

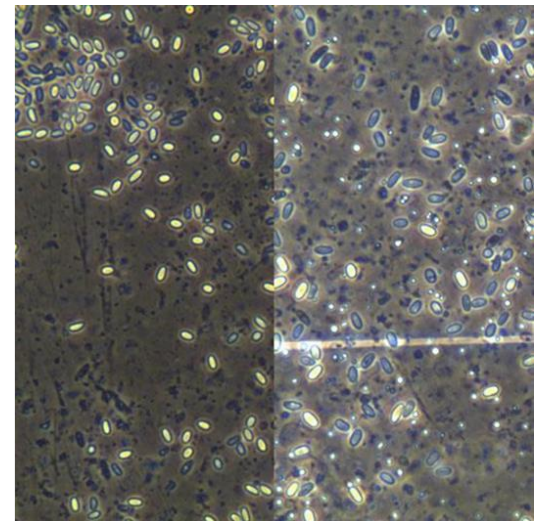
Ugotavljanje okužbe s sporami *Nosema* spp.

MATERIAL:

- Terilnica in pestilo
- Čaša in plastična pipeta
- Pinceta
- Objektno in pokrovno steklo
- Svetlobni mikroskop
- Voda
- Čebele

POSTOPEK:

- Naberemo skupni vzorec čebel (30-35)
- S pinceto ločimo zadek od telesa
- Dodamo 2 do 3 ml vode in s pestilom pregnetemo (maceriramo) zadke
- S pestilom zajamemo macerat in tri kapljice kanemo na objektno steklo
- Na kapljice položimo pokrovna stekelca



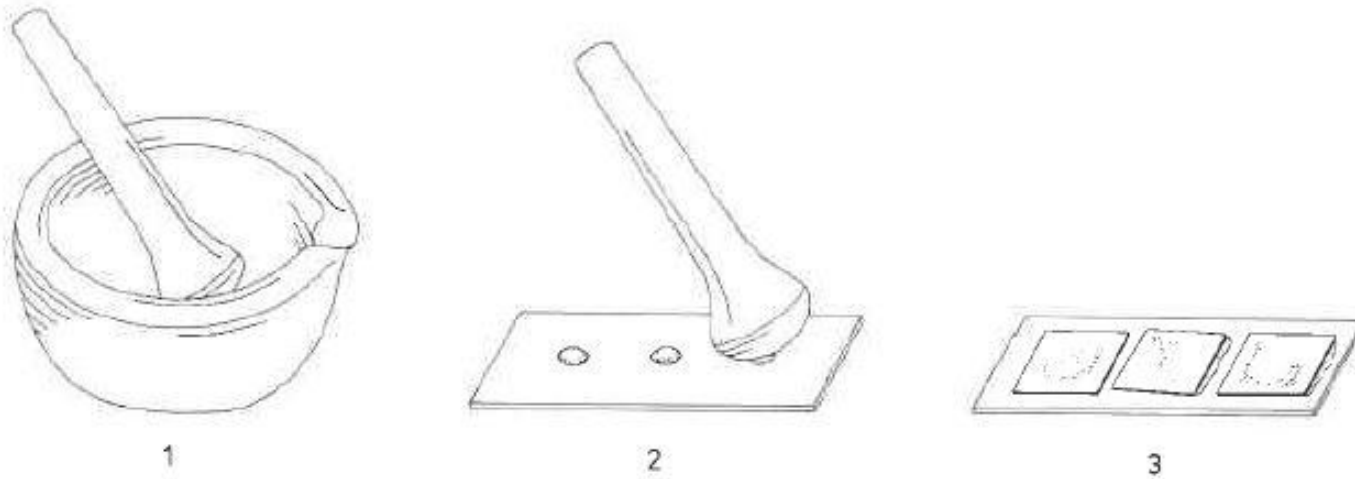


Abb. 77: Bei der Nosema-Sammeluntersuchung zerreibt man die Hinterleiber von 30 Bienen mit etwas Wasser in einem Porzellanmörser (1), tupft nebeneinander 3 Tropfen von dem entstandenen Brei auf einen Objektträger (2) und deckt mit je einem Deckglas ab (3).

Weiss, 1990

Postopek priprave vzorca iz zadkov čebel.

- A – majhna okužba (+)
- B – srednja okužba (++)
- C – močna okužba (+++)

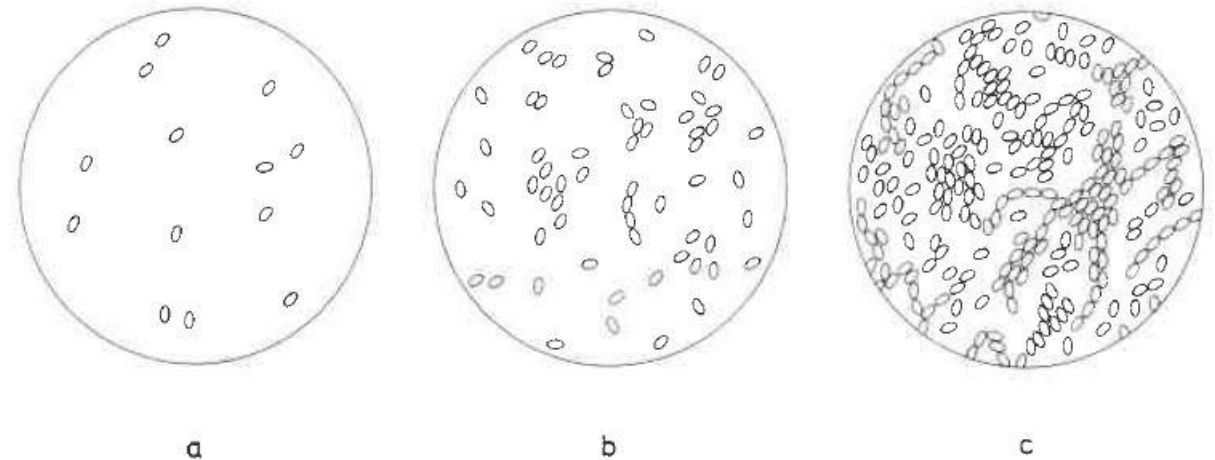


Abb. 78: Befallsstadien der Nosematose: a) schwacher, b) mittlerer, c) starker Befall. 400-fache Vergrößerung.

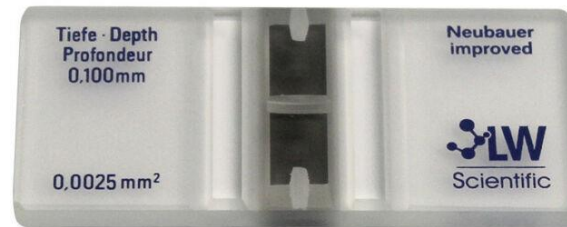
Pogled skozi mikroskop pri 400x povečavi.

Weiss, 1990

Določanje števila spor *Nosema* po Cantwellu, 1970

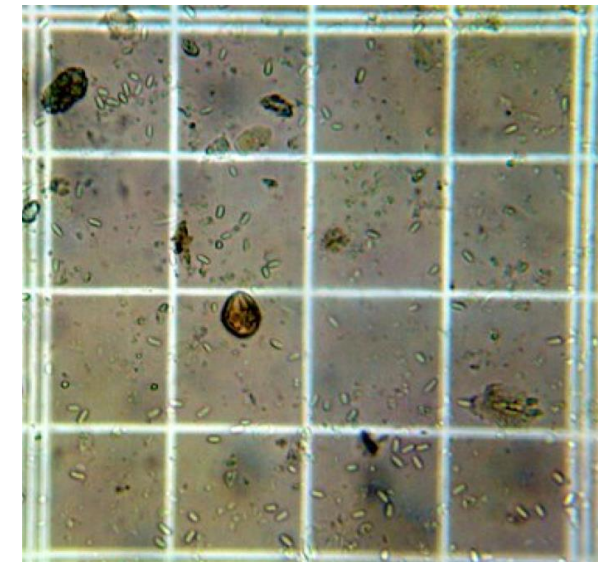
Material

- Terilnica in pestilo
- Cedilo
- Merilni valj
- Pincete
- Hemocitometer
- Svetlobni mikroskop
- Voda
- Čebele

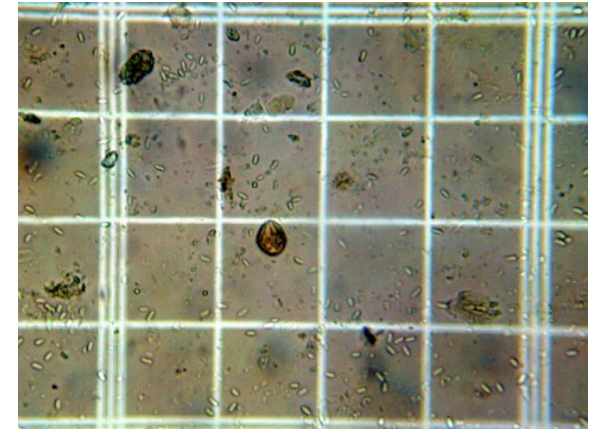


Določanje števila spor *Nosema* *po Cantwellu, 1970*

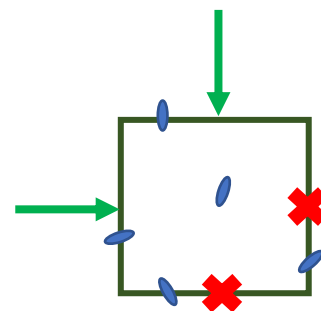
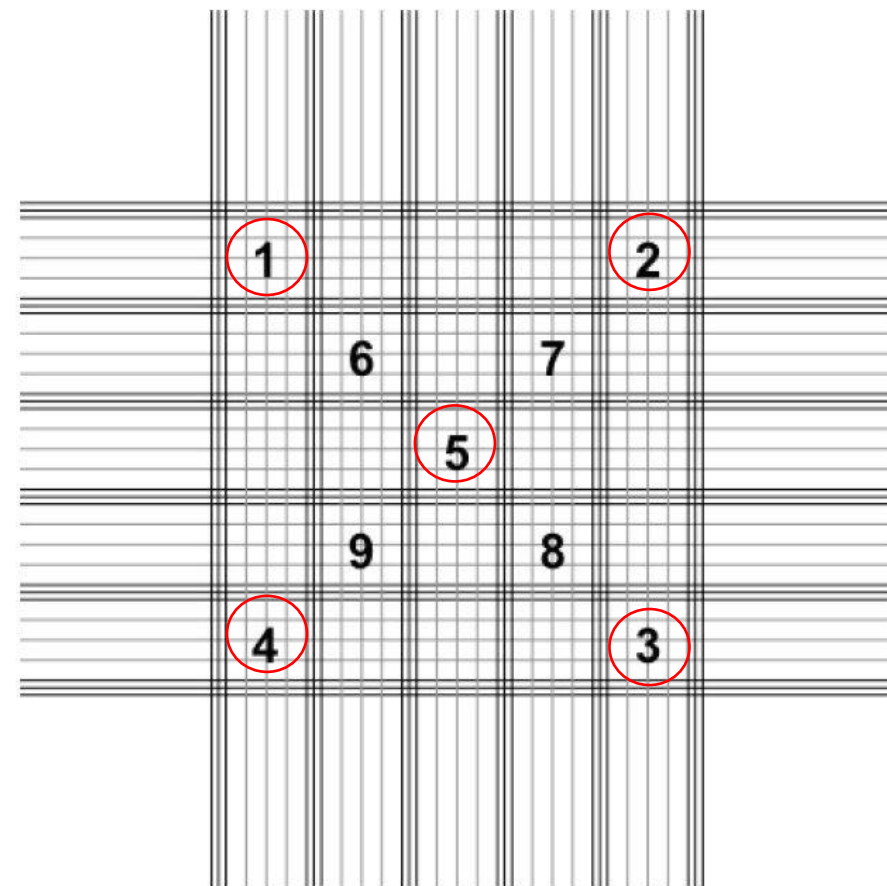
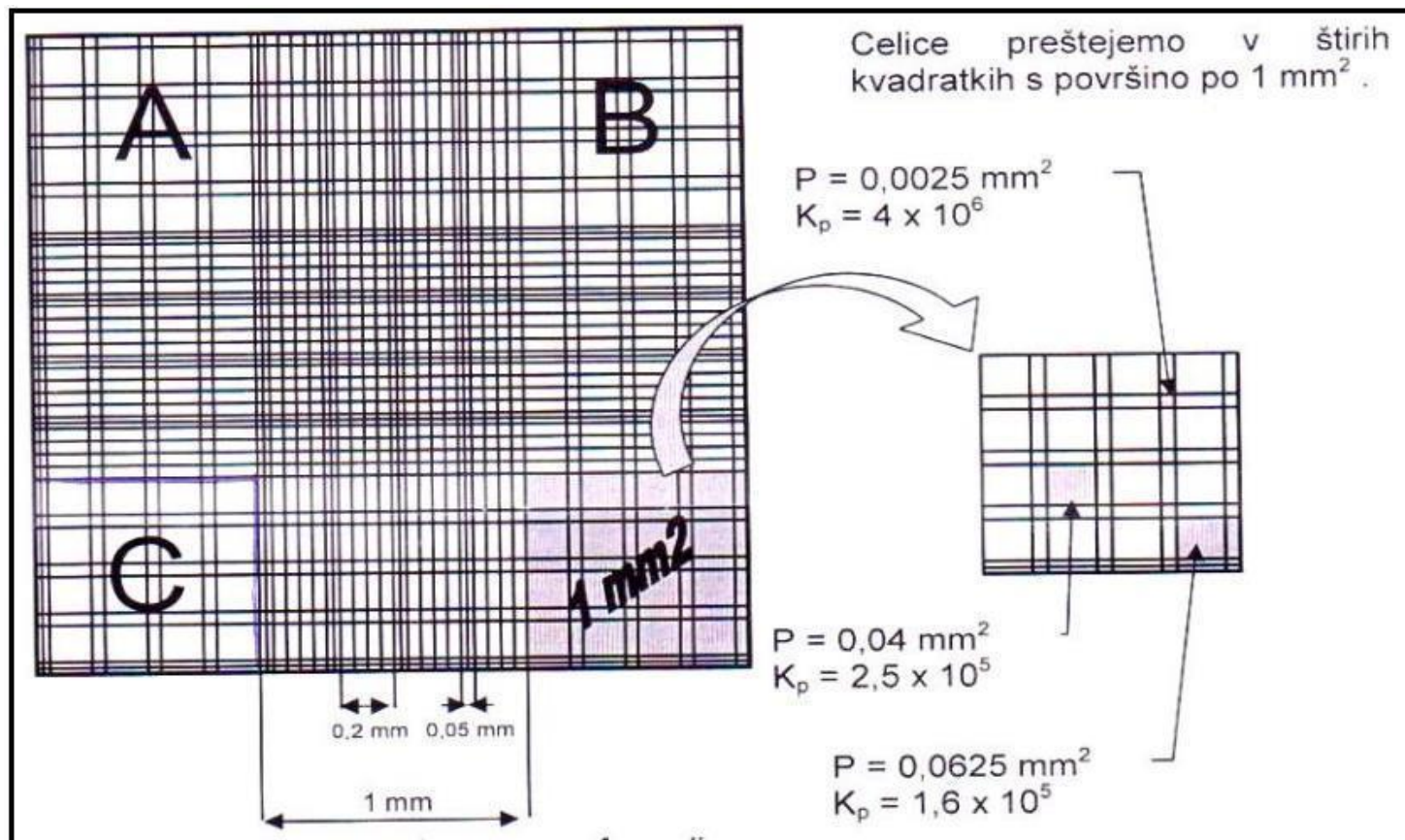
- Čebele s prilagojenim sesalcem nabereмо pred žrelom panja (starejše čebele) ali pozimi mrtvice na podnici panja
- V terilnici pripravimo vzorec zadkov (25)
- V merilnem valju pripravimo enako št. ml vode (kot je zadkov)
- Zadkom dodamo majhno količino vode in jih temeljito zgnetemo s pestilom, da dobimo suspenzijo
- Suspenzijo precedimo skozi sito, da se izločijo večji delci, ostanki zadkov
- Suspenziji dodamo preostalo vodo, s katero istočasno spiramo tudi pestilo, terilnico in sito
- S pestilom zajamemo v homogeno suspenzijo in kapljico prenesemo na hemocitometer



Določanje števila spor *Nosema* *po Cantwellu, 1970*



- S pokrovnim stekelcem pokrijemo merilno površino hemocitometra in počakamo minuto ali več, da spore sedimentirajo
- S svetlobnim mikroskopom nastavimo na 400x povečavo in preštejemo spore v petih kvadratih (v štirih vogalnih in enem notranjem)
- Vsoto spor v petih kvadratih delimo s 5 in povprečno število spor/kvadrat vpišemo v preglednico



Določanje števila spor *Nosema* po Cantwellu, 1970

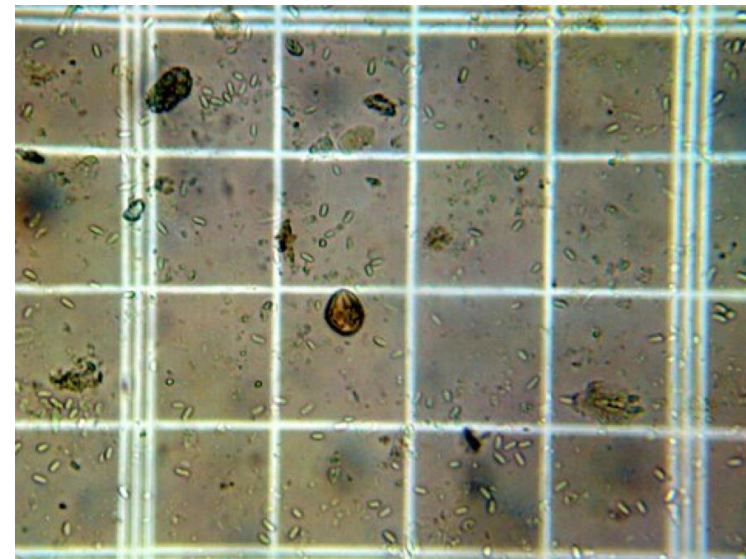
- Upoštevamo mere hemocitometra (Bürker):
 $P=0,04 \text{ mm}^2$, $h=0,1 \text{ mm}$, $V=0,004 \text{ mm}^3$
- Izračun:

$V=0,2 \times 0,2 \times 0,1 = 0,004 \text{ mm}^3 \Rightarrow 1 \text{ kvadrat je } 1/250 \text{ od } 1 \text{ mm}^3$

Povpr. št. spor/kvadrat $\times 250 \times 1000 = \text{št. spor/ml}$

ali

Povpr. št. spor/kvadrat / 4 = št. spor/ml



Datum odvzema vzorca	Polja					Povp. št. spor $\times 10^6$
	1	2	3	4	5	