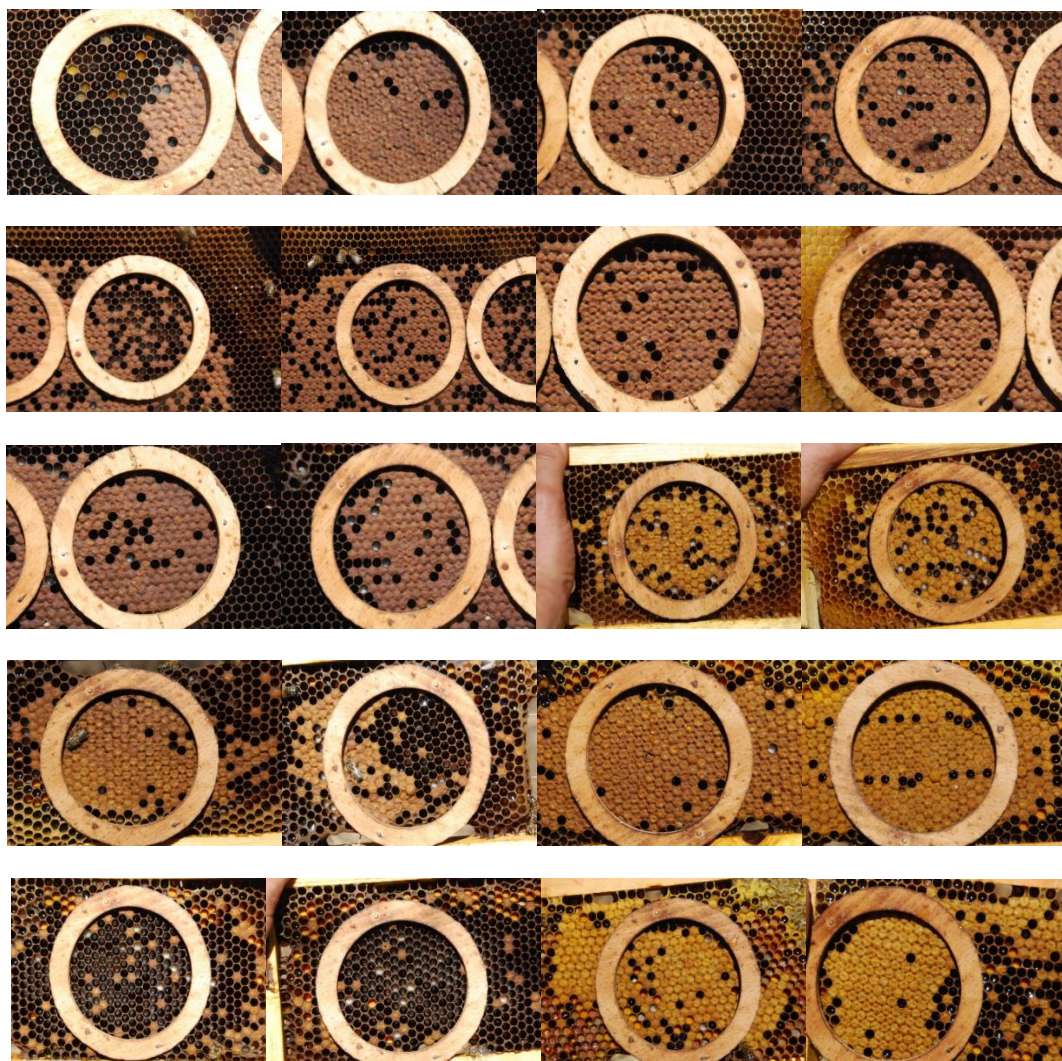


**Prilog 3-2.** Fotografije iz populacije Halkidiki, ramovi na kojima su obavljena merenja praznih ćelija legla



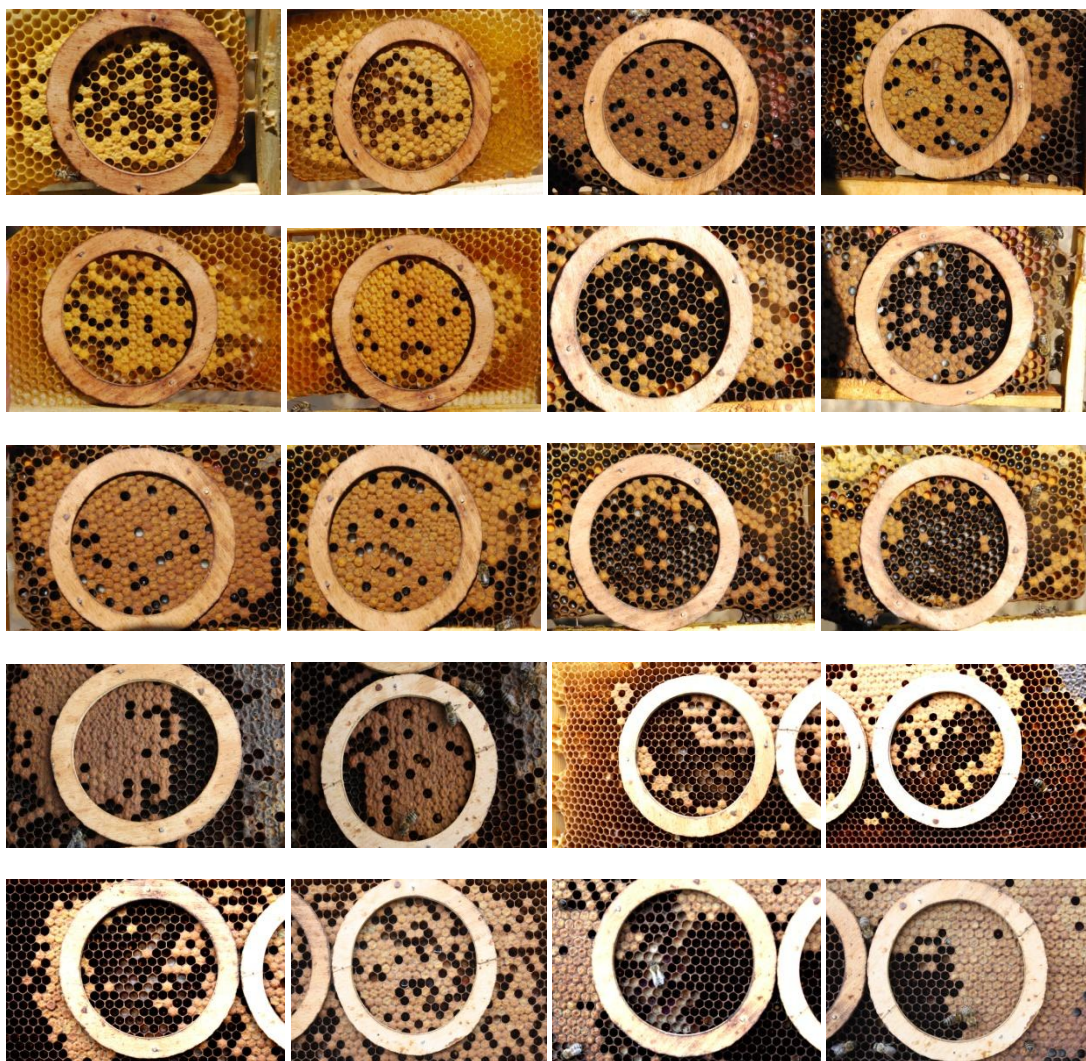


**Prilog 3-3.** Fotografije iz populacije Kastorija, ramovi na kojima su obavljena merenja praznih ćelija legla





**Prilog 3-4.** Fotografije iz populacije Larise, ramovi na kojima su obavljena merenja praznih ćelija legla



**Prilog 4.** Analitički podaci o broju odraslih pčela po regionama u ispitivanim kontrolnim pregledima pčelinjih društava po sezoni i godini merenja

Genotip	Sezona	Godina	Prosek	Std. Greška	
Arta	Septembar	2009-2010	20251,500	1955,404	
		2010-2011	18759,375	2186,208	
	Octobar	2009-2010	16905,000	1955,404	
		2010-2011	17034,375	2186,208	
	April	2009-2010	13075,500	1955,404	
		2010-2011	5865,000	3091,766	
	Maj	2009-2010	12316,500	1955,404	
		2010-2011	11988,750	3091,766	
	Halkidiki	Septembar	2009-2010	21355,500	1955,404
			2010-2011	21160,000	2061,177
Octobar		2009-2010	16180,500	1955,404	
		2010-2011	20355,000	2061,177	
April		2009-2010	28083,000	1955,404	
		2010-2011	12863,571	2337,155	
Maj		2009-2010	19941,000	1955,404	
		2010-2011	18630,000	2524,416	
Kastorija		Septembar	2009-2010	17836,500	1955,404
			2010-2011	16603,125	2186,208
	Octobar	2009-2010	19941,000	1955,404	
		2010-2011	14360,625	2186,208	
	April	2009-2010	27427,500	1955,404	
		2010-2011	4968,000	2765,359	
	Maj	2009-2010	16732,500	1955,404	
		2010-2011	11661,000	2765,359	
	Larisa	Septembar	2009-2010	16732,500	1955,404
			2010-2011	15309,375	2186,208
Octobar		2009-2010	15663,000	1955,404	
		2010-2011	15968,571	2337,155	
April		2009-2010	19078,500	1955,404	
		2010-2011	5244,000	2765,359	
Maj		2009-2010	15145,500	1955,404	
		2010-2011	12006,000	2765,359	

**Prilog 5.** Analitički podaci o broju ćelija sa leglom po regionama u ispitivanim kontrolnim pregledima pčelinjih društava po sezonama i godinama merenja

Genotip	Sezona	Godina	Prosek	Std. Greška	
Arta	Septembar	2009-2010	14644,000	807,148	
		2010-2011	9345,000	902,419	
	Octobar	2009-2010	13720,000	807,148	
		2010-2011	5425,000	902,419	
	April	2009-2010	15848,000	807,148	
		2010-2011	6090,000	1276,214	
	Maj	2009-2010	13552,000	807,148	
		2010-2011	11970,000	1276,214	
	Halkidiki	Septembar	2009-2010	12936,000	807,148
			2010-2011	10951,111	850,809
Octobar		2009-2010	13132,000	807,148	
		2010-2011	5631,111	850,809	
April		2009-2010	18256,000	807,148	
		2010-2011	9720,000	964,727	
Maj		2009-2010	15428,000	807,148	
		2010-2011	14093,333	1042,024	
Kastorija		Septembar	2009-2010	13580,000	807,148
			2010-2011	8540,000	902,419
	Octobar	2009-2010	17724,000	807,148	
		2010-2011	4165,000	902,419	
	April	2009-2010	15456,000	807,148	
		2010-2011	4648,000	1141,480	
	Maj	2009-2010	12292,000	807,148	
		2010-2011	9800,000	1141,480	
	Larisa	Septembar	2009-2010	11424,000	807,148
			2010-2011	8855,000	902,419
Octobar		2009-2010	12712,000	807,148	
		2010-2011	3920,000	964,727	
April		2009-2010	15484,000	807,148	
		2010-2011	4144,000	1141,480	
Maj		2009-2010	12180,000	807,148	
		2010-2011	10304,000	1141,480	

**Prilog 6.** Analitički podaci o broju ćelija sa medom po regionama u ispitivanim kontrolnim pregledima pčelinjih društava po sezonama i godinama merenja

Genotip	Sezona	Godina	Prosek	Std. Greška	
Arta	Septembar	2009-2010	21140,000	2978,676	
		2010-2011	19600,000	3330,261	
	Octobar	2009-2010	34650,000	2978,676	
		2010-2011	25200,000	3330,261	
	April	2009-2010	14840,000	2978,676	
		2010-2011	6825,000	4709,700	
	Maj	2009-2010	10920,000	2978,676	
		2010-2011	3850,000	4709,700	
	Halkidiki	Septembar	2009-2010	26180,000	2978,676
			2010-2011	36088,889	3139,800
Octobar		2009-2010	33670,000	2978,676	
		2010-2011	37022,222	3139,800	
April		2009-2010	24460,000	2978,676	
		2010-2011	8400,000	3560,199	
Maj		2009-2010	20900,000	2978,676	
		2010-2011	4433,333	3845,454	
Kastorija		Septembar	2009-2010	30520,000	2978,676
			2010-2011	27475,000	3330,261
	Octobar	2009-2010	53410,000	2978,676	
		2010-2011	30362,500	3330,261	
	April	2009-2010	22610,000	2978,676	
		2010-2011	5740,000	4212,484	
	Maj	2009-2010	20440,000	2978,676	
		2010-2011	3360,000	4212,484	
	Larisa	Septembar	2009-2010	30030,000	2978,676
			2010-2011	26250,000	3330,261
Octobar		2009-2010	44940,000	2978,676	
		2010-2011	30300,000	3560,199	
April		2009-2010	24500,000	2978,676	
		2010-2011	5600,000	4212,484	
Maj		2009-2010	19180,000	2978,676	
		2010-2011	2240,000	4212,484	

**Prilog 7.** Analitički podaci o broju ćelija sa polenom po regionama u ispitivanim kontrolnim pregledima pčelinjih društava po sezonama i godinama merenja

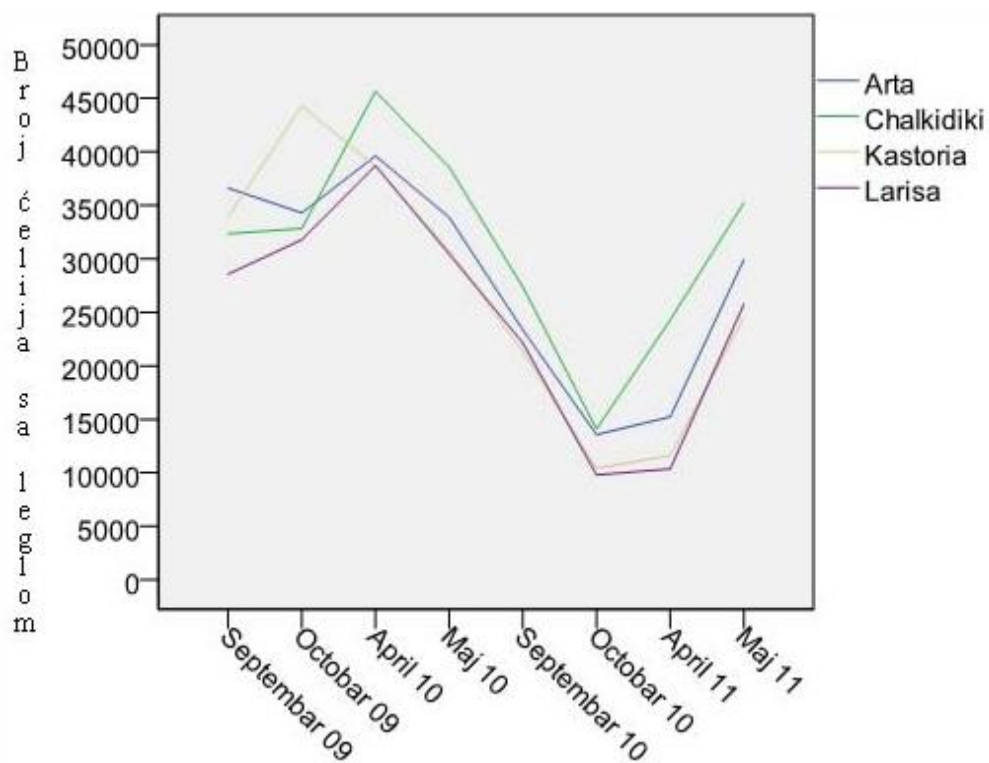
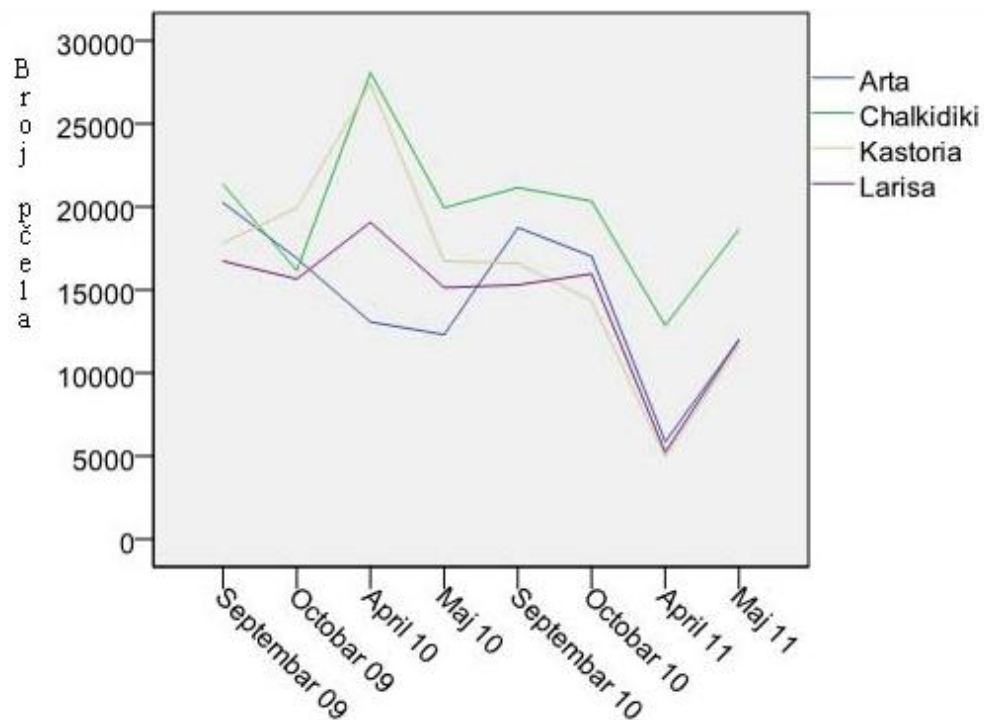
Genotip	Sezona	Godina	Prosek	Std. Greška	
Arta	Septembar	2009-2010	7630,000	1032,570	
		2010-2011	6912,500	1154,448	
	Octobar	2009-2010	2660,000	1032,570	
		2010-2011	1166,667	1885,206	
	April	2009-2010	2940,000	1032,570	
		2010-2011	1225,000	1632,636	
	Maj	2009-2010	5390,000	1032,570	
		2010-2011	3150,000	1632,636	
	Halkidiki	Septembar	2009-2010	13370,000	1032,570
			2010-2011	15322,222	1088,424
Octobar		2009-2010	8680,000	1032,570	
		2010-2011	5775,000	1154,448	
April		2009-2010	13650,000	1032,570	
		2010-2011	6100,000	1234,157	
Maj		2009-2010	14770,000	1032,570	
		2010-2011	9800,000	1333,042	
Kastorija		Septembar	2009-2010	9590,000	1032,570
			2010-2011	7087,500	1154,448
	Octobar	2009-2010	4200,000	1032,570	
		2010-2011	1750,000	1333,042	
	April	2009-2010	9310,000	1032,570	
		2010-2011	2800,000	1460,274	
	Maj	2009-2010	10570,000	1032,570	
		2010-2011	4060,000	1460,274	
	Larisa	Septembar	2009-2010	10080,000	1032,570
			2010-2011	9800,000	1154,448
Octobar		2009-2010	6720,000	1032,570	
		2010-2011	1633,333	1333,042	
April		2009-2010	9590,000	1032,570	
		2010-2011	1540,000	1460,274	
Maj		2009-2010	10150,000	1032,570	
		2010-2011	2800,000	1460,274	

**Prilog 8.** Analitički podaci o produktivnosti meda (kg) pčelinjih društava svakog regiona po godinama merenja

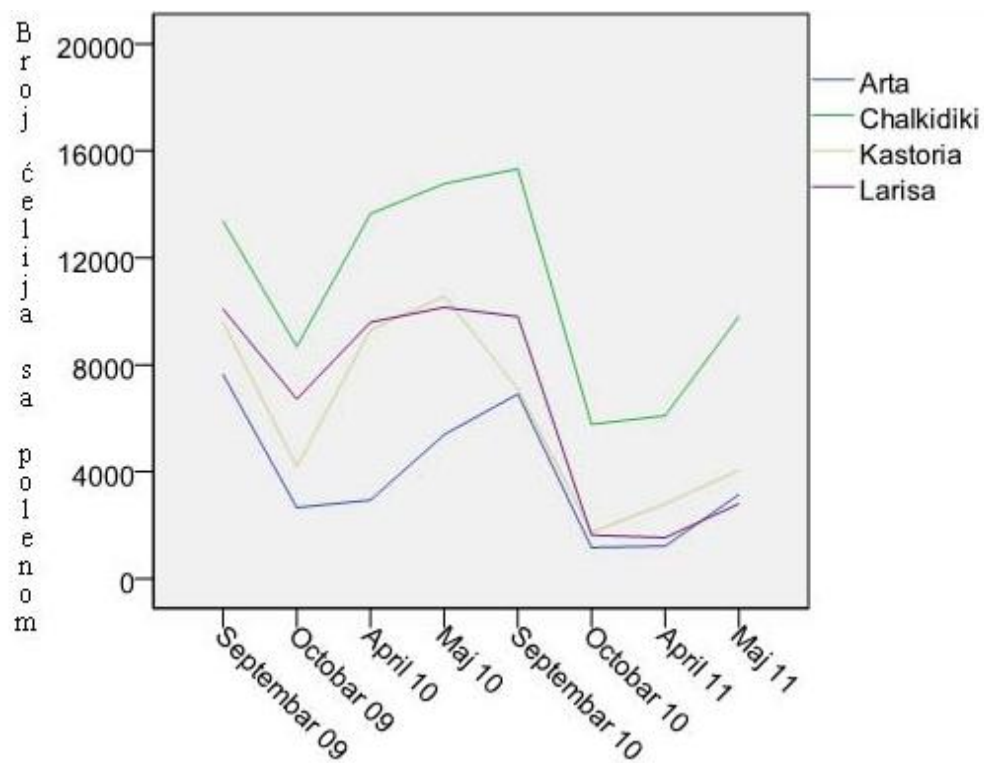
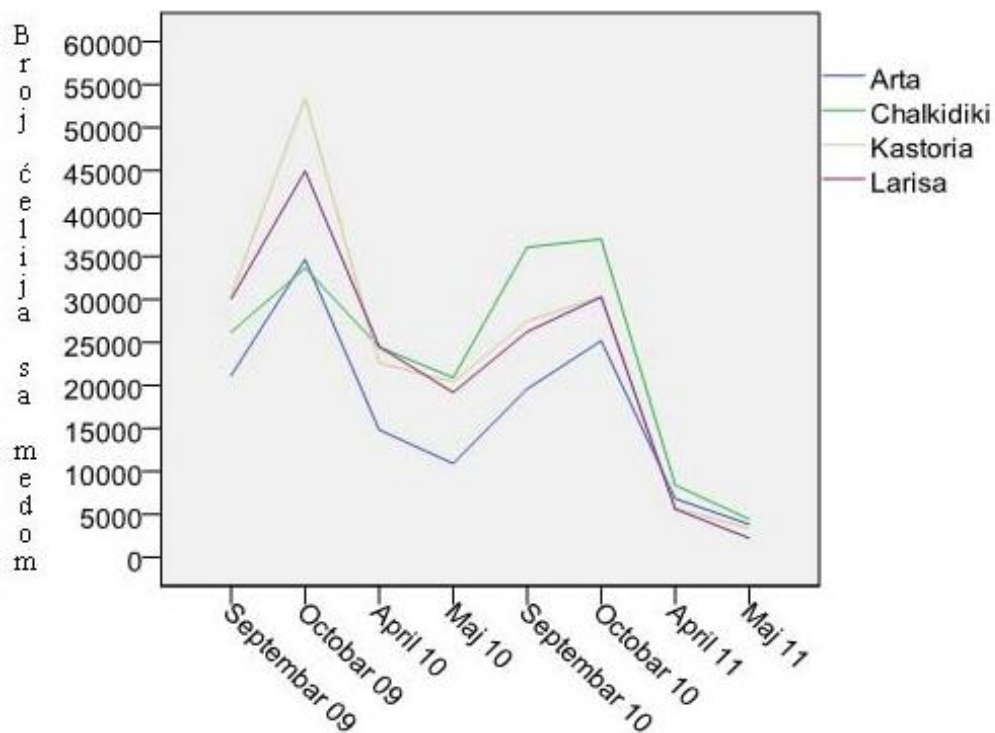
Genotip	Godina	Prosek	Std. Greška
Arta	2009-2010	1,650	0,200
	2010-2011	1,438	0,224
Halkidiki	2009-2010	1,950	0,200
	2010-2011	2,500	0,211
Kastorija	2009-2010	1,800	0,200
	2010-2011	1,563	0,224
Larisa	2009-2010	1,500	0,200
	2010-2011	1,143	0,239



**Prilog 9.** Grafički prikaz proizvodnih osobina po ispitivanim populacijama u periodu istraživanja



Nastavak priloga 9. Grafički prikaz proizvodnih osobina po ispitivanim populacijama u periodu istraživanja



**Prilog 10.** Analitički podaci za rojidbeni nagon pčelinjih društava svakog regiona u obe godine istraživanja.

Genotip	Godina	Prosek	Std. Greška
Arta	2009-2010	3,600	0,368
	2010-2011	2,200	0,368
Halkidiki	2009-2010	3,600	0,368
	2010-2011	2,800	0,368
Kastorija	2009-2010	3,300	0,368
	2010-2011	2,100	0,368
Larisa	2009-2010	2,700	0,368
	2010-2011	1,400	0,368

**Prilog 11.** Analitički podaci za očišćene ćelije legla nakon 24 časa po pčelinjim društvima svakog regiona po godinama merenja

Genotip	Godina	Prosek	Std. Greška
Arta	2009-2010	36,200	6,269
	2010-2011	33,000	9,912
Halkidiki	2009-2010	59,000	6,269
	2010-2011	45,000	8,093
Kastorija	2009-2010	48,800	6,269
	2010-2011	50,000	8,865
Larisa	2009-2010	57,800	6,269
	2010-2011	63,200	8,865

**Prilog 12.** Analitički podaci za očišćene ćelije legla nakon 48 časa po pčelinjim društvima svakog regiona po godinama merenja

Genotip	Godina	Prosek	Std. Greška
Arta	2009-2010	56,600	6,262
	2010-2011	47,000	9,901
Halkidiki	2009-2010	75,600	6,262
	2010-2011	64,667	8,084
Kastorija	2009-2010	70,200	6,262
	2010-2011	76,800	8,856
Larisa	2009-2010	79,600	6,262
	2010-2011	88,000	8,856

**Prilog 13.** Analitički podaci za brojnost pčelinjeg krpelja *Varroa destructor* u procentima (%)

Genotip	Godina	Prosek	Std. greška
Arta	2009-2010	19,920	2,339
	2010-2011	3,026	2,615
Halkidiki	2009-2010	19,720	2,339
	2010-2011	4,222	2,466
Kastorija	2009-2010	16,621	2,339
	2010-2011	2,400	2,615
Larisa	2009-2010	18,270	2,339
	2010-2011	2,286	2,796

**Prilog 14.** Analitički podaci za broj spora *Nosema* sp. po pčeli

Genotip	Sezona	Godina	Prosek	Std. greška
Arta	Septembar	2009-2010	10.704700,000	1187397,351
		2010-2011	6.790000,000	1327550,597
	Octobar	2009-2010	1.811050,000	1187397,351
		2010-2011	1.845125,000	1327550,597
Halkidiki	Septembar	2009-2010	10.235400,000	1187397,351
		2010-2011	5.426222,222	1251626,706
	Octobar	2009-2010	140.000,000	1187397,351
		2010-2011	739.666,667	1251626,706
Kastorija	Septembar	2009-2010	7.848.900,000	1187397,351
		2010-2011	5.757.750,000	1327550,597
	Octobar	2009-2010	351.700,000	1187397,351
		2010-2011	376.437,500	1327550,597
Larisa	Septembar	2009-2010	9.848.100,000	1187397,351
		2010-2011	5.369.428,571	1419211,285
	Octobar	2009-2010	551.700,000	1187397,351
		2010-2011	1.054.785,714	1419211,285

**Prilog 15.** Analitički podaci za osobine korišćene u klasičnoj morfometriji (prosečne vrednosti)

Parametar	Arta			Halkidiki			Kastorija			Larisa		
	2009	2010	Obe godine	2009	2010	Obe godine	2009	2010	Obe godine	2009	2010	Obe godine
<u>PREDNJE KRILO</u>												
DUŽINA(mm)	9,199	9,223	9,211	9,227	9,307	9,267	9,193	9,345	9,269	9,164	9,274	9,219
ŠIRINA(mm)	3,136	3,173	3,155	3,131	3,185	3,158	3,117	3,191	3,154	3,116	3,198	3,157
a (mm)	0,571	0,565	0,568	0,581	0,574	0,578	0,585	0,563	0,574	0,571	0,573	0,572
b (mm)	0,242	0,217	0,229	0,241	0,212	0,226	0,240	0,226	0,233	0,232	0,222	0,227
a/b	2,408	2,646	2,527	2,453	2,762	2,607	2,467	2,547	2,507	2,499	2,617	2,558
<u>JEZIK</u>												
DUZINA(mm)	5,682	5,576	5,629	5,749	5,422	5,585	5,801	5,929	5,865	5,699	5,705	5,702
<u>BAZITARSUS</u>												
DUZINA(mm)	2,069	2,051	2,060	2,039	2,066	2,052	2,045	2,067	2,056	2,039	2,065	2,052
SIRINA(mm)	1,201	1,157	1,179	1,191	1,162	1,176	1,194	1,182	1,188	1,196	1,157	1,176
<u>TIBIA</u>												
DUZINA(mm)	2,986	2,578	2,782	3,010	2,601	2,805	3,011	2,568	2,789	3,011	2,545	2,778
<u>FEMUR</u>												
DUZINA(mm)	2,544	3,115	2,830	2,535	3,138	2,837	2,536	3,084	2,810	2,553	3,044	2,799
Zadnje krilo												
DUZINA(mm)	6,417	6,725	6,571	6,385	6,802	6,593	6,337	6,807	6,572	6,398	6,805	6,602
SIRINA(mm)	1,887	1,974	1,930	1,879	1,992	1,936	1,859	2,018	1,939	1,865	2,019	1,942

**Prilog 16.** Analitički podaci za osobine korišćene u klasičnoj morfometriji (standardna greška)

Parametar	Arta			Halkidiki			Kastorija			Larisa		
	2009	2010	Obe godine	2009	2010	Obe godine	2009	2010	Obe godine	2009	2010	Obe godine
<u>PREDNJE KRILO</u>												
DUŽINA(mm)	0,0145	0,0127	0,0097	0,0141	0,0108	0,0092	0,0154	0,0133	0,0111	0,0142	0,0116	0,0097
ŠIRINA(mm)	0,0059	0,0053	0,0041	0,0060	0,0049	0,0042	0,0055	0,0053	0,0044	0,0066	0,0059	0,0050
a (mm)	0,0036	0,0034	0,0025	0,0043	0,0043	0,0030	0,0334	0,0036	0,0168	0,0036	0,0035	0,0025
b (mm)	0,0024	0,0019	0,0017	0,0022	0,0022	0,0018	0,0022	0,0024	0,0017	0,0020	0,0019	0,0014
a/b	0,0330	0,0332	0,0244	0,0339	0,0399	0,0276	0,1413	0,0378	0,0731	0,0310	0,0318	0,0224
<u>JEZIK</u>												
DUZINA(mm)	0,0571	0,0531	0,0390	0,0567	0,0521	0,0396	0,0555	0,0564	0,0397	0,0575	0,0561	0,0401
<u>BAZITARSUS</u>												
DUZINA(mm)	0,0067	0,0052	0,0043	0,0057	0,0086	0,0052	0,0057	0,0045	0,0037	0,0053	0,0044	0,0035
SIRINA(mm)	0,0067	0,0030	0,0039	0,0073	0,0030	0,0040	0,0065	0,0027	0,0035	0,0072	0,0031	0,0041
<u>TIBIA</u>												
DUZINA(mm)	0,0081	0,0080	0,0131	0,0071	0,0050	0,0126	0,0076	0,0063	0,0137	0,0095	0,0054	0,0145
<u>FEMUR</u>												
DUZINA(mm)	0,0099	0,0073	0,0176	0,0088	0,0073	0,0183	0,0084	0,0074	0,0168	0,0078	0,0057	0,0150
<u>Zadnje krilo</u>												
DUZINA(mm)	0,0125	0,0116	0,0123	0,0137	0,0103	0,0148	0,0298	0,0124	0,0211	0,0137	0,0104	0,0146
SIRINA(mm)	0,0043	0,0053	0,0042	0,0043	0,0050	0,0046	0,0048	0,0049	0,0057	0,0040	0,0047	0,0054

## Изјава о ауторству

Потписани Leonidas Charistos

број индекса 08/01

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

МОРФОЛОШКЕ, ГЕНЕТСКЕ И ПРОИЗВОДНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ПОПУЛАЦИЈА  
МЕДОНОСНИХ ПЧЕЛА (*Apis mellifera* L.) У ЗАВИСНОСТИ ОД САСТАВА  
ФИТОЦЕНОЗА СЕВЕРНЕ И ЦЕНТРАЛНЕ ГРЧКЕ

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, децембар 2013. године.



---



## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Leonidas Charistos

Број индекса 08/01

Студијски програм Воћарство и виноградарство

Наслов рада МОРФОЛОШКЕ, ГЕНЕТСКЕ И ПРОИЗВОДНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ  
ПОПУЛАЦИЈА МЕДОНОСНИХ ПЧЕЛА (*Apis mellifera L.*) У  
ЗАВИСНОСТИ ОД САСТАВА ФИТОЦЕНОЗА СЕВЕРНЕ И  
ЦЕНТРАЛНЕ ГРЧКЕ

Ментор проф. др. Мића Младеновић

Потписани Leonidas Charistos

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, децембар 2013. године.



## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

МОРФОЛОШКЕ, ГЕНЕТСКЕ И ПРОИЗВОДНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ПОПУЛАЦИЈА  
МЕДОНОСНИХ ПЧЕЛА (*Apis mellifera* L.) У ЗАВИСНОСТИ ОД САСТАВА  
ФИТОЦЕНОЗА СЕВЕРНЕ И ЦЕНТРАЛНЕ ГРЧКЕ

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(кратак опис лиценци дат је на следећој страници).

Потпис докторанда

У Београду, децембар 2013. године.



1. Ауторство - Дозвољава те умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољава те умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољава те умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољава те умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољава те умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољава те умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.