

Bioraznolikost sive pčele (*Apis mellifera carnica*) u Republici Hrvatskoj

Mečeri, Maja

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:759835>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-10**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Maja Mečeri

Preddiplomski stručni studij Zootehnika

Smjer Zootehnika

**Bioraznolikost sive pčele (*Apis mellifera carnica*)
u Republici Hrvatskoj**

Završni rad

Osijek, 2018.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Maja Mečeri

Preddiplomski stručni studij Zootehnika
Smjer zootehnika

**Bioraznolikost sive pčele (*Apis mellifera carnica*)
u Republici Hrvatskoj**
Završni rad

Osijek, 2018.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Maja Mečeri

Preddiplomski stručni studij Zootehnika
Smjer zootehnika

Bioraznolikost sive pčele u Republici Hrvatskoj
(*Apis mellifera carnica*)

Završni rad

Povjerenstvo za ocjenu završnog reda:

1. doc.dr.sc. Boris Lukić, mentor
2. prof.dr.sc. Zlatko Puškadija, član
3. doc.dr.sc. Nikola Raguž, član

Osijek, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
rad
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Preddiplomski stručni studij, smjer Zootehika
Maja Mečeri

Završni

Bioraznolikost sive pčele (*Apis mellifera carnica*) u Republici Hrvatskoj

Sažetak:

Siva pčela (*Apis mellifera carnica*) hrvatska je autohtona podvrsta (pasmina) medonosne pčele. Na području Republike Hrvatske utvrđena su tri njezina ekotipa (gorski, panonski i mediteranski), koji su se ovisno o klimi, vegetaciji te drugim geografskim obilježjima prilagodili lokalnim staništima. Gorski je ekotip rasprostranjen na području Like i Gorskog kotara, panonski na području kontinentalne Hrvatske te mediteranski na priobalnom i otočnom području. Analize mitohondrijske DNK, utvrdile su evolucijsku pripadnost sive pčele C-liniji te dvije subpopulacije u Dalmaciji. Međutim, sustavne i detaljne analize genetske raznolikosti sive pčele koristeći genetske markere u Hrvatskoj do danas nisu provedene. Cilj je ovog rada, pregledom dosadašnjih istraživanja prikazati stanje genetske raznolikosti na populaciji sive pčele u Republici Hrvatskoj te ukazati na važnost njenog očuvanja.

Ključne riječi: siva pčela, ekotip, bioraznolikost, genetska varijabilnost, Hrvatska

26 stranica, 5 tablice, 3 slike

Završni rad je pohranjen: u Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijeku

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
Undergraduate professional study Zootechnique
Maja Mečeri

BSc Thesis

Biodiversity of Carniolan honey bee (*Apis mellifera carnica*) in Republic of Croatia

Carniolan bee (*Apis mellifera carnica*) is a native subspecies of honey bee in Croatia. There are three different ecotypes of Carniolan bee in Croatia: Pannonian, Sub-alpine and Mediterranean. Sub-alpine ecotype is located in the area of Lika and Gorski Kotar, Pannonian ecotype in the continental area and Mediterranean ecotype on the coastal area and islands. Analyses based on mitochondrial DNA showed that Carniolan honey bee belongs to evolutionary C-lineage and that two separate subpopulations exists in Dalmatia. However, in Croatia, systematic and detailed analyses of genetic diversity of Carniolan honey bee using genetic markers have not been carried out. The aim of this review is to present the state of genetic diversity of the Carniolan bee population in Croatia and to point out the importance of its conservation.

Key words: Carniolan honey bee, ecotypes, biodiversity, genetic variability, Croatia

26 pages, 5 tables, 3 figures

Final work is archived in Library of Faculty of Agrobiotechnical Science in Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Science in Osijek

SADRŽAJ

1.	<u>UVOD</u>	1
2.	<u>TAKSONOMIJA</u>	2
3.	<u>ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA PČELA</u>	3
4.	<u>SIVA PČELA (<i>Apis mellifera carnica</i>)</u>	4
4.1.	<u>Svojstva sive pčele</u>	5
5.	<u>BIORAZNOLIKOST</u>	6
5.1.	<u>Brojnost sive pčele u RH</u>	7
5.2.	<u>Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj</u>	8
6.	<u>MORFOMETRIJSKA VARIJABILNOST</u>	10
6.1.	<u>Morfometrijske analize bioraznolikosti sive pčele</u>	10
6.2.	<u>Kubitalni indeks</u>	11
6.3.	<u>Dužina dlačica na petom kolutiću</u>	12
6.4.	<u>Dužina rilca</u>	12
6.5.	<u>Veličina goljenice zadnje noge</u>	12
6.6.	<u>Morfometrijske razlike ekotipova u Republici Hrvatskoj</u>	13
7.	<u>GENETSKA VARIJABILNOST</u>	14
7.1.	<u>Analiza bioraznolikosti sive pčele genetskim markerima</u>	15
7.2.	<u>Istraživanja u RH</u>	15
8.	<u>SELEKCIJA</u>	17
9.	<u>ZAKLJUČAK</u>	18
10.	<u>LITERATURA</u>	19

1. UVOD

U evoluciji biologije oduvijek su se vodile debate o genetičkoj raznolikosti među populacijama. U novijim istraživanjima su dokumentirani mnogi različiti DNK polimorfizmi u promatranim organizmima iako imamo vrlo malo saznanja o razlikama, funkciji, adaptaciji istih te fenotipskoj evoluciji. Takvo saznanje je potrebno kako bi se educirali o procesu adaptacije tijekom evolucije i specifikaciji podvrsta. Stoga, u

istraživanjima naglasak treba usmjeriti na molekularne metode koje su u korelaciji s geografskom rasprostranjenosti kako bi uvidjeli koliko su genetski udaljene vrste i njihove podvrste. Ova tema je od izuzetne važnosti biologima ali i ekonomistima.

Kranjska, medonosna ili siva pčela (*Apis mellifera carnica*) ključna je za suvremeni način pčelarenja, koja zbog dobrih bioloških i proizvodnih osobina omogućuje vrijedne proizvode animalnog podrijetla i smatra se jednim od najvažnijih oprašivača medonosnog uzgajanog i samoniklog bilja. Medonosna pčela (*Apis mellifera* L.) potječe s područja Afrike i Euroazije odakle je do danas raširena po ostalim kontinentima, postala je model koji pruža idealan sistem educiranja o tim dugo postavljanim pitanjima o bioraznolikosti. Medonosna pčela je i danas idealan edukativni model, jer je 2006. godine službeno objavljen sekvencirani genom medonosne pčele *Apis mellifera*. Taksonomija medonosne pčele određuje se analizom morfoloških svojstava na tijelu pčele, a do danas je već opisano 27 podvrsta (Ruttner, 1988., Sheppard i sur., 1997., Sheppard i Meixner, 2003., Meixner i sur., 2013.). Danas je poznato postojanje pet evolucijskih grana, od kojih se četiri nalazi oko Sredozemnog mora: afrička grana (A), sjeverna i zapadna europska grana (M), jugoistočna europska grana (C) i bliskoistočna grana (O) (Ruttner, 1988., Franck i sur., 2001.). Evolucijske grane su određene na osnovi morfoloških i genetskih osobina. Zapadnu i sjevernu Europu prirodno nastanjuju podvrste M evolucijske grane tamna europska pčela (*A. m. mellifera*) i iberijska pčela (*A. m. iberiensis*), dok središnju i jugoistočnu Europu prirodno nastanjuju pčele C evolucijske grane, talijanska pčela (*A. m. ligustica*), siva pčela (*A. m. carnica*), makedonska pčela (*A. m. macedonica*) i grčka pčela (*A. m. cecropia*).

2. TAKSONOMIJA

Taksonomija je znanstvena disciplina koja na temelju sličnosti i razlika taksonomske jedinice kategorizira i razvrstava u skupine koje su najčešće hijerarhijski strukturirane u odnosu roditelj-potomstvo. Linne je, 1758. godine, po prvi put primijenio binarni sustav klasifikacije životinja i u tom sustavu svakoj životinji data su dva imena. Tako je europska medonosna pčela dobila ime *Apis mellifera*. Prvo ili rodovsko ime (*Apis*) svrstava medonosnu pčelu s grupom drugih pčela, dok se drugim imenom (*mellifera*) definira kao posebna vrsta (Šimić, 1982.). Prihvaćena taksonomska podjela medonosne pčele je *Arthropoda*, razred *Insecta*. S obzirom na to da su pčelinja krila opnasta, pripada redu opnokrilaca (*Hymenoptera*). Ovom redu pripada puno vrsta socijalnih pčela sa i bez žalca, kao i bumbar. Svi se svrstavaju u porodicu pčela (*Apinae*). *Apinae* ima mnogo rodova, a za nas je od značaja rod *Apis* kojemu pripada Europsko-afrička medonosna pčela (*Apis mellifera carnica*). Detaljnu taksonomiju medonosne pčele možemo vidjeti u tablici 1.

Tablica 1. Taksonomija medonosne pčele (*Apis mellifera carnica*)

Apis mellifera carnica	
Carstvo	Animalia
Koljeno	Arthropoda
Razred	Insecta
Red	Hymenoptera
Podred	Apocrita
Natporodica	Apoidea
Porodica	Apidae
Potporodica	Apinae
Tribus	Apini
Rod	Apis
Vrsta	Apis mellifera
Podvrsta	Apis mellifera carnica

*Linee 1758., Pollman 1879.

3. ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA PČELA

Kukci su najbrojniji i najuspješniji razred člankonožaca (*Artropoda*), a karakteriziraju ih vanjski skelet ili kostur. Njihova su suprotnost kralježnjaci s unutarnjim skeletom koji omogućuje veću promjenu veličine organizma. Tijekom svog razvoja, dok je još u stanicu pčela nekoliko puta mijenja vanjski sloj. Boja hitina joj je crna, no kod nekih podvrsta su dijelovi tijela obojeni žuto ili narančasto, naročito prednji kolutići. Veći dio kože je prekriven gustim hitinskim dlačica, različitog su oblika i imaju važnu ulogu u sakupljanju peludi. Tijelo pčele je kao i kod svih kukaca bilateralno simetrično s dubokim usjecima jasno podijeljeno na tri djela: glavu (*coaput*), prsa (*thorax*) i zadak (*abdomen*). Na glavi su smještene tri jednostavna i dva složena oka, ticala i usni ustroj za uzimanje suhe i tekuće hrane. Izgrađena je od prvih šest kolutića, no kolutićavost se potpuno izgubila. Prsište je srednji dio tijela pčele koji na sebi nosi krila i noge, te građeno je od četiri kolutića. Stražnji dio nazivamo zadak, izgrađen je od devet kolutića od kojih nisu svi vidljivi. Kod matice i radilica vidi se svega šest kolutića, a kod trutova sedam. Zadak se prema kraju sužava, što pčeli omogućuje brzo letenje. Jedan od najvažnijih parametara za mjerenje morfometrije su krila koja su vezana za spojnu opnu drugog i trećeg kolutića prsišta, te se opisuju hitinske zračne vrećice. Na sebi imaju crna zadebljanja tj. vene koje služe za učvršćivanje, a kroz njih prolaze dušnici, krv i živci. Prednje krilo je veće od stražnjeg. Navedene karakteristike su od izuzetne važnosti, jer su one temelj u daljnjim istraživanjima bioraznolikosti u morfometrijskim ispitivanjima i molekularnim metodama.

4. SIVA PČELA (*Apis mellifera carnica*)

Siva pčela je podvrsta medonosne pčele koja prirodno nastanjuje područje južno od Alpa, sjeverno od Italije te istočno od Slovenije prema Rumunjskoj (Engel, 1999., Ruttner, 1988.), gdje su klimatske prilike karakteristične po dugim i ostrim zimama, te iznimno vrućim ljetima. U ovakvim su se okolnostima razvila i glavna prepoznatljiva svojstva ove pčele, vitalnost, te brza i energična reakcija na svaku promjenu u prirodi (Dražić i sur. 1998.). Osim navedenog, specifični su okolišni uvjeti ovog područja utjecali na razvoj tri ekotipa sive pčele: gorski, panonski te mediteranski. Gorski ekotip je rasprostranjen na području Like i Gorskog kotara, odlikuje se dobrim proljetnim razvojem, dobrim iskorištavanjem paše, jače izraženim nagonom za rojenje i mirnoćom. Panonski ekotip pronalazimo na području kontinentalne Hrvatske. Ona se nešto slabije roji, proljetni razvoj započinje ranije i sporije nego alpski tip. Mediteranski ekotip je na priobalnom i otočnom području. Proljetni je razvoj polaganiji, dosta se roji, nemirna je i više se zalijeće na povratku s pašnjaka u tuđe košnice. Zbog slabijih vjetrova, leti nisko pa u sakupljanju hrane pokriva manje područje. U Republici Hrvatskoj, siva pčela je priznata kao autohtona podvrsta (pasma) medonosne pčele i zakonski je zabranjen uvoz bilo koje druge podvrste (Uzgojni program sive pčele, 2005.). Sukladno tome razvijen je uzgojni program s ciljem očuvanja njezine genetske varijabilnosti i poboljšanja njenih svojstava (Uzgojni program sive pčele, 2005.). Siva pčela je dobila ime po kratkim sivim dlačicama obraslim po čitavom tijelu, čija se duljina kreće od 0,25 - 0,35 mm. Rilce joj je duljine od 6,4 – 6,8 mm, boja hitna joj je tamna, dok je prvi ledni poluprsten smečkasto-crvenkast ili tamniji s točkicama. Neka od najvažnijih bioloških svojstava sive pčele su slabo izražen obrambeni nagon, brzi proljetni razvoj, dobro zimovanje s malim brojem pčela, istaknut nagon za rojenjem, mirnoća na saću, razvijen osjećaj orijentacije te dobar prinos meda (Ruttner, 1988.). Zbog navedenih svojstava danas je jedna od najraširenijih podvrsta medonosne pčele. Zajednice kod medonosne pčele (*Apis mellifera carnica*) su izrazito produktivne jer daju visoke prinose meda kada vladaju povoljni uvjeti paše. Med poklapaju bijelim poklopcima, što je značajno kod proizvodnje meda u saću.



4.1. Svojstva sive pčele

Tablica 2. Poželjna i nepoželjna svojstva sive pčele

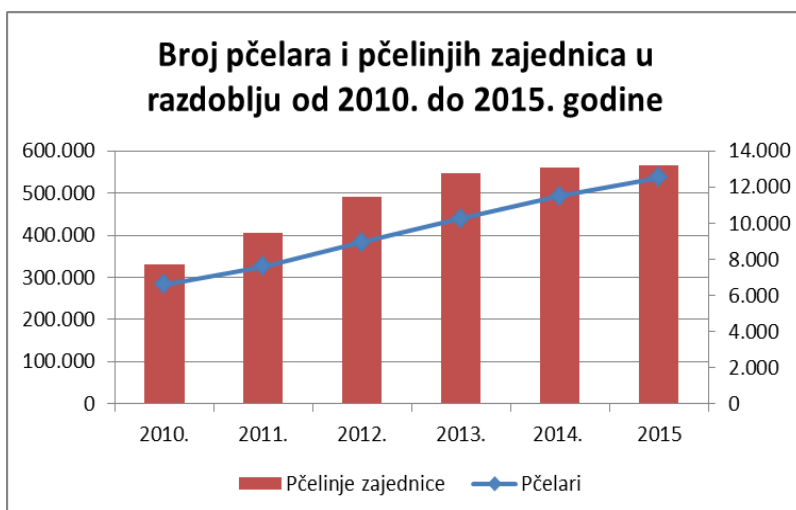
Poželjna svojstva	Nepoželjna svojstva
Nježna i neagresivna vrsta	Sklonija rojenju u slučaju prenatrpanosti košnice
Mogućnost držanja u naseljenim područjima	Slabo napredovanje zajednice ljeti
Bolja orijentacija od talijanske medonosne pčele	Teži pronalazak matice
Umanjeno zalijetanje u tuđe košnice	-
Nije sklona pljačkanju drugih košnica	-
Prezimljavanje s malim brojem pčela	-
Pogodna za područja s dužim zimama	-
Brzi nagoni ritam proizvodnje pčelinjih matice	-
Visoka urođena otpornost na bolesti legla	-
Visok prinos meda	-
Radilice u usporedbi s ostalim vrstama žive i do 12% duže	-

*Petar Matak, 2016: Proizvodne i biološke osobine sive pčele

5. BIORAZNOLIKOST

Bioraznolikost je sveukupnost svih živih organizama koji su sastavni dijelovi ekosustava, a uključuje raznolikost unutar vrsta, između vrsta, životnih zajednica te raznolikost ekosustava. Kao osnovu za bioraznolikost važno je naglasiti očuvanje vrsta jer su neke vrste ugrožene zbog izravnog utjecaja na njihove populacije (lov, uzimanje iz prirode, unos novih predatora u ekosustave u kojima ih prije nije bilo i sl.), a neke zbog neizravnih utjecaja kao što su gubitak staništa i klimatske promjene. S druge strane, osim očuvanja vrsta u slučaju njihove ugroženosti, u kontroliranim ekosustavima u slučaju medonosnih pčela, potrebno je kontrolirati stupanj srodstva između jedinki koji može negativno utjecati na brojnost i zdravlje populacije. Osim na ekosustav, gubitak biološke raznolikosti negativno utječe i na čovjeka. Siva pčela u Republici Hrvatskoj nije ugrožena podvrsta, no ne smijemo zaboraviti da se ovakva ravnoteža vrlo brzo naruši. Nacionalni pčelarski program vodi evidenciju o pčelinjim zajednicama i pčelarima a trend njihovog porasta se može vidjeti na slici 2. Vidljivo je da od 2014. do 2016. godine gdje je broj pčelara od početka primjene prethodnog programa od 1. rujna 2013. godine porastao za 28,5% a pčelinjih zajednica za 12,9%.

Slika 2. Broj pčelara i pčelinjih zajednica u razdoblju od 2010. do 2015. Godine



Izvor podataka: Hrvatski pčelarski savez, obrada Ministarstvo poljoprivrede

Da bi zaštitili svoje autohtone vrste moramo brinuti o staništu koje je sukladno Zakonu zaštititi prirode (NN, [15/2018](#)) definirano kao jedinstvena funkcionalna jedinica kopnenog ili vodenog ekosustava, određena geografskim, biotičkim i abiotičkim svojstvima. Zatim "Zaštita krajobraza" koja znači djelovanje, u cilju zaštite i održavanja značajnih ili karakterističnih obilježja, što se opravdava njegovom vrijednošću kao baštine, a koja je proizašla iz prirodne konfiguracije i/ili ljudske aktivnosti. Ljudska aktivnost je zasigurno najznačajniji utjecaj na bioraznolikost današnjih biljnih i životinjskih vrsta stoga je vrlo važno jasno i precizno definirati okvire njihovog iskorištavanja u skladu sa načelima očuvanja bioraznolikosti. U Republici Hrvatskoj izvorno živi siva pčela (*Apis mellifera carnica*), te je jedna od temeljnih obaveza očuvanja biološke raznolikosti ove podvrste poticanjem uzgoja i nabave matica, poštujući genotipove pčela, nastale i prilagođene različitim klimatskim regijama Hrvatske. Da je održavanje i očuvanje životinjskih vrsta važno govori nam i to da su Ujedinjeni narodi 22. svibanj obilježili kao Međunarodni dan bioraznolikosti s ciljem njezina očuvanja, održivog korištenja njenih komponenti te pravedne raspodjele dobrobiti koje proizlaze iz korištenja genetskih izvora.

5.1. Brojnost sive pčele u RH

U Republici Hrvatskoj zastupljeno je pretežno stacionarno pčelarstvo, gdje tek dio pčelara (24%) seli svoje pčelinje zajednice te se uz zastupljenost velikog broja pčelara hobista bilježi prosječan broj od 45 pčelinjih zajednica po pčelinjaku. Tijekom provedbe prethodnog pčelarskog programa zabilježene su ekstremne klimatološke promjene koje su se značajno odrazile na pčelarsku proizvodnju i proizvodnju meda, no usprkos tome broj pčelara i pčelinjih zajednica je održan na stabilnoj razini. Ako gledamo pčelarsku sezonu koja započinje u kolovozu pripremom pčelinjih zajednica za zimovanje, onda možemo vidjeti da se u zadnjih nekoliko godina javljaju određeni problemi naročito na stacionarnim pčelinjacima. Uslijed dužeg prestanka unosa nektara, matica u pravilu prestaje sa polaganjem jajašaca upravo u razdoblju kada je novo leglo izuzetno bitno. Upravo te pčele koje će se izleći tijekom kolovoza su zimske pčele o kojima ovisi kvalitetno prezimljavanje zajednice. U brojčano oslabljenim zajednicama, leglo najčešće njeguju iscrpljene i stare ljetne pčele sa nedovoljnim brojem mladih pčela, što ima direktan negativan utjecaj na razvoj zajednice. Takve su mlade pčele nedovoljno vitalne, kraćeg su životnog vijeka i podložnije obolijevanju. Ono što je sigurno i u što su se pčelari uvjerali posljednjih nekoliko sezona, je da pčelarenje po „šabloni“ nije održivo. Međutim, stalan porast broja pčelara i pčelinjih zajednica iz godine u godinu može se zahvaliti dobroj organiziranosti pčelara, potrebama tržišta i potporama ovom sektoru. Broj registriranih pčelara i pčelinjih zajednica u Republici Hrvatskoj je u porastu, što je posljedica interesa za pčelarstvo, ali isto tako i sve boljeg evidentiranja pčelara. U razdoblju od 2013. do kraja 2015. godine vidljiv je veći porast broja pčelara, a nešto manji porast broja pčelinjih zajednica. Očekuje se da će se ovaj trend nastaviti i u nadolazećem razdoblju novog Nacionalnog pčelarskog programa u razdoblju od 2017. do 2019. godine. Te će se na temelju njega izraditi novi statistički podaci o brojnosti sive pčele u Republici Hrvatskoj. Pretpostavka je da će bioraznolikost sive pčele i dalje biti u porastu usprkos raznim bolestima pčela (npr. *varoza*) i klimatskim promjenama. Ta ista pretpostavka dolazi zbog preventivnih stavki za navedene probleme u već navedenom novom, tekućem Nacionalnom pčelarskom programu.

Tablica 3. Broj pčelara i pčelinjih zajednica u razdoblju od 2013. do 2015. godine

Godina	2013.	2014.	2015.
Broj pčelara	10.265	11.505	12.526
Broj pčelinjih zajednica	547.281	560.424	564.736
Broj zajednica po pčelaru	53,32	48,71	45,09

*Hrvatski pčelarski savez, Evidencija pčelara i pčelinjaka-upis na dan 17. prosinca 2015. godine

5.2. Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj

Pčelarstvo, kao poljoprivredna grana, osim proizvodnje meda i drugih pčelinjih proizvoda, utječe na povećanu gospodarsku aktivnost zajednice, ruralni razvoj i održanje ekološke ravnoteže. Područje Hrvatske izvorno je područje nastanka sive pčele, te je i rezervoar genetske raznolikosti. Sukladno tome Siva pčela je zaštićena vrsta te se od 1994. provode praćenja proizvodnih i morfoloških odlika matica. Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj prati brojno stanje sive pčele te je istraživanjima u 2007. godini registrirano preko 314 000 pčelinjih zajednica s pokretnim saćem kod 3390 pčelara (HPA, 2008.). U odnosu na protekle godine zabilježen je značajan porast broja registriranih pčelinjih zajednica i pčelara. Uzgoj matica pčela provode registrirani uzgajivači matica s ciljem poboljšanja gospodarskih odlika, a godišnje uzgoje od 20000 do 25000 matica. U svom nacionalnom programu navode kako siva pčela prema broju zajednica nije ugrožena, no zbog specifičnosti parenja (za vrijeme leta slobodno u prirodi) treba zaštititi cijelo područje od unošenja drugih pasmina pčela. Uz to, potrebna je dodatna briga zbog ugroženosti pčela novim bolestima i štetnicima, te stanjem okoliša. Uz to navode kako zaštititi izvorne populacije pčela treba poduzeti/provoditi neke od slijedećih mjera: kontinuiran nadzor populacijskih pokazatelja (struktura, trendovi, pojave gubitaka), provođenje uzgojno selekcijskog rada sukladno zadanim uzgojnim programskim smjernicama, nastavak karakterizacije vanjštine, proizvodnih obilježja i genetskog profila, razvijanje i podržavanje programa gospodarskog korištenja, promoviranje pasmine i proizvoda, razvijanje i integracija sekundarnih uporabnih programa (turizam i manifestacije), razvijanje i integracija programa održavanja bioraznolikosti zaštićenih područja, provođenje istraživačkih i edukacijskih aktivnosti te pohranjivanje genetskog materijala u banku gena.

6. MORFOMETRIJSKA VARIJABILNOST

Morfometrija je znanost koja matematičko-sistematskim metodama proučava varijabilnost između jedinki pčela i koristi se kao metoda u provođenju selekcije. Početak proučavanja medonosnih pčela i njezinih podvrsta temeljilo se na deskriptivnim metodama koje su zbog nepouzdanosti bile zamijenjene morfometrijskim metodama (Ruttner, 1988.). Morfometrija kod pčela proučava kvantitativne i kvalitativne fenotipske karakteristike poput dužine i širine tijela te boje i građe tijela. U početku se upotrebljavao mali broj morfoloških karakteristika, no taj se broj postepeno povećavao, do danas je poznato 42 morfometrijska mjerenja. Samim razvojem ove metode do danas je opisano 26 podvrsta pčela (Ruttner, 1988., Shepard i sur.1992., Engel 1992., Sheppard i Meixner 2003.), kako je rasprostranjenost povezana geografskim područjima znanstvenici su ovo istraživanje proveli na temelju iste. Najtočnija i najinformativnija je DAWINO metoda koja je pogodna

za razlikovanje pčela unutar iste linije (Uzonov i sur., 2009.).

6.1. Morfometrijske analize bioraznolikosti sive pčele

Prije pojave genetskih markera, u analizama bioraznolikosti pčela, najčešće su se koristile metode morfometrijske analize brojnih kvantitativnih i kvalitativnih fenotipskih svojstava. Najčešće korištena morfometrijska analiza za utvrđivanje podvrsta pčela je morfometrija krila. Usporedbom rezultata mjerenja dužine krila moguće je utvrditi razliku subpopulacija pčela iz različitih regija, na temelju čega je razvijena referentna baza svojstava sive pčele (Tablica 4.). Rezultati ovakvih istraživanja utvrdili su postojanje 3 ekotipa sive pčele u Hrvatskoj: gorski, panonski te mediteranski (Dražić i sur. 1998., Ruttner, 1988.).

Tablica 4. Dužina krila između ekotipova sive pčele

Ekotip	N	Dužina krila (mm)	Istraživanje
Alpski (Austrija)	21	9,403	Ruttner, 1988.
Panonski (Mađarska)	16	9,265	
Mediteranski (Hrvatska)	6	9,177	
Gorski (Hrvatska)	209	9,263	Dražić i sur. (1998.; 1999.)
Panonski (Hrvatska)	210	9,198	
Mediteranski (Hrvatska)	210	9,157	

* u zagradi su navedene lokacije uzorkovanja

Slika 3. Rasprostranjenost ekotipova u Republici Hrvatskoj

Izvor: Puškadija i sur. 2018.

6.2. Kubitalni indeks

Sljedeći od morfometrijskih parametara je utvrđivanje kubitalnog indeksa, koji predstavlja odnos stranica a i b treće kubitalne stanice na prednjem krilu pčele radilice, a mjeri se na reprezentativnom broju radilica. Prosječni kubitalni indeks za sivu pčelu kod radilica iznosi 2,7, stoga se može uočiti utjecaj, odnosno introgresija tamne europske pčele (*A. m. mellifera*) čiji kubitalni indeks iznosi 1,7, te talijanske pčele (*A. m. ligustica*) čiji kubitalni indeks iznosi 2,3 (Uzgojni program sive pčele, 2005.). U selekciji je kubitalni indeks od velikog značaja, jer nam govori o genetskoj pripadnosti pčela. Gajger (2007.) je ispitivao kubitalni indeks pčela kontinentalne Hrvatske te dolazi do rezultata da se njegova vrijednost kretala od 1,4 do 3,9. Tada dolazi do saznanja da svega 25,6% pčela pripada

kranjskoj podvrsti, a 61,8% pčela nalazi u zoni preklapanja sa drugim podvrstama. Osim u kubitalnom indeksu, duljina dlačica na petom kolutiću je osobina po kojoj se siva pčela razlikuje od tamne europske pčele. Po duljini dlačica na petom kolutiću razlikujemo pčele s dugim, srednje dugim i kratkim dlačicama. Duljina dlačica kod tamne europske pčele je od 0,4 mm do 0,6 mm, dok je kod sive pčele ta duljina od 0,25 mm dok 0,35 mm. Oko 2/3 sive pčele je sa kratkim dlačicama, dok su kod tamne pčele rezultati potpuno drugačiji tj. obrnuti. Osim u kubitalnom indeksu i dlačica na petom kolutiću, razlike između podvrsta i ekotipova postoje i u drugim morfometrijskim svojstvima: boja kolutića, širina tomentuma na četvrtom kolutiću, duljina, duljina rilca, veličina goljenice zadnje noge, dumb-bell indeks i diskoidalni pomak, a neke od navedenih su prikazane u tablici 5.

6.3. Dužina dlačica na petom kolutiću

Dužina dlačica na petom kolutiću je osobina po kojoj se ova pasmina pčela razlikuje od tamne europske pčele. Kod kranjske pčele dužina dlačica je 0,25 – 0,35 mm. Oko 2/3 ovih pčela je sa kratkim dlačicama.

6.4. Dužina rilca

Dužina rilca utječe na prinos meda. Kranjska pčela ima rilce dužine 6,4 - 6,8 mm.

6.5. Veličina goljenice zadnje noge

Veličina goljenice posredno utječe na prinos meda. Utvrđeno je da površina goljenice u prosjeku kod kranjske pčele iznosi 2,647 mm², a volumen kuglice peludi 1,54 - 2,89 mm³, što jasno pokazuje da pčele s većom goljenicom mogu donijeti više peludi.

Tablica 5. Osnovni morfometrijski parametri sive pčele (Uzgojni program sive pčele, 2005.)

Parametar	Radilica	Trut	Matica
Masa (g)	0-1	0,	0,2
Duljina (mm)	12-14	15-17	15-20
Duljina dlačica (mm)	0,25-0,35	-	-
Duljina rilca (mm)	6,4-6,8	-	-
Kubitalni indeks	2,4-3,0	1,8-2,3	-
Diskoidalni pomak	Pozitivan	Pozitivan	-
Dumb-bell indeks	0,8-1,2	-	-

6.6. Morfometrijske razlike ekotipova u Republici Hrvatskoj

U radu Dražić i sur. (1998.) provedeno je opsežno morfometrijsko istraživanje na 629 pčela radilica. U istraživanju su mjerena širina, dužina i površina prednjeg krila, dužina i površina bedra, goljenice i zastopalja te širina goljenice i zastopalja stražnje noge. Najviše vrijednosti dužine i širine mjerenih svojstava nogu utvrđene su kod mediteranskog ekotipa, dok su kod gorskog bile najniže. S druge strane, vrijednosti dužine i površine krila bile su najniže kod mediteranskog ekotipa. Klaster analizom je utvrđena velika varijabilnost te značajne razlike mjerenih svojstava pčela iz mediteranskog područja u odnosu na pčele podrijetlom iz panonske i gorske regije, između kojih varijabilnost nije bila izražena.

7. GENETSKA VARIJABILNOST

Genetska varijabilnost kod životinjskih vrsta sastoji se iz dvije komponente, prvenstveno genetskih razlika između vrsta, te jedinki unutar vrsta (Schhef, 1995.). Stoga, primarni cilj istraživanja varijabilnosti je izučavanje razlika među populacijama unutar vrste. Odnosno, genetska varijabilnost se odnosi na stanje ili mogućnost mijenjanja jednog živog sustava – jedinki i njihovih populacija tokom vremena. Definira se i kao mjera tendencije individualnih genotipova u populaciji da se međusobno razlikuju. Ispitivanjem bioraznolikosti u Velikoj Britaniji utvrđeno je da smanjenje broja i genetske varijabilnosti pčela direktno utječe na smanjenje broja biljnih vrsta koje isključivo zavise od oprašivanja uz pomoć insekata (Biesmeijer i sur., 2006.). Smanjenjem broja pčela kao glavnih oprašivača biljnih kultura može se očekivati i postepeno smanjenje bioraznolikosti onih biljaka koje direktno zavise od oprašivanja putem insekata. Stoga, da se zaključiti da je istraživanje genetske varijabilnosti od izuzetne važnosti za očuvanje bioraznolikosti medonosne pčele u Republici Hrvatskoj kako i zbog samog pčelarstva i pčelinjih proizvoda, tako i zbog korelacije između biljaka i medonosnih pčela, koje su neophodne za opstanak određenih biljnih vrsta. Izučavanje genetske bliskosti vrsta osigurava korisne informacije o evoluciji vrsta, razvoju vezanih gena, kao i o veličini genetskih razlika (Blott i sur., 1998.). Vrste jedinstvene evolucijske povijesti potencijalno mogu biti vrijedne za očuvanje genetske raznolikosti na razini vrste, ali i za programe uzgoja u cilju poboljšanja određenih svojstva kroz heterozis efekt (Hall i Bradley, 1995.). Moguće je i proučavanje negativnih učinaka unutar populacijske genetske varijabilnosti, do koje dolazi putem genetskog drifta ili zamjene prirodno vezanih gena, uslijed favoriziranja određenih linija unutar vrste (Blott i sur., 1998.). Na ovaj način su nastale razlike između vrsta, što znači da genetske razlike nisu uvijek uzrokovane jedinstvenom filogenezom tj. procesom povijesnog postanka (evolucije) sistematskih skupina (rodova, porodica, redova, razreda, koljena) biljnih i životinjskih vrsta.

7.1. Analiza bioraznolikosti sive pčele genetskim markerima

Prva su se istraživanja genetske varijabilnosti kod pčela temeljila na utvrđivanju varijabilnosti aloenzima (Mestriner, 1969.). Aloenzimi ili alozimi su oblici enzima različitih struktura koji imaju istu funkciju te su kodirani različitim alelima istog genskog lokusa. Ovi uobičajni biološki enzimi pokazuju visoku razinu funkcionalne konzervacije kroz određene skupine i carstva živih bića. Fitogenetičari ih koriste kao molekularne markere za procjenu evolucijske povijesti i odnosa između različitih vrsta. Ovakve razlike se mogu uočiti jer alozimi ne posjeduju istu strukturu te se mogu odvojiti gel elektroferezom. Važnost gel elektrofereze u studijima je od neizmjerne važnosti jer radi na principu električnog polja u kojem se DNK molekula kreće kroz smjesu. Kraću DNK fragmenti se kreću mnogo brže od dužih fragmenata, jer je kraćim fragmentima lakše kretati se kroz istu smjesu. Proteini se također mogu razdvojiti na ovaj način, zbog njihovog naboja i veličine. Različiti oblici alozima služili su istraživačima kao markeri za dublji uvid o genetskim razlikama između populacija te postojanju mogućeg križanja s pčelama iz drugih populacija. U ovim su analizama najčešće korišteni lokusi za malat-dehidrogenazu (Mdh) i heksokinazu (Hk). Sheppard i Berlocher (1989.) utvrdili su polimorfizme na sedam aloenzimskih lokusa s pomoću kojih je moguće razlikovati različite vrste pčela. Osim za utvrđivanje vrsta pčela, relativno uspješno, ove su metode korištene i za utvrđivanje podvrsta medonosnih pčela u Europi (Cornuet i sur., 1986., Ivanova i sur., 2007.). Međutim, često su postizale slabiju preciznost (Coelho i Mitton, 1988.) te se stoga smatraju neprikladnim za utvrđivanje ekotipova sive pčele.

7.2. Istraživanja u RH

Na području Hrvatske provedeno je nekoliko istraživanja genetske varijabilnosti sive pčele koristeći genetske markere. Genetski marker može biti kratka sekvenca DNK, kao što je sekvenca koja okružuje jednu promjenu baznog para (SNP) ili drugi poput mikrosatelitnih markera te markere mitohondrijske ili mtDNK (Sušnik i sur. 2004., Munoz i sur. 2009.).

Mikrosatelitni markeri su kratki ponavljajući segmenti DNK koji se razlikuju između individua brojem ponavljanja. Mitohondrijska DNK se nasljeđuje samo preko majke, stoga se zbog specifičnosti genetike pčela prema kojoj i radilice i trutovi potječu od iste matice te imaju i iste mtDNK, vrlo često koriste u genetskim istraživanjima medonosnih pčela. Najčešće se u analizi haplotipova mtDNK koristi varijabilnost unutargenske regije COI-COII (citokrom c oksidaze – podjedinice 1 i 2) te unutargenske regije tRNA^{leu}. Ovisno o utvrđenim genotipovima, određuje se pripadnost jednoj od 5 evolucijskih linija ili mitotipova: A, M, C, O i Y (Franck i sur. 2001.). Prema ovoj klasifikaciji, siva pčela pripada mitohondrijskoj liniji C. S obzirom na opisanu metodologiju, u Sloveniji su provedena genetska istraživanja sive pčele (Sušnik i sur. 2004.) na slovenskoj i dijelu hrvatske populacije pčela te je utvrđena niska varijabilnost mikrosatelitnih lokusa sugerirajući visoku genetsku sličnost između populacija. Međutim, u istom je istraživanju utvrđena značajna genetska razlika populacija u odnosu na populaciju makedonske pčele (*A. m. macedonica*). U istraživanju Pentek-Zakari i sur. (2015.) na mađarskoj populaciji sive pčele koristeći 9 mikrosatelita te varijabilnosti COI genske regije mtDNK, utvrđena je genetska homogenost populacije sive pčele uz vrlo male utjecaje introgresije drugih europskih podvrsta. Munoz i sur. (2009.) su na osnovu mitohondrijskog markera utvrdili evolucijsku pripadnost sive pčele C-liniji te dva odvojena ekotipa sive pčele u Dalmaciji. Pored ovih metoda u analizama genetske varijabilnosti sive pčele, moguće je koristiti i SNP markere (polimorfizme jednog nukleotida). Analiza SNP-ova korištena je u tek nekoliko studija na pčelama, te se pokazala kao vrlo prikladna metoda u identifikaciji podvrsta i ekotipova pčela (Munoz i sur., 2015., Munoz i sur., 2016.). SNP-ovi se pojavljuju uzduž cijelog genoma i kao takvi omogućavaju upotrebu snažnijih i sveobuhvatnijih pristupa istraživanja. Također, ovi markeri omogućuju utvrđivanje većeg broja genotipova u odnosu na mikrosatelite ili mitohondrijsku DNK stoga nude višu rezoluciju i pouzdanije te točnije procjene genetskih i populacijskih parametara. U projektu BioBeeCro iz kojeg je proizašao ovaj završni rad, detaljno će se analizirati genetska varijabilnost sive pčele koristeći SNP markere, što će uvelike pomoći u očuvanju genetske varijabilnosti sive pčele kao i u unaprjeđenju uzgojnih postupaka u Republici Hrvatskoj.

8. SELEKCIJA

U očuvanju vrsta ključni pojam je heritabilitet, glavna mjera kvantitativnih svojstava izražena kao proporcija genotipske varijabilnosti u ukupnoj fenotipskoj varijabilnosti. Koristi se u procjeni uzgojnih vrijednosti za kvantitativna svojstva. Razlikujemo heritabilitet u užem smislu koji predstavlja omjer aditivne i fenotipske varijacije. Kako bi dobili što kvalitetnije jedinke provodimo selekciju. Cilj selekcijskog uzgoja su pojačati ekspanziju poželjnih svojstava u pčelinjoj zajednici, primjenom tehnika koje rezultiraju genetskim poboljšanjem. U slučaju pčela selektivnim uzgojem se sustavno sparuju izabrane matice i trutovi, kako bi se proizvele radilice s poželjnim svojstvima. Selekcija je vrlo bitna u uzgoju autohtonih vrsta, u ovom slučaju sive pčele, kako bi zadržali čistu liniju te održali njezinu bioraznolikost. Selekcija pčelinjih zajednica koja bi predstavljala početak uzgojnih linija može biti komplicirana, jer su one pod utjecajem okolišnih, prirodnih i nekontroliranih uvjeta, stoga je njihovo ponašanje rezultat utjecaj raspoloživih resursa i vanjskih uvjeta. U prethodnim istraživanjima je prikazano da se pasmine znakovito razlikuju u ponašanju. Razlike su posljedice evolucije pasmina zbog zemljopisne izolacije i različitih ekoloških uvjeta koji vrše određene selektivne pritiske na varijabilna svojstva. Svaka je podvrsta prilagođena okolišu i klimatskim uvjetima u kojima obitava, te je upravo to razlog zašto su ponekad unutar pasmine pojavljuju ekotipovi (Guzman Novoa, 2011.). Cilj je da se selekcijskim uzgojem matice sive pčele potakne i osnaži daljnji razvoj pčelarstva i poboljša proizvodnja pčelarskih proizvoda koja će rezultirati uvijek većim ekonomskim i financijskim rezultatima, te novim profesionalnim radnim mjestima u pčelarstvu. Da bi se zadržale dobre strane sive pčele, a umanjile loše, potrebno je provoditi sustavnu selekciju. Kroz duži period selekcije nastoji se: smanjiti rojevni nagon, povećati otpornost na bolesti, povećati proizvodnu sposobnost, povećati proljetni razvoj, smanjiti agresivnost i povećati mirnoću pčelinje zajednice. Za suvremeno pčelarstvo sve ove pozitivne osobine su važne jer o njima ovisi krajnji rezultat, odnosno količinu proizvedenog meda po jednom pčelinjoj zajednici (Velagić, 1999.). Kod sive pčele bilježi se visok prinos meda, a rezultati određenih istraživanja sugeriraju kako se prosječna vrijednost unesenog nektara nakon tri godine selekcijskog rada najčešće udvostručuje.

9. ZAKLJUČAK

Prema dosadašnjim istraživanjima, koja su se uglavnom temeljila na morfometrijskim mjerenjima, u Hrvatskoj postoji 3 ekotipa sive pčele: gorski, panonski i mediteranski. Analize mitohondrijske DNK, utvrdile su evolucijsku pripadnost sive pčele C-liniji te dvije subpopulacije u Dalmaciji. Međutim, sustavne i detaljne analize genetske raznolikosti sive pčele koristeći genetske markere u Hrvatskoj do danas nisu provedene. Također, fenotipska varijabilnost sive pčele u Hrvatskoj, s obzirom na njenu geografsku rasprostranjenost do danas je slabo istraživana, stoga je cilj ovog preglednog rada ukazati na važnost očuvanja bioraznolikosti sive pčele u Republici Hrvatskoj. Istraživanje u okviru projekta BioBeeCro, s visokom će preciznošću koristeći SNP markere analizirati bioraznolikost populacije i rasprostranjenost ekotipova prema genetskim i morfološkim svojstvima. Ujedno će se preciznim utvrđivanjem ekotipova omogućiti njihovo daljnje testiranje i genetsko vrednovanje s obzirom na pripadnost pojedinoj geografskoj regiji.

Ovaj Završni rad je proizašao kao rezultat projekta „Bioraznolikost populacije medonosne pčele (Apis mellifera carnica) u Republici Hrvatskoj (BioBeeCro)“ financiranog od strane Agencije za plaćanje u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju, iz kojeg je objavljen znanstveni rad na Znanstveno stručnom skupu: Poljoprivreda u zaštiti prirode i okoliša, Vukovar, Croatia, 2018., pod naslovom: Genetska raznolikost sive pčele (Apis mellifera carnica) u Republici Hrvatskoj, autora: Maja Mečeri, Marin Kovačić, Zlatko Puškadija, Nikola Raguž, Boris Lukić.

10. LITERATURA

1. [Blott S.C.](#), [Williams J.L.](#), [Haley C.S.](#) (1998); Genetic relationships among European cattle breeds. *Animal genetic*. 29: 273-282
2. Bromenshenk JJ, Lockwood-Ogan N (1991); The sonic digitizer as an alternative method to assess honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony dynamics. *J Econ Entomol* 83 (5), 1791-1794
3. Bubalo D., Dračić M., Kezić N. (2002.): Brood development of different carniolan bee ecotypes (*Apis mellifera carnica* Pollmann, 1879) (227-123.str.)
4. Coelho, J.R., Mitton, J.B. (1988.) Oxygen consumption during hovering is associated with genetic variation of enzymes in honey bees. *Funct Ecol*, 2, 141–

5. Cornuet, J.M., Daoudi, A., Chevalet, C. (1986.): Genetic pollution and number of matings in a black honey bee (*Apis mellifera mellifera*) population, *Theor Appl Genet*, 73, 223–227.
6. Dražić, M. M., Bubalo, D., Kezić, D., Odak, M., Grbić, D., Kezić, N. (1998.): Morfometrijska prepoznatljivost mediteranskog ekotipa sive pčele (*Apis mellifera carnica*). Zbornik sažetaka : XXXIV Znanstveni skup hrvatskih agronoma, 338-338. Zagreb, 1998.
7. Dražić, M. M., Bubalo, D., Kezić, N. (1999.): Diversity of Carnolian bee (*A.m. carnica*) in Croatia. *Proceedings Apimondia 99, Congress XXXVI, Vancouver*.
8. Engel, S.M. (1999.): The Taxonomy of Recent and Fossil Honey Bees (Hymenoptera: Apidae; Apis). *Hym. Res Vol. 8(2)*, 165-196.
9. Franck, P., Garnery, L., Loiseau, A., Oldroyd, B.P., Hepburn, H.R., Solignac, M., Cornuet, J.M. (2001.): Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data, *Heredity*, 86 (4), 420–430.
10. Gajić, S. B. (2016.): Ispitivanje genetičke varijabilnosti i korelacije haplotipova medonosne pčele *Apis mellifera* i pčelinjeg krpelja *Varroa destructor*. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine. Beograd, 2016.
11. Guzman Novoa E. (2011); *Elemental genetics and breeding for the honeybee*. Bayfield, Ontario, Canada
12. Guzmán-Novoa E., Correa B.A., Espinosa M.L.G., Guzmán N.G. (2011): Colonization, impact and control of Africanized honey bees in Mexico
13. Ivan Pihler (2011.): Genetic and morphometric characteristics of two types of cornual bees (27-22.str).
14. Ivanova, E.N., Staykova, T.A., Bouga, M. (2007.): Allozyme variability in honey bee populations from some mountainous regions in the southwest of Bulgaria. *J. Apic. Res.*, 46, 3–7.
15. Jeffrey, E. P., (1958): A shaped wire grid for estimating quantities of brood and pollen in combs. *Bee World*, 39(5): 115-118
16. Matak, P. (2016.): Proizvodne i biološke osobine sive pčele 5-20 str. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet.
17. Meinxer M. i sur. (2013.); Honey bee genotypes and the environment. (83-187.str.)
18. Meixner, M.D., Pinto, M.A., Bouga, M., Kryger, P., Ivanova, E., Fuchs, S. (2013.): Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. 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(4): 2013.
19. Mestriner, M.A. (1969.): Biochemical polymorphism in bees (*Apis m. ligustica*), *Nature*, 223, 188–189.
20. Muñoz, I., Dall’Olio, R., Lodesani, M., De la Rúa, P. (2009.): Population genetic structure of coastal Croatian honeybees (*Apis mellifera carnica*), *Apidologie*, 40 (6), 617–626.
21. Munoz, I., Henriques, D., Jara, L., Spencer, J.J., Chavez-Galarza, J., De La Rua, P., Pinto, A.M. (2016.): SNPs selected by information content outperform randomly selected microsatellite loci for delineating genetic identification and introgression in the endangered dark European honeybee (*Apis mellifera mellifera*). *Molecular Ecology Resources*, 17(4): 783-795.

22. Munoz, I., Henriques, D., Spencer, J.J., Chavez-Galarza, J., Kryger, P., Pinto, A.M. (2015.): Reduced SNP Panels for Genetic Identification and Introgression Analysis in the Dark Honey Bee (*Apis mellifera mellifera*). PloS ONE 10(4): e0124365.
23. Nacionalni pčelarski program za razdoblje od 2017-2019. godine
24. Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj (Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja)
25. Nikšić M. (2018.): Comparison of biological traits of three breeding lines of Carniolan bee (*Apis mellifera carnica* P. 1879)
26. Nolan, W.J., (1925); The brood rearing cycle of the honeybee. USDA Bull., 1349 (9): 1-56
27. Ohlemüller R., Edwards M., Peeters T., Schaffers A.P., Potts S.G. (2006.): Parallel Declines in Pollinators and Insect-Pollinated Plants in Britain and the Netherlands
28. Pentek-Zakar, E., Oleksa, A., Borowik, T., Kusza, S. (2015.): Population structure of honey bees in the Carpathian Basin (Hungary) confirms introgression from surrounding subspecies. Ecology and Evolution 2015 5(23). 5456–5467.
29. Puskadija Z, Kovacic M, Tucak K, Bozuz N, and Lukic B (2018): Biodiversity of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the Balkans. International Journal of Bee Research. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
30. Sympson, J.A., and Oldroyd, B.P. (2017): The evolution of honey bees (*Apis mellifera ruttneri*, a new subspecies from the Balkans). International Journal of Bee Research. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
31. Beekunze, M., and Oldroyd, B.P. (2017): The evolution of honey bees (*Apis mellifera ruttneri*, a new subspecies from the Balkans). International Journal of Bee Research. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
32. ne
33. ho
34. an
35. be
36. Sušnik, S., Kozmus, P., Poklukar, J., Meglič, V. (2004.): Molecular characterisation of indigenous *Apis mellifera carnica* in Slovenia, Apidologie, 35, 623–636.
37. Uzgoj pčela: sistematika i anatomija, Zadar 2017. (<http://www.unizd.hr/Portals/41/Uzgoj%20pcela.pdf?ver=2017-12-29-124751-707>) pristupljeno 2.9.2018.
38. Uzgojni program sive pčele (2005.): Udruga uzgajivača selekcioniranih matica pčela Hrvatske, Zagreb.
39. Uzonov A., Kiprijanovska H., Adonov S., Naumovski M., Gregorc (2009.): Morphological diversity and racial determination of the honey bee (*Apis mellifera* L.) population in the Republic of Macedonia.

