



Valters Brusbārdis

# BIŠU MĀŠU MĀKSLĪGĀ APSEKLOŠANA

2017



ELGF Kopējā tirgus organizācijas pasākuma  
"Atbalsts biškopības nacionālajai programmai" ietvaros

VALTERS BRUSBĀRDIS

Foto: Valters Brusbārdis un Juris Šteiselis

Zīmējumi: Rita Kalniņa

# BIŠU MĀŠU MĀKSLĪGĀ APSEKLOŠANA

2017



ELGF Kopējā tirgus organizācijas pasākuma "Atbalsts biškopības  
nacionālajai programmai" ietvaros



# SATURS

IEVADS .....	4
1. IESKATS VĒSTURĒ .....	5
2. BIŠU MĀŠU UN TRANU DABĪGĀS PĀROŠANĀS BIOLOĢIJA .....	6
3. NEPIECIEŠAMAIS INVENTĀRS .....	12
3.1. Mikroskops .....	12
3.2. Mikroskopa lampa .....	14
3.3. Anestēzijas iekārta .....	14
3.4. Apsūklošanas aparāts .....	16
3.5. <i>Harbo</i> šprice .....	17
3.6. Darba šķīdumi un medikamenti .....	19
3.7. Sīkais inventārs .....	19
4. SAGATAVOŠANĀS DARBI .....	21
4.1. Tranu un bišu māšu audzēšana .....	21
4.2. Darbi laboratorijā .....	24
4.2.1. Fizioloģiskā darba šķīduma pagatavošana .....	24
4.2.2. <i>Harbo</i> šprīces salikšana .....	24
4.2.3. <i>Swienty</i> apsūklošanas ierīces sagatavošana darbam .....	29
4.2.4. Mikroskopa sagatavošana darbam .....	30
5. SPERMAS IEGŪŠANA .....	30
6. APSŪKLOŠANA .....	36
6.1. Bišu mātes turētājcaurules lietošana .....	37
6.2. Dzeloņa kambara atvēršana .....	40
6.3. Spermas ievadīšana .....	42
6.4. Bišu mātes izcelšana no aparatūras .....	43
7. MARĶĒŠANA .....	45
8. <i>HARBO</i> ŠPRICES TĪRĪŠANA .....	48
9. ATKĀRTOTA ANESTĒZIJA .....	50
10. BIŠU MĀTES KVALITĀTES PĀRBAUDE .....	51
10.1. Dēšanas kvalitātes pārbaude .....	51
10.2. Spermas uztvērēja pārbaude .....	52
11. BIŠU MĀŠU PIEVIENOŠANA BIŠU SAIMEI .....	53
LITERATŪRA .....	54

# IEVADS

Garajā biškopības attīstības vēsturē Latvijas biškopji ir pratuši apgūt visa veida biškopības produkcijas ražošanu, tai skaitā tādu izsmalcinātu produktu kā bišu indes un peru pienaīa ražošanu. Ne gluži visu attīstītu pasaules valstu biškopības industrijas var ar to lepoties!

Gadu gaitā ir izstrādātas gan efektīvas bišu saimju apkopes, gan bišu māšu audzēšanas tehnikas. Tā vien šķiet, ka viss apgūts. Bet ne gluži! Bišu selekcija, kas arī ir uzskatāma par vienu no augstākajām prasmēm biškopības industrijā, Latvijā ir pieticīgi, lai neteiktu vāji attīstīta, un tā tas ir bijis vēsturiski. Šodien blāvu gaismas staru smalkajā bišu selekcijas virzienā ienes Latvijas Biškopības biedrības ciltsdarba programma un atsevišķi biškopji entuziasti.

Kādēļ Latvijas biškopības industrijā vērojama šāda pasivitāte bišu selekcijas jomā? Iemesli vairāki, bet, pēc darba autora domām, nespēja viegli kontrolēt bišu māšu pārošanās procesu ir galvenais cēlonis nopietnas selekcijas sistēmas trūcumam valstī.

Diemžēļ Latvijas ģeogrāfiskie apstākļi nav pateicīgi dabisku kontrolētu bišu māšu pārošanās staciju izveidei. Lai arī atsevišķi biškopji šodien valstī jūras piekrastē mēģina ierīkot un ziņo par sekmēm kontrolētas bišu māšu pārošanās stacijas izveidē, tomēr vēsturiski labas pieredzes šajā ziņā mums nav.

Atzīsim, ka no vēstures ir jānācās un praktiski Latvijas bišu māšu audzētāju drāvās vienīgais drošais risinājums bišu māšu pārošanās procesa kontrolei ir mākslīgā apsēklošana – metodika, kas rietumu pasaules bišu māšu audzēšanas un selekcijas industrijās pazīstama jau no pagājušā gadsimta vidus posma. Latvijā bišu māšu mākslīgā apsēklošana iezagās 20. gadsimta beigu posmā ar pētniecību saistītās institūcijās, tomēr tālākā attīstība līdz šodienai bijusi gausa!

Nevainosim zinātniskās iestādes un pētniekus un nekavēsimies pagātnē, labāk ieskatīsimies nākotnē – labas bišu māšu audzētāju zināšanas un prasmes bišu māšu mākslīgajā apsēklošanā ir priekšnosacījums bišu selekcijas attīstībai valstī, un uz to arī tieksimies!

Darba autors bišu māšu mākslīgās apsēklošanas izsmalcināto un elegantu tehniku apguva 2004. gadā šī aroda profesionāļa, Lietuvas kolēģa Jonasa Balžekas vadībā. Tas vainagojās panākumiem, un turpmākajos trīs gados iegūtās zināšanas un prasmes bišu māšu mākslīgajā apsēklošanā izdevās nostiprināt praksē Latvijas Lauksaimniecības universitātes drāvā, strādājot pie Latvijas vietējās medus bites populācijas selekcijas. Papildus daudz lasīts un studēts, it īpaši zinības gūtas, studējot tādu dižgaru kā Harry Laidlaw, John Harbo un Susan Cobey neskaitāmās publikācijas. Bet ko līdz zināšanas un prasmes, ja tās nepielieto vai neatdod citiem, lūk, ar šo darbu iegūtās zināšanas vēlos nodot jums, BIŠKOPJIEM, klusu cerot, ka šis nelielais solis palīdzēs spert plašāku soli bišu selekcijas attīstībai valstī.

Pirms sāku stāstīt pašu stāstu, nevaru klusēt un ir jāpasaka – bišu māšu mākslīgās apsēklošanas metodika nav rotaļlieta, ar kuru spēlēties. Galu galā tiek apieti dabas procesi. Tādēļ industrijā visām bišu mātēm nav jābūt mākslīgi apsēklotām, tāpat kā ne visiem biškopjiem ir jāapgūst šī izsmalcinātā apsēklošanas metodika un tehnika. Tas ir selekcijas instruments!

# 1. IESKATS VĒSTURĒ

Bišu māšu un tranu kontrolēta pārošana vēsturē ir ilgstoši interesējusi gan biškopjus, gan bišu zinātniekus. Tiesa, sekmīgi kontrolēt bišu pārošanu izdodas tikai 20. gadsimta pirmajā pusē, kad cilvēkam rodas izpratne par bišu dabīgās pārošanās bioloģiju un attīstās mākslīgās apsēklošanas metodika.

Nozīmīgu atklājumu 18. gadsimta beigu posmā veic Anton Janscha un šveiciešu dabas pētnieks Francis Hubert, kuri konstatē, ka bišu mātes un tranī pārojas ārpus stropa [8]. Pēc šī nozīmīgā atklājuma seko virkne mēģinājumu bišu mātes un tranus kontrolēti sapārot dažādos iesprostojumos, piemēram, krātiņos, siltumnicās, būros, burkāšos u.c. Tomēr visi šie mēģinājumi ir nesekmīgi.

ASV profesors H. Laidlaw [24] raksta, ka pirmais zināmais mēģinājums mākslīgi pārnest spermu uz bišu mātes vaginu ir datējams ar tālo 1814. gadu, kad jau pieminētais šveiciešu dabas pētnieks F. Hubert ar ļoti smalku otiņu pārnes trana spermu uz bišu mātes vaginu. Tomēr F. Hubert sekmīgi bišu māti apaugļot neizdodas. Tikai 100 gadus vēlāk šo mēģinājumu nopietni uztver citi entuziasti.

20. gadsimta sākuma posmā Shefer, Bishop un citi [pārpublicēts no 8] bišu mātes dzeloņa kambarī mēģina tieši ievadīt trana dzimumorgānu, abus īpatņus turot rokās. Zināms, ka, lietojot līdzīgu tehniku, daļēji sekmīgi bišu mātes apaugļot izdodas H. Laidlaw, lai gan viņš atzīst, ka šāda metodika ir pārāk nepraktiska [8].

Lloyd Watson [pārpublicēts no 8] 1926. gadā, lietojot stikla šprici, mikroskopu un vienkāršotu koka dēlīti, pie kura piesieta bišu māte, pierāda, ka ir iespējams bišu mātes mākslīgi apsēklot. Šo vīru var uzskatīt par pamatlicēju bišu māšu mākslīgajai apsēklošanai. Pēc šī demonstrējuma ASV bišu māšu mākslīgās apsēklošanas attīstībā iesaistās H. Laidlaw, W. Nolan, Otto Mackensen, William Robert u.c., kuru darbības rezultātā līdz tūkstoš deviņi simti piecdesmitiem gadiem bišu māšu mākslīgās apsēklošanas tehnika tiek attīstīta līdz līmenim, kādu mēs to pazīstam šodien.

Būtisku artavu bišu māšu mākslīgās apsēklošanas attīstībā ir devis ASV profesors H. Laidlaw. Minētais zinātnieks praksē ir ieviesis dzeloņa āķa lietošanu, bišu māšu anestēziju ar ogļskābo gāzi, antibiotiku lietošanu fizioloģiskajā šķīdumā, kā arī pirmais izskaidro krokas vārsta nozīmi apsēklošanas procesā [8; 24].

Šodien tik plaši lietoto instrumentu uzbūve ir radīta ar W. Nolan, O. Mackensen un W. Robert gādību. O. Mackensen pirmais konstatēja, ka bišu mātes atkārtota apstrāde ar CO<sub>2</sub> inducē bišu mātes dēšanu, kā arī noteica spermas daudzumu, kāds jāievada bišu mātes vidusolvadā [24].

No pagājušā gadsimta vidus posma bišu māšu mākslīgās apsēklošanas tehnika būtiski vairs nav mainījusies. Vērojama vien virkne uzlabojumu, starp kuriem, manuprāt, nozīmīgākais ir ASV profesora J. Harbo lielas kapacitātes šprinces ieviešana praksē 1979. gadā [7].

No Eiropas zinātniekiem nozīmīgu artavu bišu māšu mākslīgās apsēklošanas attīstībā ir devuši poļu pētnieks Jerzy Woyke un vācu zinātnieki Friedrich Ruttner un Peter Schley.

Bišu māšu mākslīgā apsēklošana sekmīgi Latvijā pielietota nesenā pagātnē, tomēr attīstības pirmsākumi meklējami jau pagājušā gadsimta vidusposmā. Interesi par bišu māšu mākslīgo apsēklošanu izrādīja Latvijas nozīmīgākais bišu zinātnieks profesors Pēteris Rizga [27]. Šo tik nozīmīgo bišu selekcijas instrumentu diemžēl viņam iedzīvināt Latvijā neizdevās. Sekmīgi bišu mātes mākslīgi apsēklot pirmo reizi Latvijā izdodas tikai pagājušā gadsimta deviņdesmitajos gados. To paveikt izdodas ļoti jauniem, bišu zinātnes ieinteresētiem Ogres Biškopības laboratorijas speciālistiem Egilam Stalidžānam, Ērikam Kristapsonam un Ilonai Arājai. Drīz vien Ogres Biškopības laboratorija finansiālu grūtību dēļ likvidē, kā rezultātā iegūtās zināšanas un speciālisti tiek zaudēti.

Nepilnus desmit gadus vēlāk bišu māšu mākslīgā apsēklošana atgriežas Latvijas vietējās medus bišu populācijas selekcijas programmā. Lietuvas kolēģa Jonasa Balžekas vadībā apsēklošanas procesu apgūst darba autors un biškopis Jānis Trops.

Laikam ritot, bišu māšu mākslīgā apsēklošana ir *iezagusies* Latvijas praktiskajā biškopībā.

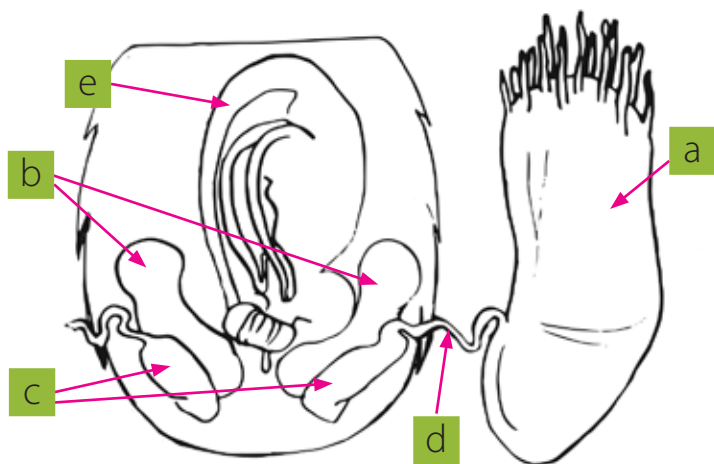
Šodien atsevišķi bišu māšu audzētāji šo tik nozīmīgo selekcijas instrumentu pielieto praksē. Ļoti labs piemērs citiem bišu māšu audzētājiem ir biškope Vera Pūliņa-Cine, kas balstoties uz pašiniciatīvu, bišu māšu mākslīgo apsēklošanu apguvu gan Polijā Pulavos, gan arī intensīvi pašmācības ceļā. Lūk, Latvijā ir biškopji, kas to spēj, ir, tikai jāgrib iet uz priekšu un spert nākamos soļus attīstībā.

## 2. BIŠU MĀŠU UN TRANU DABĪGĀS PĀROŠANĀS BIOLOĢIJA

Pirms iedzīljināsimies bišu māšu mākslīgās apsēklošanas specifikā, nedaudz uzmanību pievērsīsim tranu un bišu māšu dzimumorgānu uzbūvei un to dabīgās pārošanās uzvedībai. Tikai pārzinot dabīgās pārošanās nianses, ir iespējams izprast bišu māšu mākslīgās apsēklošanas procesus, kā arī šīs zināšanas atvieglos izprast bišu saimes ģenētisko uzbūvi.

**Trani** attīstās no neapaugļotas olšūnas. Bišu vīrišķā īpatņa imago stadija dzimst 24 dienas pēc neapaugļotas olšūnas izdēšanas. Pēc dzimšanas dzimumgatavību trani sasniedz 6 līdz 12 dienu laikā [17]. Lai arī daļa no traniem dzimumgatavību dabā sasniedz jau 6 dienu vecumā, Susan Cobey [6] atzīmē, ka bišu māšu mākslīgajā apsēklošanā 12–14 dienu veci trani ir vispiemērotākie spermas iegūšanai, tomēr J. Harbo [17] norāda, ka kvalitatīvu spermumu ir iespējams iegūt līdz pat 21 dienu veciem traniem.

Lielu daļu trana vēdera posma iekšējo dobumu aizņem vīrišķie dzimumorgāni. Tranam ir divi sēklinieki, kas sastāv no smalkām, cieši citai pie citas sasaistītām caurulēm, kurās veidojas un nobriest spermatozoīdi. Tikko dzimušiem traniem sēklinieki ir milzīgi, baltā krāsā, pupveida formas, kas aizņem lielāko daļu vēdera posma iekšējā dobuma. Trīs dienu vecam tranam spermatozoīdi sāk pārvietoties no sēkliniekiem uz spermas pūslīšiem (sk. 1. att.). Spermas pārvadīšanas process noslēdzas 3 līdz 6 dienu laikā. Vidēji 12 dienu laikā pēc trana dzimšanas sēklinieki reducējas līdz nelielām, zaļganīgi dzeltenām audu atliekām, un viss to saturs tiek novadīts caur sēklvadiem (*vasa deferentia*) spermas pūslīšos [14; 17].



1. att. Trana vēdera posma iekšējā dobumā ir izvietoti dzimumorgāni, kur: a – sēklinieki; b – gļotdu dziedzeri; c – spermas pūslīši; d – sēklvads; e – ejakulācijas vads.

Tranam ir divi izliekti, cīsiņa formas spermas pūslīši. Tie pieaug garumā un apkārtmērā līdz ar spermatozoidu uzņemšanu no sēkliniekiem. To muskuļotās sienas ir krokainas un izklātas ar dziedzeru audiem, kas veido spermas sekrēciju. Spermas pūslīšos sperma tiek uzkrāta līdz pārošanās procesam [14; 17].

Dzimumorgānu papildina divi gļotas dziedzeri. Tie ir ļoti lieli rungveida maiši, kas savienoti pie pamatnes, veidojot lielā U formu, un tie ir piepildīti ar gļotām. Spermas pūslīši ir saistīti ar gļotas dziedzeriem ar īsiem, šauriem cauruļveida vadiem. Tāpat kā spermas pūslīši, gļotas dziedzeri pieaug izmērā, tranam nobriestot. Gļotas ir perlamutra baltā krāsā [14].

Ejakulācijas vada sākuma posms ir izvietots pie gļotu dziedzera U veida pamatnes, tuvu spermas pūslīša izvada atverei. Spermas pūslīšu izvadi pārošanās momentā, kad tiek atbrīvots spermas pūslīšu saturs, atrodas ļoti tuvu ejakulācijas vada sākumposmam. Ejakulācijas vadā vispirms nonāk sperma, bet tai seko gļotas dziedzeru saturs [14].

Atlikušo trana dzimumorgānu sastāda kopulācijas orgāns. Tā forma atgādina olveida ķermeni ar pūsmēnes formu. Tas sastāv no gara ejakulācijas vada, kas ir savienots ar kopulēšanas orgāna galvas daļu jeb pūslī. Tajā atveras dzimuma atvere, par kuru tiek izvadīta sperma un gļotas [14].

Kopulācijas momentā spēcīgas trana vēdera posma kontrakcijas un tā saspiešana, ko rada ļoti spēcīgas vēdera muskuļu grupas, izraisa trana kopulācijas orgāna izvadīšanu no vēdera posma ķermeņa dobuma. Gandrīz vienlaicīgi ar kopulācijas orgāna izvadīšanu, spermas pūslītis saraujas, ar varu iespējot spermu ejakulācijas vadā, par kuru tā tālāk nonāk kopulēšanas orgāna galvas daļā (sk. 4. att.). Spermai nokļūstot ejakulācijas vadā, tai seko gļotas no gļotu dziedzeriem [14]. Šajā fāzē trana vēdera posms saraujas un kļūst stingrs (sk. 2. un 3. att.).



2. att. Spēcīga vēdera posma muskulatūra no trana ķermeņa dobuma izvada dzimumorgānu. Dzimumgatavību sasniegušam tranam dzimumorgāna taustekļi ir oranžīgi dzeltenā nokrāsā (a).



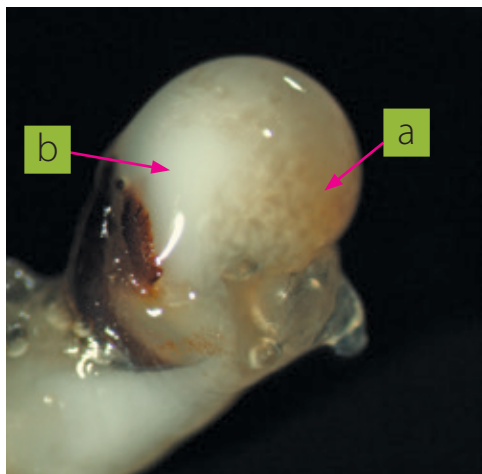
3. att. Dzimumgatavību nesasniedzis trans. Dzimumorgāna taustekļi ir pelēcīgi bālganā nokrāsā (a), un vēdera posms ir mīksts.

Trana spermu mākslīgās apsēklošanas vajadzībām iegūst, tieši simulējot augstāk aprakstīto dabisko procesu. Respektīvi, ar pirkstu kustībām inducē dzimumorgāna izvadīšanu no trana vēdera posma. Tikai gadījumā, ja izdodas inducēt dabisku vēdera posma muskuļu saraušanos (trana vēdera posms kļūst ciets), kā rezultātā tiek izvadīts dzimumorgāns, ir sekmīgi iespējams iegūt spermu. Pretēji, ja ar pirkstu kustībām dzimumorgānu no vēdera posma izspiež ar varu, tad no spermas pūslīšiem sperma ejakulācijas vadā netiek izvadīta, kā rezultātā to iegūt nav iespējams.



Medus bites spermas krāsa jauniem traniem ir gaiši dzeltenbrūnā krāsā, bet, tranam kļūstot vecākam, tā pakāpeniski kļūst tumšāk dzeltenbrūna. Pigmentāciju nodrošina spermatozoidiem apkārt esošais šķīdums. Atdalot dzeltenbrūno šķīdumu no spermatozoidiem, tie izskatās balti [17]. Savukārt līdz ar spermu izvadīto gļotu krāsa ir balta līdz pelēcīgi baltai.

Atzimēšu, ka bišu māšu mākslīgās apsēklošanas vajadzībām stikla apsēklošanas kapilārā savāc



tikai spermu. Spermas dzeltenbrūnā krāsa ir galvenais kritērijs tās atdalīšanai no gļotām, tomēr atšķiras arī viskozitātes. Sperma, atšķirībā no gļotām, ir šķidra.

4. att. Trana dzimumorgāna galvas daļas fragments, kur:

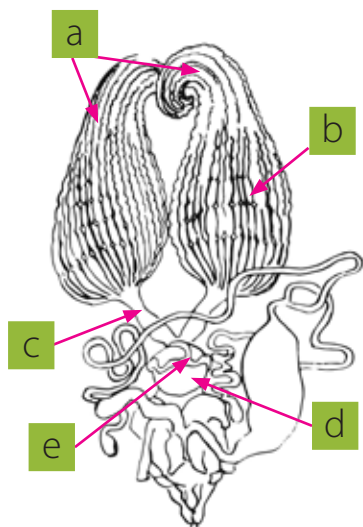
- a – sperma un
- b – gļotas.

Katrs trans satur aptuveni 10 miljonus spermatozoidu, lai gan spermatozoidu daudzums, ko satur viens trans, var variēt. To ietekmē gan ģenētiskie, gan ārējie faktori, bet parasti tas variē robežās no 0,5  $\mu$  līdz 0,9  $\mu$ l. 1  $\mu$ l ir aptuveni 7,5 miljoni spermatozoidu [17; 18].

Spermatozoidi ir viegli saskatāmi bioloģiskajā mikroskopā. To uzbūves forma ir ļoti slaida, pavedienu veida. To garums ir aptuveni  $\frac{1}{4}$  mm un 0,5  $\mu$  (1/2000 mm) diametrā. No šī garuma aptuveni 10  $\mu$  ir diferencējušies spermatozoīda galvas daļā. Galvas daļa satur kodolu, kas satur ģenētisko informāciju. Spermatozoīds pārvietojas peldot, šaustot savu astes daļu, līdzīgi, kā to dara čūska [14].

Spermatozoidi ir viegli saskatāmi bioloģiskajā mikroskopā. To uzbūves forma ir

**Bišu māte** attīstās no apaugļotas olšūnas. Bišu mātes imago stadija dzimst 16 dienas pēc apaugļotas olšūnas izdēšanas. Pēc dzimšanas dzimumgatavību bišu māte sasniedz aptuveni 4 dienu laikā [17; 25].

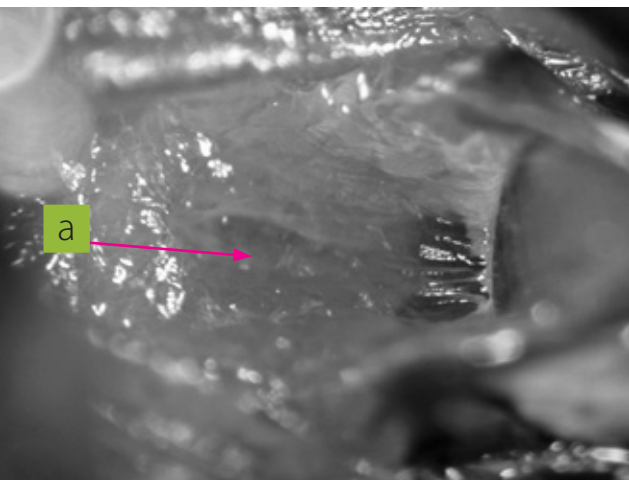


Arī bišu mātei lielu daļu vēdera posma iekšējo dobumu aizņem dzimumorgāni, kas sastāv no turpmāk tekstā aprakstītajiem orgāniem.

Bišu mātes dzimumorgānu sistēmu veido divas savstarpēji saistītas olnīcas (sk. 5. att.), katrai no tām saturot aptuveni 180 vai pat vairāk olu caurules. Šajās olu caurulēs attīstās olšūnas. Auglīgai bišu mātei olnīcas kļūst ļoti lielas, aizpildot lielāko daļu bišu mātes vēdera posma dobuma [11; 14].

5. att. Bišu mātes dzimumorgāni, kur  
a – olnīcas; b – olu caurules; c – sānu olvadi;  
d – spermas uztvērējs; e – spermas uztvērēja vads.

Olu cauruļu beigu gali atveras sānu olvados. Plašie un īsie sānu olvadi sastopas, kad tie pāriet vidusolvadā. Savukārt vidusolvads atveras vagīnā [14]. Bišu mātes vagīnu skatīt 6. attēlā.

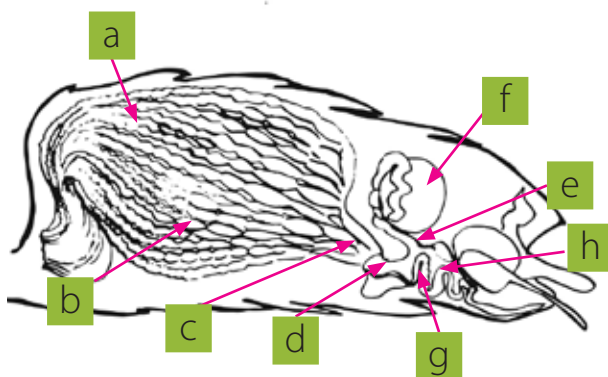


6. att. Bišu mātes vagina (a).

Īsi pirms vidusolvas pāriet vaginā, atveras spermas uztvērēja vads. Tā ir neliela caurule, kas savieno vidusolvas ar spermas uztvērēju. Spermas uztvērējs ir spermas uzglabāšanas orgāns, kas kopējs kukaiņu reprodiktīvo orgānu sistēmām. Medus bites spermas uztvērējs ir sfērisks maisiņš, kas spējīgs uztvert aptuveni no 5 līdz 7 miljoniem spermatozoidu. Šī orgāna ārējā siena sastāv no viena epitēlija šūnu slāņa, kuru iekļauj ļoti ciešs traheju tīklojums. Diametrā tā izmērs ir aptuveni 1 mm. Pirms spermas nokļūšanas tajā tas ir kristāldzids. Savukārt spermas

klātbūtnē tas izskatās krēma dzeltenbrūnā krāsā vai arī necaurredzams [11; 14; 18].

Tieši zem spermas uztvērēja vada atveres atrodas muskuļota kroka, kura atiet no vagīnas grīdiņas un tiecas augšup, veidojot krokas vārstu (sk. 7. att.). Šo ierīci bišu māte lieto, lai pavirzītu un aizturētu olu pret spermas uztvērēja vada atveri, pa kuru tiek atbrīvoti spermatozoīdi, lai apaugļotu olšūnu [14].



7. att. Bišu mātes dzimumorgānu izvietojums vēdera dobumā, kur:

- a – olnīca;
- b – olu caurules;
- c – sānu olvads;
- d – vidusolvads;
- e – spermas uztvērēja vads;
- f – spermas uztvērējs;
- g – krokas vārsts
- h – vagina.

Krokas vārstam ir ļoti būtiska nozīme pie bišu mātes mākslīgās apsēklošanas. Šis vārsts noslēdz

vaginā un apsēklošanas laikā traucē vaginā ievadīt stikla apsēklošanas kapilāru. Stereomikroskopā krokas vārstu saskatīt nav iespējams, tādēļ personai, kas veic bišu mātes mākslīgās apsēklošanas procesu, ar specifiskām stikla kapilāra kustībām vārstu ir jāpiesiet, to neredzot.

Ļoti spēcīgi modificēts reprodiktīvās sistēmas orgāns ir dzelonis. Anatomiski dzelonis ir evolūcijā pārveidojies dējeklis (dēšanas vads). Lielākā daļa kukaiņu sievišķo īpatņu izmanto dējekli, lai dētu olas. Tas ir zaudējis dēšanas funkciju medus bites darba bišu un bišu māšu īpatņiem [4].

**Dabīgā pārošanās** bišu mātei ar traniem noris gaisā lidojot. Zinātnieks N. E. Gary [pārpublicēts no 14] bija pirmais, kas izskaidroja, kāpēc neizdodas kontrolēti bišu mātes apaugļot krātiņos, burkā, būros un siltumnīcās. Lūk, šis virs noskaidroja, ka pārošanās starp bišu māti un tranu nenotiek, ja īpatņi atrodas zemāk kā 10 vai 12 metrus virs zemes, bet virs šī augstuma pārošanās notiek brīvi pat tad, ja bišu māte ir piesieta [14].

Bišu mātes un trani izlido tikai saulainās, mierīgās – vieglu vēja plūsmu – dienās, gaisa

temperatūrai pārsniedzot vismaz 19 °C. Pārsvārā tie izlido starp pulksten 11:00 un 16:00 pēc pusdienā. Jauni trani lido tikai dažas minūtes, kamēr vairāk nobrieduši trani lido no 10 līdz 40 minūtēm [4; 22].

Pārošanās noris specifiskās apvidus vietās, kuras sauc par tranu pulcēšanās vietām. Tranu pulcēšanās vietas saglabājas konstantas, sezonu no sezonas un gadu no gada, par spīti trana īsajam sezonālajam dzīves ilgumam. Tranu pulcēšanās vietas atrodas 10 līdz 40 metrus virs zemes un var sasniegt līdz pat 60 metru augstumu. Tās variē izmērā no 30 m līdz pat pāri par 200 m diametrā. Variē arī forma. Pie pamatnes tās ir aplveida, bet, pieaugot augstumam, forma kļūst eliptiska, ar noslieci vēja virzienā [9].

Bišu māte jaunava sākotnēji veic īsu orientēšanās lidojumu, aptuveni 4 dienas pēc piedzimšanas. Turpmākajās dienās bišu māte jaunava lido uz vairākām tranu pulcēšanās vietām, veicot vairākus lidojumus un pārojoties vairākkārt katrā lidojumā. Šajā īsajā laika posmā tā pārojas ar līdz pat 17 traniem [9].

Trani uz tranu pulcēšanās vietām lido, kad tie ir sasnieguši 12 dienu vecumu un tajos ir pilnībā attīstījusies sperma. Tā kā to vienīgais uzdevums ir apaugļot bišu mātes, tie turpina lidot uz dažādām tranu pulcēšanās vietām savā dzīves laika posmā, ja vien laika apstākļi to atļauj [9].

Skaits un tranu ģenētiskais sajaukums tranu pulcēšanās vietās ir iespaidīgs. Trani no daudzām un dažādām atrašanās vietām un virzieniem lido uz šīm specifiskajām vietām. Gudrun un Nikolaus Koeniger [23] pētījumos konstatējuši, ka tranu pulcēšanās vietā vidēji konstatē 14644±5470 tranus. Page un Metcalf [9] 1982. gadā ziņojuši, ka vienā tranu pulcēšanās vietā tie novērojuši kopumā 25000 tranu no 200 bišu saimēm. Līdzīgus datus sniedz arī G. un N. Koeniger [23], konstatējot tranus vienā tranu pulcēšanās vietā no vairāk nekā 243 bišu saimēm. Jāatzīmē, ka no kopējā tranu daudzuma tranu pulcēšanās vietā tikai 1% ir sekmīgi un pārojas ar bišu māti [4].

Bišu mātēm jaunavām ielidojot tranu pulcēšanās vietās, tās uzsāk vajāt tranu komēta. Trani komētā lido pret vēju V veidā. Tā ir veidota no aptuveni 100 traniem. Trani tiek piesaistīti bišu mātei gan vizuāli, gan ar dzimumferomona palīdzību. Jāņem vērā, ka tranam ir jānoorientējas un jāķer bišu māte – maza, melns punktiņš pret spilgtajām debesīm – pārošanās momentā. Par redzes nozīmi liecina fakts, ka tranam saliktās acis sastāv no 10000 fasetēm, savukārt bišu mātei tikai no 3500, turklāt tranam ir spēcīgāk attīstīti taustekļi [4; 9; 16].

Feromons, kuru producē bišu mātes virszokļa un tergītu dziedzeris, ir spēcīgs dzimuma atraktants. Šo dziedzeru izmērs un aktivitāte pieaug pārošanās vecumā. Trana piesaistīšanai nepieciešamas tikai dažas molekulas. Trani var uztver bišu mātes izdalīto dzimuma feromonu vismaz 60 m attālumā. Feromona molekulas trani uztver ar sensoriem, kas atrodas uz trana taustekļa vīcas daļas. Tranu komētā trani orientējas arī viens pret otru. Trani vizuāli bišu māti konstatē, kad tie atrodas aptuveni 1 līdz 2 m attālumā no tās. Trans bišu lidojumā aptausta bišu mātes vēdera posmu, un pārošanās notiek gadījumā, ja bišu mātes tergīta dziedzeri izdala spēcīgu dzimumtieskmi uzbudinošu vielu. Arī trani izdala feromonu, kas palīdz piesaistīt bišu mātes jaunavas, kā arī piesaista lidojošos tranus pulcēšanās vietām un palīdz formēt tranu komētas [4; 9].

Pārošanās procesā trans pieķeras bišu mātes aizmugurei un ievada kopulācijas orgānu bišu mātes dzeloņa kambarī, kas notiek pirmajā trana kopulācijas orgānu izvadišanas stadijā. Pēc tam trans krīt atmuguriski paralizētā stāvoklī, un krišanas momentā noris otrā stadija, pilnīga kopulācijas orgānu izvadišana ar eksplozīvu spēku, pēc kura trans nokrīt uz zemes, bišu mātes dzeloņa kambarī atstājot daļu kopulācijas orgānu. Gan dabiskās pārošanas rezultātā, gan mākslīgās apsēklošanas gadījumā sperma tiek ievadīta bišu mātes sānu olvados [14; 17].

Pēc pārošanās daļa no trana pārošanās orgāna saglabājas bišu mātē kā pārošanās zīme. Tā

rada vizuālu norādījumu un palielina bišu mātes pievilcīgumu citiem traniem. Pārošanās zīme iezīmē to ar lipīgu, oranžu vielu un gļotām, kuras atstaro ultravioleto starojumu. G. un N. Koeniger [pārpublicēts no 9] norāda, ka pārošanās zīme arī notur bišu mātes dzeloņa kambari atvērtu un nodrošina aizsardzību no dzeloņa, ierosinot vēl papildu pārošanos [9].

Tarpy un Neilson [pārpublicēts no 10] 2002. gada pētījumos konstatējuši, ka 80% bišu mātes pārojušās ar vairāk nekā 5 traniem un 54% ar vairāk nekā 10 traniem. Vairākos literatūras avotos minēts, ka bišu māte pārojas maksimāli ar 17 traniem, bet vidēji ar 10 traniem [1; 10; 14].

Pārošanās momentā katrs trans ievada bišu mātes olvados 6 līdz 10 miljonus spermatozoīdu. Kā rezultātā bišu mātes olvados nonāk līdz pat 170 miljoniem spermatozoīdu. Dažu stundu laikā pēc bišu mātes atgriešanās stropā spermatozoīdi pārvietojas un migrē no sānu olvadiem uz spermas uztvērēju. Parasti spermas migrācija uz spermas uztvērēju noslēdzas 24–40 stundu intervālā. Tomēr spermas uztvērējā pēc migrācijas nokļūst tikai aptuveni 5–6 miljoni spermatozoīdu. Lielāko daļu no sānu olvados uztvertās spermas, aptuveni 90%, bišu māte izbrāķē un izvada kā sausu substanci [3; 10; 17; 12].

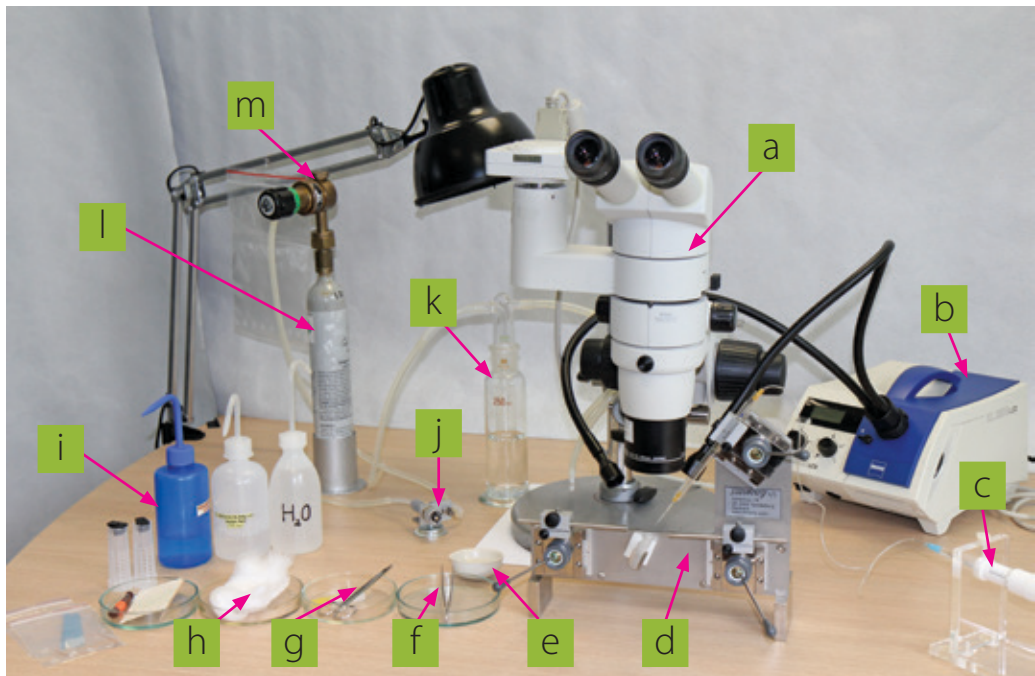
S. Cobey [10] atzīmē, ka šāda veida pārošanās stratēģija sākotnēji var likties izšķērdīga, lai gan patiesībā tas ir augsti efektīvs veids, kā uztvert spermu no daudziem un dažādiem traniem. Visa viena trana producētā sperma ir ģenētiski identiska, līdz ar to šāds process nodrošina augstu ģenētisko daudzveidību starp darba bišu pēcnācējiem bišu saimē.

Bišu māšu mākslīgajā apsēklošanā parasti sānu olvados ievada 8 mm<sup>3</sup> spermas [17; 22; 26]. Šāds daudzums ir aprēķināts, balstoties uz bišu māšu un tranu pārošanās bioloģiju. Zinot, ka 1 mm<sup>3</sup> ir 7,5 miljoni spermatozoīdu, iegūstam, ka, apsēklojot bišu māti ar 8 mm<sup>3</sup> spermas, tās sānu olvados nonāk 60 miljoni spermatozoīdu. Tomēr, spermai migrējot no sānu olvadiem uz spermas uztvērēju, tikai 10% spermatozoīdu nokļūst spermas uztvērējā. Tātad tikai 6 miljoni no 60 miljoniem spermatozoīdu sasniedz spermas uztvērēju, un tas ir līdzvērtīgs daudzums, kādu novēro pie dabīgās bišu māšu pārošanās.

Viegli aprēķināt arī tranu daudzumu, kāds nepieciešams vienas bišu mātes mākslīgajai apsēklošanai ar 8 mm<sup>3</sup> spermas. Tas ir, ja viens trans satur 6–10 miljonus spermatozoīdu, bet 8 mm<sup>3</sup> ir 60 miljoni spermatozoīdu, tad vienas bišu mātes mākslīgajai apsēklošanai būs nepieciešami vismaz 6–10 dzimumgatavību sasnieguši trani.

## 3. NEPIECIEŠAMAIS INVENTĀRS

Telpai, kurā veic bišu māšu mākslīgo apsēklošanu, jābūt tīrai un kārtīgai, bet tai nebūt nav jābūt sterīlai. Šai telpā vien vajadzēs atrast brīvu vietu, kur novietot galdu un uz kura izvietot bišu māšu mākslīgās apsēklošanas inventāru. Viegla pieeja ūdensvadam un izlietnei atvieglos roku un inventāra mazgāšanu. Darbu atvieglos arī telpā esošie logi, kas nodrošinās ne tikai dabīgo apgaismojumu, bet arī dos iespēju bišu māti pirms apsēklošanas telpā apludināt. Turpmāk tekstā iepazīsimies ar bišu māšu mākslīgajai apsēklošanai nepieciešamo inventāru (sk. 8. att.)!



8. att. Bišu māšu mākslīgās apsēklošanas inventārs sagatavots darbam, kur: a – stereomikroskops; b – aukstā gaisma; c – Harbo šprīce; d – Swienty apsēklošanas ierīce; e – tīģelītis; f – pincete; g – medicīniskās šķēres; h – vate; i – strūklene; j – laboratorijas CO<sub>2</sub> reduktors; k – gāzu atmazgāšanas kolba; l – CO<sub>2</sub> balons; m – CO<sub>2</sub> rūpniecības reduktors.

### 3.1. MIKROSKOPI

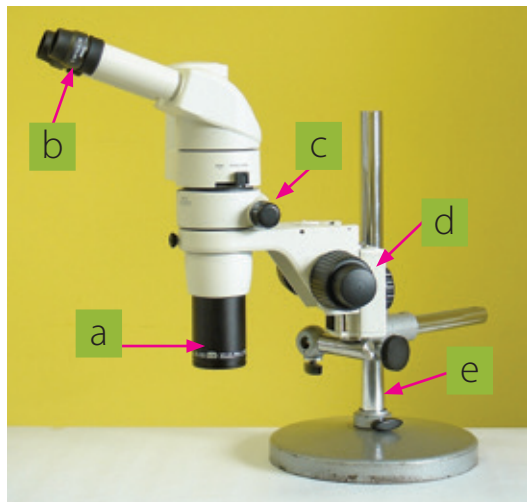
Bišu mātes apsēklošanas process un spermas savākšana tiek veikta mākslīgā palielinājumā. Lai pētāmo objektu palielinātu un atspoguļotu trīsdimensiju, lieto binokulāru stereomikroskopu. Vienlīdz labi noderēs gan *Greenough*\* tipa, gan kopēja galvenā objektīva (CMO\*\*) jeb paralēlas optikas tipa stereomikroskops. Vēlams stereomikroskopu aprīkot ar okulāriem (sk. 9. att. b), kuru palielinājums ir 10x, un objektīvu (sk. 9. att. a), kura palielinājums ir robežās 0,5–1,0x. Lietderīgi izmantot stereomikroskopu, kas aprīkots ar nepārtraukta palielinājuma regulēšanas sviru jeb

\* Optikas sistēma nosaukta par godu amerikāņu instrumentu konstruktoram Horatio S. Greenough.

\*\* CMO ir stereomikroskopa tipa nosaukuma saīsinājums, kas atvasināts no angļu valodas nosaukuma 'Common Main Objective'.

Zoom\*\*\* (sk. 9. att. c), kas ļauj operatoram noteiktās robežās izvēlēties piemērotāko pētāmā objekta palielinājumu. Lai gan noderēs arī stereomikroskops, kas aprīkots ar fiksētu palielinājuma sviru. Atkarībā no ražotāja un stereomikroskopa modeļa, palielinājums, kuru nodrošina nepārtraukta palielinājuma regulēšanas svira, var būtiski mainīties, bet vēlams, ka palielinājums ir vismaz robežās 1–4x. Kopējo stereomikroskopa palielinājumu iegūst, reizinot okulāra palielinājumu ar objektīva un nepārtraukta palielinājuma regulēšanas sviras palielinājumu. Piemēram, ja okulāra palielinājums ir 10x, objektīva 0,5x, bet nepārtraukta palielinājuma regulēšanas sviras palielinājums ir robežās 1–6x, tad stereomikroskopa minimālais palielinājums ir  $10 \cdot 0,5 \cdot 1 = 5x$ , savukārt maksimālais palielinājums ir  $10 \cdot 0,5 \cdot 6 = 30x$ .

G. Fert [15] un Eigil Holm [22] atzīst, ka piemērotākais palielinājums bišu māšu mākslīgajā apsēklošanā ir 10x un 20x, respektīvi, spermas savākšanai un bišu mātes apsēklošanai.



9. att. Stereomikroskops *Nikon SMZ800*, kur a – objektīvs; b – okulāri; c – nepārtraukta palielinājuma regulēšanas svira; d – asuma iestatīšanas svira; e – universālais stereomikroskopa statīvs.

Pirms stereomikroskopa iegādāšanās ir precīzi jāzina, kāds bišu māšu mākslīgās apsēklošanas aparāts tiks lietots un kādi ir tā izmēri!

**Pirmkārt**, ne visu stereomikroskopu galvas daļas ir savietojamas ar bišu māšu apsēklošanas aparātiem. Var gadīties, ka kāda no stereomikroskopa galvas detaļām atduras pret apsēklošanas aparātūras šprici vai šprīces turētāju, kā rezultātā nav iespējams ieregulēt asumu. Neiespējami būs strādāt arī gadījumā, ja pie optimālas darba distances (ieregulēts asums) kāda no stereomikroskopa galvas detaļām traucēs manipulēt ar apsēklošanas aparātūras šprīci.

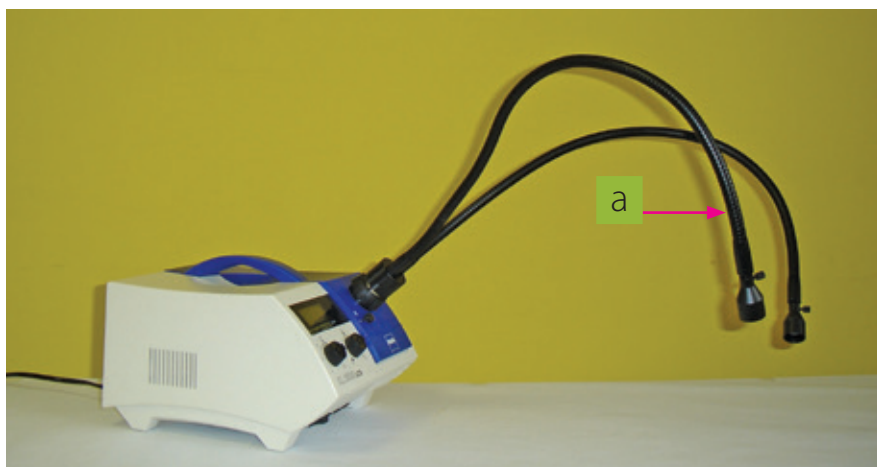
**Otrkārt**, ne visi stereomikroskopu statīvi ir savietojami ar bišu māšu mākslīgajiem apsēklošanas aparātiem. Uzmanība jāpievērš statīva pamatnes augstuma un platuma izmēriem, lai tas būtu savietojams ar apsēklošanas aparātu. Tādus apsēklošanas aparātus kā *Latshaw* un modificētu *Schley* novieto uz stereomikroskopa pamatnes, bet *Swienty*, *Schley* un *Mackensen* instrumentus novieto uz galda virsmas un zem tiem pabīda mikroskopa pamatni. Uzmanība jāpievērš arī statīva stieņa garumam. Statīva stieņa garumam ir jānodrošina stereomikroskopa galvas daļas turēšana tādā augstumā, lai būtu iespējams iestatīt asumu. Bišu māšu mākslīgajai apsēklošanai piemērotākais ir universālais stereomikroskopa statīvs (sk. 9. att. e), tomēr tas ir salīdzinoši dārgs.

\*\*\* Stereomikroskopa detaļas nosaukums angļu valodā.

## 3.2. MIKROSKOPA LAMPA

Tikai laba apgaismojuma klātbūtnē mikroskopā ir iespējams iegūt labas kvalitātes attēlu. Apgaismojums it īpaši svarīgs ir pie tranu spermas savākšanas. Pētāmā objekta izgaismošanai lieto vai nu auksto gaismu, vai zema sprieguma mikroskopa lampu [22].

Aukstā gaisma satur halogēna spuldzi, kuras izstarotā gaisma līdz pētāmajam objektam tiek novadīta pa optiskās šķiedras kabeli. Bišu māšu mākslīgajai apsēklošanai pietiekamu gaismas intensitāti nodrošinās 20W halogēna spuldze. Ražotāji piedāvā dažādus optiskās šķiedras kabelus. Pašfiksējošs vienas vai divu roku optiskās šķiedras kabelis (sk. 10. att. a) varētu būt piemērotākais, bet noderēs arī lokans vienas rokas optiskās šķiedras kabelis. Lokana optiskās šķiedras kabeļa gadījumā papildus jālieto statīvs tā noturēšanai un fiksēšanai vajadzīgajā pozīcijā. Aukstās gaismas pozitīvā iezīme, ka apgaismošanas laikā tā nekarsē bišu māti un spermu.



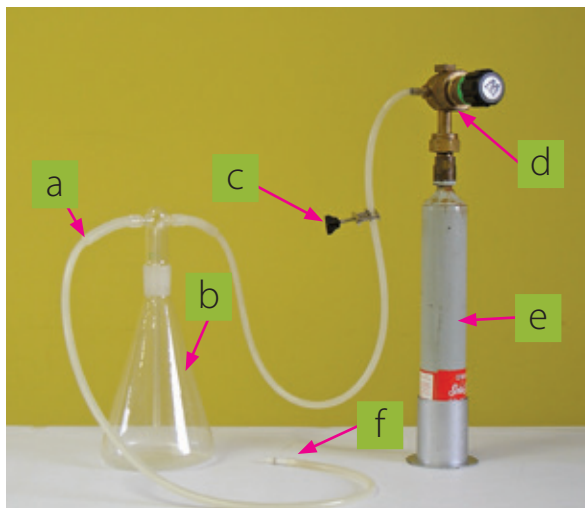
10. att. Aukstā gaisma Zeiss KL2500. Ļoti augstas klases un dārga aukstās gaismas iekārta – praksē var iztikt ar daudz pieticīgāku iekārta.

Zema sprieguma mikroskopa lampas sastāv no transformatora un atsevišķa statīva, pie kura ir piestiprināts korpuss, kurā savukārt iestiprināta lampas. E. Holm [22] atzīst, ka šāda tipa lampas var lietot vienlīdz labi kā auksto gaismu. Atšķirībā no aukstās gaismas, šāda tipa lampas karsē pētāmo objektu. Tādēļ noteikti ir jālieto filtrs. Par filtru noderēs matēts stikls, kas aizturēs infrasarkanos starus.

## 3.3. ANESTĒZIJAS IEKĀRTA

Bišu mātes mākslīgās apsēklošanas laikā anestēzē ar ogļskābo gāzi ( $\text{CO}_2$ ) [15; 17; 22; 26].  $\text{CO}_2$  anestēzijas iekārta sastāv no šādām sastāvdaļām:

- pārtikas (vēlams)  $\text{CO}_2$  balona (sk. 11. att. e);
- $\text{CO}_2$  rūpniecības reduktora (sk. 11. att. d);
- gāzu atmazgāšanas kolbas jeb burbuļkolbas (sk. 11. att. b);
- Silikona šļaukām (sk. 11. att. a);
- $\text{CO}_2$  vārsta (sk. 11. att. f un 12. att.).



11. att. CO<sub>2</sub> anestēzijas iekārta.



12. att. CO<sub>2</sub> vārsts.

Autora pieredze liecina, ka rūpniecībā lietotie CO<sub>2</sub> reduktori slikti dozē nelielu ogļskābās gāzes plūsmu, kāda nepieciešama bišu mātes anestēzijai. Tādēļ vēlams lietot papildus nelielu laboratorijas reduktoru (sk. 13. att.), kas palīdz precīzi dozēt CO<sub>2</sub> plūsmu. Ja tāds nav pieejams vai nav iespējams tādu pagatavot, tad apmierinošu rezultātu var panākt, daļēji saspiežot silikona šļauku ar regulējamu žņaugu (sk. 11. att. c).



13. att. Laboratorijas CO<sub>2</sub> reduktors ļoti precīzai ogļskābās gāzes dozēšanai.

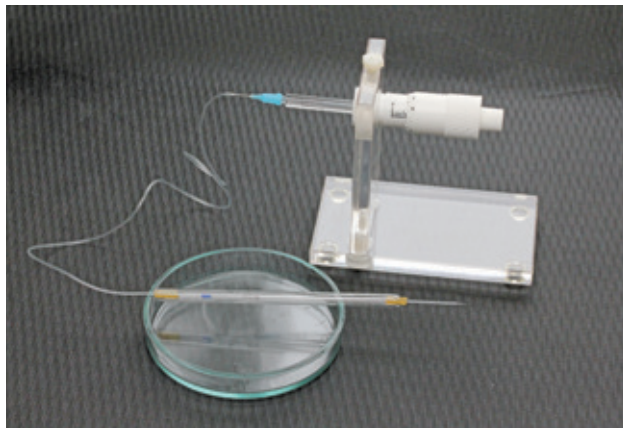
CO<sub>2</sub> gāzes plūsmas intensitāti kontrolē ar gāzu atmazgāšanas kolbas palīdzību, un praktiski nav nepieciešams lietot manometru.





### 3.5. HARBO ŠPRICE

Arī šprīces ir dažāda tipa, piemēram, *Mackensen*, *Schley*, *Harbo*, *Latshaw* u.c. Tomēr starp vadošajiem speciālistiem atzīnību ir guvuši tieši *Harbo* lielas kapacitātes šprīce (sk. 15. att.). Praksē šo šprīci ievieša ASV profesors J. Harbo pagājušā gadsimta septiņdesmito gadu beigās. Kopš tā brīža industrijā to uzskata par numur viens. Iespējams, ka *Schley* un *Mackensen* šprīces kvalitāte ir apmierinoša, bet tās jau pieder vēsturei un to uzbūvē šajā darbā neiedziļināsimies.



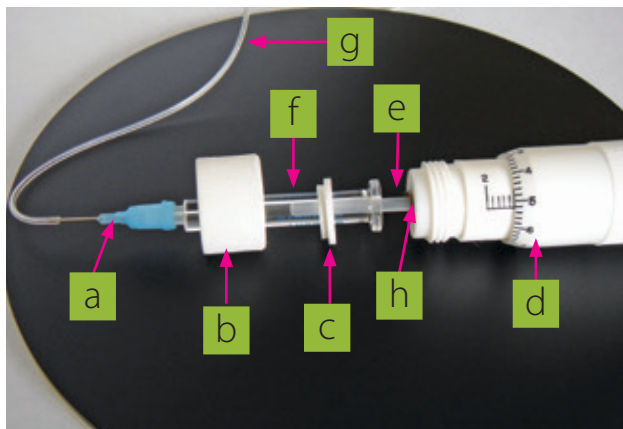
15. att. *Harbo* lielas kapacitātes šprīce sagatavota darbam.

*Harbo* šprīce ir salīdzinoši dārgs instruments, bet tās veiktspēja atsvēr izmaksas – ļoti precīzs, augstāzīgs un ergonomisks instruments. Atzīmēšu dažas iezīmes, kas liecina **par**:

- šprīce ļauj savākt vairāk nekā 100  $\mu$ l spermas vienā vākšanas reizē;
- savākto spermu ir iespējams uzglabāt, kā arī pārsūtīt un bišu selekcionāriem apmainīties ar biomateriālu;

- šprīce akurāti ļauj dozēt un uzskaitīt bišu mātes vidusolvadā ievadīto spermas daudzumu;
- stikla apsēklošanas kapilāra salaušanas gadījumā to viegli iespējams nomainīt, nezaudējot savākto spermu.

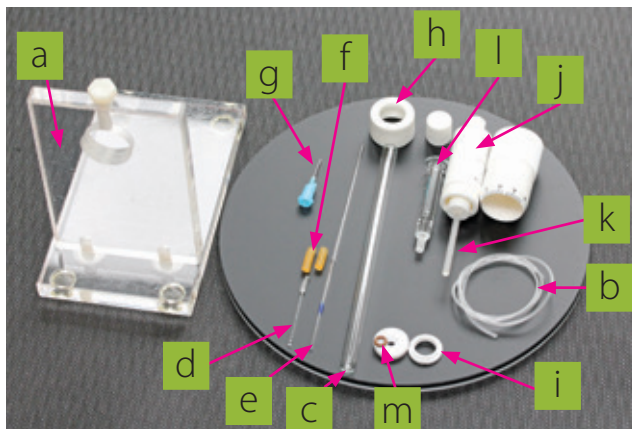
Galvenā *Harbo* šprīces sastāvdaļa ir (i) *Gilmont* mikrometrs (sk. 16. att.). Tas nodrošina precīzu un vienmērīgi lēnu fizioloģiskā šķīduma kustību sistēmā. Rezultātā *Gilmont* mikrometrs atvieglo un nodrošina akurātu spermas savākšanu, kā arī tās dozēšanu bišu mātes apsēklošana laikā. Tas ir kalibrēts ar 0,2  $\mu$ l iedaļām.



16. att. *Gilmont* mikrometra sastāvdaļas, kur a – adata; b – fiksējošs uzgrieznis; c – O gredzens; d – mikrometra manipulators; e – plunžers; f – *Gilmont* stikla cilindrs; g – polivinila šļauka; h – gredzenveida gumijas blīve.

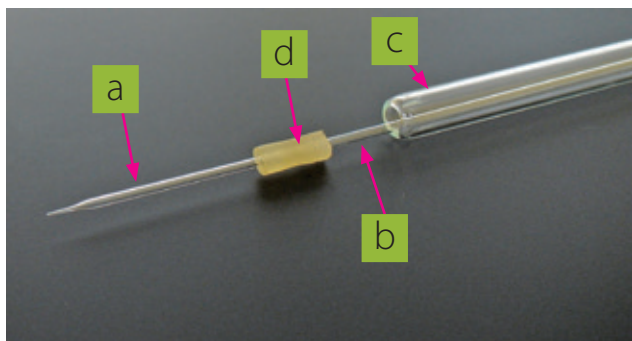
Papildus *Harbo* šprīci veido vēl šādas sastāvdaļas [7; 17]: (ii) akrilāta statīvs (sk. 17. att. a), kurā iestiprina *Gilmont* mikrometru; (iii) polivinila šļauka (sk. 17. att. b), kuras iekšējais diametrs ir 0,5 mm, bet ārējais 1,5 mm. Tā nodrošina *Gilmont* mikrometra

hidraulisku savienojumu ar spermas uzkrāšanas cauruli; (iv) šprīces cilindrs (sk. 17. att. c), kas ir slaida stikla caurule ar 6 mm iekšējo diametru un 8 mm ārējo diametru. Viena cilindra gala iekšējais atvērums ir sašaurināts līdz 4,2 mm diametram. Atveres sašaurinājums nodrošina ciešu sakļaušanos ar lateksa savienotāju, kas notur apsēklošanas stikla kapilāru. Tādējādi apsēklošanas laikā stikla apsēklošanas kapilāru notur stingri pozīcijā, bet vienlaicīgi tas saglabā pietiekamu elastību, lai nejaušanas pieskaršanās vai piesišanas laikā netiktu nolauzts; (v) stikla apsēklošanas kapilārs (sk. 17. att. d), kura apsēklošanas gala iekšējais diametrs ir 0,15–0,2 mm, savukārt ārējais diametrs pie atveres ir 0,26–0,32 mm; (vi) atdalāma spermas uzkrāšanas caurule (sk. 17. att. e), kuras iekšējais diametrs ir aptuveni 1 mm. Tā ir kalibrēta ar 100 μl atzīmi; (vii) divi lateksa savienotāji (sk. 17. att. f), kas ir lateksa šļaukas gabaliņi, kuru iekšējais diametrs ir 1,2 mm, savukārt ārējais diametrs ir 4,5 mm.



17. att. *Harbo* šprīci veidojošās detaļas, kur a – akrilāta statīvs; b – polivinila šļauka; c – šprīces cilindrs; d – stikla apsēklošanas kapilārs; e – spermas uzkrāšanas caurule; f – lateksa savienotāji; g – mikrometra adata; h – fiksējošs uzgrieznis; i – O gredzens; j – mikrometra manipulators (izjauktā stāvoklī); k – plunžers; l – *Gilmont* stikla cilindrs; m – gredzenveida gumijas blīve.

šprīces turētājā iestiprina *Harbo* šprīces stikla cilindru (sk. 18. att. c), kurā savukārt ar lateksa savienotāja (sk. 18. att. d) palīdzību ir iestiprināti un savienoti apsēklošanas kapilārs (sk. 18. att. a) un spermas uzkrāšanas caurule (sk. 18. att. b).



18. att. *Harbo* šprīces stikla cilindrs un tā sastāvdaļas, kur: a – stikla apsēklošanas kapilārs; b – spermas uzkrāšanas caurule; c – šprīces cilindrs; d – lateksa savienotājs.

Ar otra lateksa savienotāja palīdzību ir savienota spermas uzkrāšanas caurule ar polivinila šļauku, kas tālāk jau ir savienota ar *Gilmont* mikrometru, kas atrodas uz galdā iestiprināts statīvā.

## 3.6. DARBA ŠĶĪDUMI UN MEDIKAMENTI

Procesa veikšanai ir nepieciešami šādi darba šķīdumi:

- $\geq 69\%$  medicīniskais etilspirts ( $C_2H_5OH$ ). To lieto darba virsmas (galda) un inventāra dezinfekcijai. Persona, kas veic bišu mātes apsēklošanas procesu, darba laikā arī rokas dezinficē ar etilspirtu;
- destilēts ūdens ( $H_2O$ ). To lieto inventāra mazgāšanai. Tas ir nepieciešams arī gadījumā, ja mājas apstākļos tiek pagatavots fizioloģiskais šķīdums;
- fizioloģiskais šķīdums. J. Harbo [17] un J. Balžekas (personīgie kontakti) iesaka lietot 0,85–0,9% NaCl. E. Holms [22] iesaka fizioloģiskā šķīduma pH noregulēt līdz 8,5 (viegli sārmais), ko panāk, lietojot NaOH vai KOH.

Lai apsēklošanas laikā izvairītos no slimību ierosinātājiem un spermas saindēšanās, fizioloģiskajam šķīdumam pievieno antibiotikas. H. Laidlaw [24] iesaka lietot dihidrostreptomcīnu. J. Harbo [17] norāda, ka var lietot arī streptomcīna un penicilīna maisījumu. J. Balžekas (personīgie kontakti) atzīst, ka vienlīdz labi var lietot arī citas antibiotiskās vielas. Gan antibiotikas, gan augstāk uzskaitītos darba šķīdumus ir iespējams iegādāties aptiekā, tomēr antibiotiku un fizioloģiskā šķīduma iegādāšanai vajadzēs ārsta izrakstītu recepti.

## 3.7. SĪKAIS INVENTĀRS

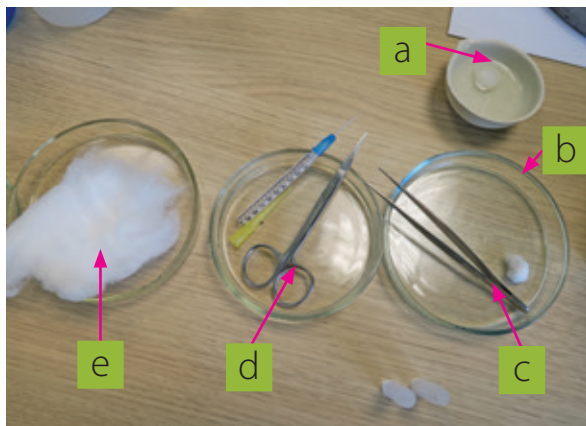
Darbam ar destilētu ūdeni, fizioloģisko šķīdumu un etilspirtu ir nepieciešamas trīs 100–200 ml **strūklēns** (sk. 19. att.). Antibiotiku un fizioloģiskā šķīduma sajaukšanai noderēs ap500 ml stikla vai keramikas **pudele**. Precīza darba šķīdumu iemērīšanai ir nepieciešams **mērcilindrs**.



19. att. Strūklēnēs uzglabā darba šķīdumus.

Vienreizlietojamās **šļircēs** (20–50 ml) noderēs 0,9% NaCl izsūkņēšanai no oriģinālās iepakojuma taras, kā arī *Harbo* šprīces mazgāšanai. Vienreizlietojamā **šļirce** (1–2 ml), noderēs gadījumā, ja iegādātās antibiotikas preparatīvā forma ir šķidrā veidā. E. Holm [22] iesaka šļircēs aprīkot ar 0,22 mikronu **bakterioloģisko filtru**. Ar antibiotikām sajauktu 0,9% NaCl šķīdumu uzglabā **ledusskapī**. Neliels **tīģelītis** vai kāds cits stikla, plastmasas vai keramikas trauks, kas uzpildīts ar fizioloģisko šķīdumu,

nodrošinās tam vieglu un ātru piekļuvi spermas savākšanas vai bišu mātes apsēklošanas laikā. Trana spermas savākšanas laikā, kā arī veicot inventāra dezinfekciju ir nepieciešama **sterila kokvilnas vate**. Uz galda sterilas vates uzglabāšanai lieti noderēs **petrī plate**, bet tās lietojamas arī cita dezinficēta sīkā inventāra uzglabāšanai (sk. 20. att.).



20. att. Uz darba virsmas izvietots sīkais inventārs, kur: a – tiģelītis ar fizioloģisko šķīdumu; b – petri plate; c – pincete; d – medicīniskās šķēres; e – kokvilnas vate.

Smalka **pincete** noderēs dažādās situācijās, piemēram, ļaus viegli satvert nelielu vates gabaliņu, ar kuru nepieciešams dezinficēt dzeloņa vai vēdera āķi. Bišu mātes ievadišana bišu mātes turētājcaurulē ir praktiski neiespējama **bez bišu**

**mātes atkāpšanās caurules** lietošanas. Lai atvieglotu bišu mātes dzeloņa kambara atvēršanu, lieto smalku metāla (piemēram, koka rokturī iestiprināta adata) vai stikla **stienīti**, kura gals ir gludi noapaļots (sk. 21. att.).



21. att. Palīgierīce – stikla stienītis – dzeloņa kambara atvēršanai.

Nelielas, asas **šķērites** noderēs bišu mātes spārna saīsināšanai. Bišu māšu marķēšanai ar plastikāta numuriņiem ir nepieciešami **sērkociņi** vai **zobu bakstāmie kociņi**, kā arī **lime** un **plastikāta numuriņi**. Šprīces stikla kapilāra tīrīšanai lieto ļoti smalku **metāla stieples pavedienu** (sk. 22. att.). S. Cobey norāda, ka metāla un stikla inventāra sterilizācijai var lietot pārtikas **ātrvārāmo katlu**. Visbeidzot, neliels plastmasas **konteiners** ir nepieciešams beigto tranu izsviešanai.

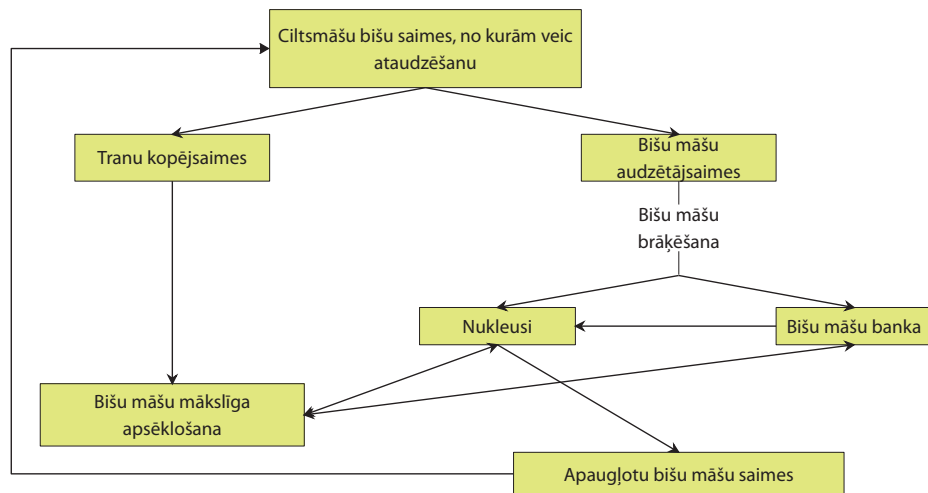


22. att. Smalks metāla stieples pavediens apsūklošanas kapilāra tīrīšanai.

# 4. SAGATAVOŠANĀS DARBI

## 4.1. TRANU UN BIŠU MĀŠU AUDZĒŠANA

Tikai sasaistot bišu māšu un tranu audzēšanas sistēmas ar bišu māšu mākslīgās apsēklošanas sistēmu, ir iespējams panākt labu rezultātu. Lai sekmīgi sasaistītu visus nepieciešamos procesus, dravā ir jāorganizē viena kopēja sistēma. Šādu iespējamās sistēmas paraugu skatīt 23. attēlā.



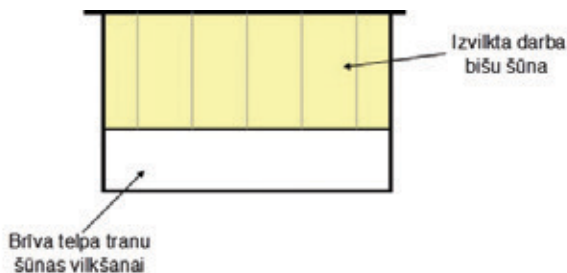
23. att. Bišu māšu mākslīgās apsēklošanas sistēmas organizēšana dravā.

Darbs laboratorijā sākas tikai tad, kad dravā ir izaudzētas bišu mātes un trani. Turklāt abiem, gan sievišķajiem, gan vīrišķajiem īpatņiem ir jābūt sasniegušiem dzimumgatavību. Būtībā bišu māšu sagatavošana mākslīgajai apsēklošanai neatšķiras no mums tik labi zināmajām bišu māšu audzēšanas metodēm. Nopietna vērība ir jāpievērš tranu audzēšanai. Tādas zināmas autoritātes kā J. H. Atkinson [2] un S. Cobey [6] atzīst, ka zināma vecuma un zināmas izcelsmes tranu sagatavošana bišu māšu mākslīgajai apsēklošanai ir sarežģīts un nozīmīgs faktors. Nereti tas ir limitējošais faktors.

Iespējams, ka dažu bišu māšu mākslīgajai apsēklošanai nav nepieciešams veidot sarežģītu tranu audzēšanas sistēmu. Tomēr, ja plāno apsēklot lielu skaitu bišu mātes ar zināmas izcelsmes un zināma vecuma traniem, tad ir nepieciešams veidot tranu audzēšanas sistēmu.

**Tranus** dravā uzsāk audzēt pirmos. No neapaugļotas oliņas izdēšanas brīža līdz dzimumgatavību sasniegušam imago pāiet aptuveni 36 dienas. Gan S. Cobey [6], gan F. Ruttner [28] norāda, ka tranu audzēšana jāuzsāk jau aptuveni 40 dienas pirms to izmantošanas bišu māšu mākslīgajā apsēklošanā. Tā, piemēram, ja bišu mātes mākslīgi plāno apsēklot, sākot ar 1. jūniju, tad tranu kāre izvēlētajā ciltssaimē ir jāievieto ne vēlāk kā 22. aprīlī.

Lai pastiprināti audzētu bišu saimē tranus, lieto tranu kāri. J. Balžekas (personīgie kontakti) par tranu kāri iesaka izmantot standarta peru telpas apkāri, no kuras kopējās virsmas ne vairāk par 1/3 aizņem tranu šūna. Atlikušo apkāres virsmas laukumu aizņem izvilktā darba bišu šūna (sk. 24. att.). Ieteikums tranu apkāri horizontālā plāknē sadalīt ar koka listi, tas atvieglos mākslīgās šūnas iestiprināšanu.



24. att. Tranu apkāres paraugs.

Protams, par tranu kāri var lietot arī pilnu standarta peru telpas apkāri. Tomēr autora personīgā pieredze liecina, ka pilnas standarta peru telpas apkāres lietošana sevi neattaisno. Parasti bišu māte šādu apkāri piedēž nevienmērīgi. Iespējams, to var novērst, lietojot izolatoru.

Tranu kāre pirms ievietošanas ciltssaimē ir savlaicīgi jāsaprot, tas ir, jāļauj bišu saimei izvilkt gan darba bišu, gan tranu šūnu, turklāt S. Cobey [6] iesaka lietot gaiši brūnu šūnu, kurā izaudzēta vismaz viena peru paudze. Savukārt J. Balžekas (personīgie kontakti) iesaka tranu šūnu ļaut izvilkt pašai ciltssaimēi, jo tikai pati saime spēj izvilkt sev optimālo tranu šūniņas izmēru.

Tranu audzēšanas sistēma sākas ar savlaicīgu ciltsmātes saimes izvēli, no kuras plāno ataudzēt tranus. Par ciltssaimēm izvēlas bišu saimes, kuras ir produktīvas un ar zemu spietošanas tieksmi. Tranu kāri ciltssaimē ievieto peru telpas ligzdas centrā un, kad tā ir piedēta, to pārceļ uz kopējsaimi. F. Ruttner [28] atzīmē, ka tranu kāri uz kopējsaimi drīkst pārcelt tikai tad, kad no oliņām ir izšķīlušies cirmeņi, pretējā gadījumā pastāv iespēja, ka kopējsaimes darba bites oliņas no ligzdas izsviedīs. Bieži izvēlētās ciltsmātes slikti piedēž brīvi ligzdā ievietotu tranu kāri. S. Cobey [6] iesaka vairākas metodes, ar kurām var panākt tranu kāres piedēšanu:

- bišu saimei mērķīgi rada spietošanas tieksmi. Spietošanas tieksmes laikā bišu saime daudz intensīvāk audzē tranus;
- tranu apkāri un bišu māti ievieto no māšu šķirsietā pagatavotā izolatorā, kuru ievieto bišu saimes peru telpas ligzdā. Bišu māte tranu apkāri piedēž piespiedu kārtā;
- ja pašu ciltsmāti neizdodas piespiest piedēt tranu kāri, tad no tās ataudzē meitu, kuru, mērķīgi 5–6 dienu vecumā anestezējot 7–10 minūtes ar CO<sub>2</sub> (2x ar 24 stundu intervālu), inducē kļūt par traneni. No ciltsmātes ataudzētā meita – tranene – dod iespēju iegūt lielu tranu skaitu.

Parasti piedēto tranu apkāri no ciltssaimes pārceļ uz kopējsaimi. Tam ir vairāki iemesli.

**Pirmkārt**, ciltssaimes slikti audzē tranus un grūti nodrošināt optimālus tranu audzēšanas apstākļus. **Otrkārt**, vienai saimei neļauj vienlaicīgi audzēt vairāk par 2000 traniem, kas pretējā gadījumā limitē tranu audzēšanu no ciltssaimes [28]. Vislabāk tranus kopj *problemātiskas* bišu saimes, piemēram, spieta noskaņā esoša, bezmātes vai bišu saime, kurā bišu māte ir nedējoša (neapaugļota). S. Cobey [6] norāda, ka pavasarī pārāka ir bišu mātes klātbūtnē sagatavota tranu kopējsaime, savukārt vasarā un sezonas beigās pārāka ir bezmātes tranu kopējsaime.

Daudzkorpora strops ir vispiemērotākais tranu kopējsaimes sagatavošanai. Bišu saimei blīvi ir jāapdzīvo vismaz divi korpusi. Starp apakšējo un augšējo korpusu izvieto māšu šķirsietu. Augšējā korpusā izvieto vaļējas un aizvākotās darba bišu peru kāres (visus tranu perus iznīcina), kā arī bagātīgus barības krājumus. Lai izvairītos no nevēlamiem traniem, kopējsaimes sagatavošanas laikā augšējā korpusā bites iedzen caur māšu šķirsietu. Ja kopējsaimi sagatavo dējošas bišu mātes klātbūtnē (ieteicams spietošanas noskaņojumā), tad bišu māti izvieto apakšējā korpusā. Savukārt, to sagatavojot neapaugļotas bišu mātes klātbūtnē, bišu māti izvieto apakšējā korpusā, kurš no augšas un apakšas ir nosprostots ar māšu šķirsietu [6]. Jaunava bišu māte apaugļoties netiek, līdz pilnībā nav izmantoti trani (pēc tranu izmantošanas to aizstāj ar citu māti). Piedēto tranu kāri ievieto sagatavotās tranu kopējsaimes augšējā korpusā starp vaļējām peru kārēm. Līdzīgi kā bišu māšu audzētājsaimi, arī tranu kopējsaimi stimulē ar cukura sīrupu un putekšņiem.

Pēc piedzimšanas trani ir iesprostoti kopējsaimes augšējā korpusā. Ir vairākas iespējas, kā saglabāt tranu dzīvotspēju līdz to spermas iegūšanai:

- Tranus augšējā korpusā uzglabā noslēgtus līdz to izmantošanai spermas iegūšanā. Šai metodei ir divas būtiskas negatīvas iezīmes. Pirmkārt, ir paaugstināts risks, ka daļa tranu ies bojā. Otrkārt, šādi trani spermas iegūšanas laikā stipri izvada izkārnījumus, kas pie paviršas strādāšanas var saindēt spermu. Šīs metodes galvenā pozitīvā iezīme, ka netiek zaudēta kontrole pār tranu izcelsmi;
- Tranus augšējā korpusā uzglabā noslēgtus, bet dienu pirms to izmantošanas spermas iegūšanā traniem ļauj aplidoties īsi pirms saulrieta [22]. Traniem var ļaut aplidoties vairākus vakarus pēc kārtas, bet jāņem vērā, ka tranu aplidināšanās laikā kopējsaimes skrejai ir jābūt aizdarītai ar māšu šķirsietu, kā arī vēlams, ka aplidināšanas laikā kopējsaime atrodas attālak no citām bišu saimēm. Šīs metodes pozitīvās iezīmes – traniem ir iespēja aplidoties un iztīrīties, turklāt lielāks skaits tranu saglabā dzīvotspēju. Tomēr šai metodei ir arī negatīvas iezīmes – ir paaugstināts risks, ka daļa tranu salidināsies pa citām saimēm, un zaudējam 100% kontroli pār izcelsmi;
- Tranus augšējā korpusā uzglabā noslēgtus, bet augšējam korpusam ir ierīkota sānu skreja, pie kuras ir piestiprināts neliels sieta būris, kurā ļauj traniem aplidināties;
- Tranus īsi pēc dzimšanas marķē un pēc tam tiem ļauj brīvi pārvietoties bišu saimē un aplidināties. Metode strādā labi, bet ir ļoti darbietilpīga.

Augstāk aprakstītās metodes ļauj iegūt zināmas izcelsmes tranus. Ja nav nepieciešama 100% kontrole pār tranu izcelsmi, tad traniem var ļaut brīvi pārvietoties kopējsaimē. Kvalitatīvi sagatavotu kopējsaimi lielākā daļa tranu nepametīs.

Tranus kopējsaimē uzglabāt drīkst tikai noteiktu laiku. J. Harbo [17] norāda, ka kvalitatīvu spermu ir iespējams iegūt no traniem, kuru vecums nepārsniedz 21 dienu. Spermas iegūšana no vecākiem traniem paaugstina slimību iespējamību vai spermas atliekvielu uzkrāšanos bišu mātes vidusolvadā, kas var izsaukt bišu mātes bojāeju pēc mākslīgās apsēklošanas.

**Bišu mātes** dravā uzsāk audzēt aptuveni 20 dienas vēlāk nekā tranus. J. Woyke [pārpublicēts no 17] atzīmē, ka 5–14 dienas vecas bišu mātes ir vispiemērotākās bišu māšu mākslīgajai apsēklošanai. Tomēr J. Harbo [17] norāda, ka, samazinot bišu mātes vidusolvadā ievadīto spermas daudzumu līdz  $5 \text{ mm}^3$ , sekmīgi var apsēklot arī vecākas bišu mātes.

Šajā darbā bišu māšu audzēšanā neiedziļināšos (plaši aprakstīta profesionālajā biškopības literatūrā), vien atzīmēšu nozīmīgākos faktus, kurus jāņem vērā pie bišu māšu audzēšanas.

Viegli apsēklot ir tikai kvalitatīvi izaudzētas un spēcīgas bišu mātes. Tādēļ lieti noder atcerēties F. Ruttner [28] piezīmi, ka, lai cik spēcīgi ir sagatavota bišu māšu audzētājsaime, vienlaicīgi tajā neaudzē vairāk par 25 bišu māšu cirmeņiem. Pēc bišu māšu dzimšanas tās izvieto nukleusos vai bišu māšu bankā un nevis krātiņos ar pavadonēm, kā to dara tradicionāli. Atgādināšu, ka nukleusa skreja ir jāaizdara ar bišu māšu šķirsietu, turklāt ieteicams, ka skreja ir pozicionēta nukleusa grīdiņā un nevis sēnā. Nukleusos jaundzimušās bišu mātes ir tiešā kontaktā ar darba bitēm, kā rezultātā tiek iegūtas spēcīgas, kvalitatīvas bišu mātes, turklāt pēc bišu mātes mākslīgās apsēklošanas ir iespējams pārbaudīt tās dēšanas kvalitāti. Savukārt bišu māšu banku tradicionāli lieto, ja operē ar ļoti lielu bišu māšu skaitu.



## 4.2. DARBI LABORATORIJĀ

Jau īsu laika sprīdi pirms bišu māšu un tranu dzimumgatavības sasniegšanas ir kvalitatīvi jā sagatavo darbam bišu māšu mākslīgās apsēklošanas inventārs. Turpmāk tekstā iedziļināsimies nozīmīgākajos inventāra sagatavošanas darbos.

### 4.2.1. FIZIOLOĢISKĀ DARBA ŠĶĪDUMA PAGATAVOŠANA

Gan J. Harbo [17], gan H. Laidlaw [24] iesaka lietot 0,85% NaCl un 0,25% dihidrostreptomicīna sulfāta (antibiotikas) šķīdumu. Mājas apstākļos pagatavojot fizioloģisko šķīdumu, J. Harbo [17] iesaka rīkoties šādi: mērcilindrā nomēra 400 ml destilēta H<sub>2</sub>O, kurā izšķīdina 4 g NaCl (1 g tīra NaCl tabletes pieejamas aptiekā) un 1 g dihidrostreptomicīna sulfāta. Autora pieredze liecina, ka kvalitatīvu rezultātu var panākt, arī lietojot gatavu 0,9% NaCl šķīdumu (nopērkams aptiekās), uz kura katriem 100 ml izšķīdina 0,25 g antibiotiku. Pagatavotu fizioloģisko darba šķīdumu uzglabā ledusskapī. E. Holm [22] iesaka ar antibiotikām pagatavoto fizioloģisko šķīdumu uzglabāt ledusskapī ne ilgāk par trīs dienām.

### 4.2.2. HARBO ŠPRICES SALIKŠANA

*Harbo* šprīces darbības princips ir līdzīgs hidraulikas ierīcei, kuras iekšējā sistēmā cirkulē fizioloģiskais darba šķīdums. Sekmīgas *Harbo* šprīces salikšana prasa akurātu rīcību.

Persona, kas veic šprīces salikšanu, dezinficē rokas ar etilspirtu. Roku dezinfekciju veic ik pa brīdim, pēc nepieciešamības. Ar vates pikuci, kas piesūcināts ar  $\geq 69\%$  etilspirtu, dezinficē galda virsmu. To veic lokāli vietā, kur noris šprīces salikšana. Tam seko *Harbo* šprīces detaļu dezinfekcija. S. Cobey iesaka šprīces stikla daļas sterilizēt autoklāvā (noder arī ātrvārāmais katls). Savukārt plastmasas detaļas, kā arī polivinila šļauku un lateksa savienotājus dezinficēt ar 5% hipohlorīta\* šķīdumu. Raksta autora pieredze liecina, ka sekmīgi šprīces sastāvdaļas var dezinficēt arī ar  $\geq 69\%$  etilspirtu, tomēr tā bieža lietošana var negatīvi ietekmēt polivinila šļauku, lateksa savienotāju un plastmasas detaļu kvalitāti, kā arī samazina to lietošanas ilgumu. Pēc ķīmiskās dezinfekcijas šprīces detaļas rūpīgi skalo ar destilētu ūdeni.

Nelielā tīgelītī vai kādā citā keramikas vai stikla traukā, kas dezinficēts ar  $\geq 69\%$  etilspirtu (spirtam ļauj izgarot) un izskalots ar destilētu ūdeni, ielej pagatavoto fizioloģisko darba šķīdumu, kuru izmanto šprīces salikšanā.



Turpmāk soli pa solim ar vizuālu attēlu palīdzību lasītāju iepazīstināšu ar *Harbo* šprīces salikšanas tehniku jeb sagatavošanu darbam (sk. attēlus no 25. līdz 47.).

25. att. Mikrometra plunžeru ļoti plānā kārtiņā iesmērē ar vazelinu. Šo soli var arī apiet, to neveicot.



26. att. Ar mikrometra manipulatora palīdzību panāk, ka tā plunžers\*\* ir ļoti īsā stāvoklī.



27. att. *Gilmont* mikrometra stikla cilindru savieno ar adatu.



28. att. Vienreizlietojamā 2–5 ml špicē uzņem ar antibiotikām pagatavoto fizioloģisko šķīdumu.



29. att. Vienreizlietojamās šprīces adatu ievieto *Gilmont* mikrometra stikla cilindrā un to uzpilda ar fizioloģisko šķīdumu, adatu pakāpeniski virzot laukā no cilindra. *Gilmont* mikrometra stikla cilindra uzpildīšanu ar fizioloģisko šķīdumu veic akurāti, lai fizioloģiskais šķīdums būtu viengabalains un bez gaisa burbuļu pārrāvumiem.



30. att. *Gilmont* mikrometra plunžeru savieno ar stikla cilindru, tā, lai starp plunžeru un fizioloģisko šķīdumu neveidotos gaisa burbuļi.



31. att. Stikla cilindru nofiksē ar O gredzenu un fiksējošu uzgriezni.

\*\* Gremdvirzulis — virzulis, kura garums stipri pārsniedz diametru (hidrauliskās mašīnās).



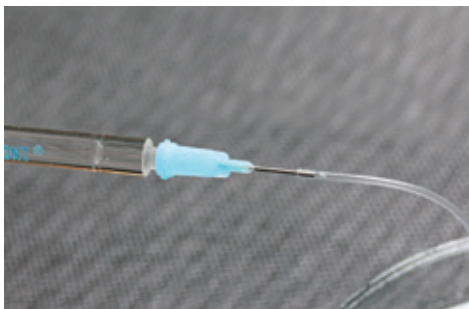
32. att. Pagriežot *Gilmont* mikrometra manipulatoru, pagarina plunžeru, rezultātā no stikla cilindra un adatas gala izvada lieko gaisu. Dažkārt viegls piesitiens adatas galam palīdz atbrīvot tur esošos gaisa burbuļus.



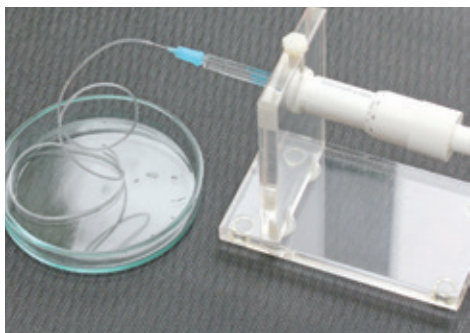
33. att. Mikrometru pilnībā uzpilda ar fizioloģisko šķīdumu. To panāk, *Gilmont* mikrometra adatas galu pilnībā iegremdējot fizioloģiskajā šķīdumā, un, lai izvairītos no gaisa ieraušanas mikrometrā, sākotnēji nelielu fizioloģiskā šķīduma daudzumu no tā izvada, un tikai tad seko šķīduma uzņemšana cilindrā.



34. att. Polivinila šļauku savieno ar *Gilmont* mikrometra adatu.



35. att. Adata savienota ar polivinila šļauku.



36. att. Akrilāta statīvā ievieto *Gilmont* mikrometru un to stingri nofiksē ar skrūvi tam paredzētajā vietā.



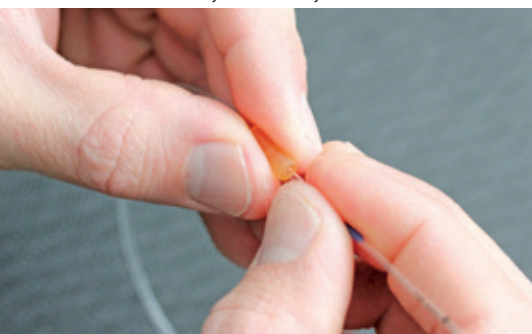
37. att. Ar manipulatora palīdzību no *Gilmont* mikrometra izvada fizioloģisko šķīdumu, panākot, ka šķīdums viengabalaini piepilda polivinila šļauku. Šļaukā fizioloģiskajam šķīdumam ir jābūt bez gaisa burbuļu klātbūtnes.



38. att. Atkārtoti *Gilmont* mikrometru pilnībā uzpilda ar fizioloģisko šķīdumu. To panāk, polivinila šļaukas brīvo galu pilnībā iegremdējot fizioloģiskajā šķīdumā, un, lai izvairītos no gaisa ieraušanas mikrometrā, sākotnēji nelielu fizioloģiskā šķīduma daudzumu no tā izvada, un tikai tad seko šķīduma uzņemšana mikrometrā.



39. att. Polivinila šļaukas brīvo galu 4–5 mm dziļumā ievirza lateksa savienotājā. Nereti savienošanas procesā polivinila šļaukas galā veidojas nelieli gaisa burbulīši. No tiem atbrīvojas brīdī, kad uzpilda ar fizioloģisko šķīdumu spermas uzkrāšanas cauruli.



40. att. Lateksa savienotāja brīvajā galā 3–5 mm dziļumā ievirza spermas uzkrāšanas cauruli. To veic uzmanīgi un ar izjūtām, jo spermas uzkrāšanas caurule ir trausla.



41. att. Ar manipulatora palīdzību no *Gilmont* mikrometra izvada fizioloģisko šķīdumu un pilnībā uzpilda spermas uzkrāšanas cauruli.



42. att. Atkārtoti *Gilmont* mikrometru uzpilda ar fizioloģisko šķīdumu. To panāk, spermas uzkrāšanas caurules brīvo galu pilnībā iegremdējot fizioloģiskajā šķīdumā, un, lai izvairītos no gaisa ieraušanas mikrometrā, sākotnēji nelielu fizioloģiskā šķīduma daudzumu no tā izvada, un tikai tad seko fizioloģiskā šķīduma uzņemšana mikrometrā.



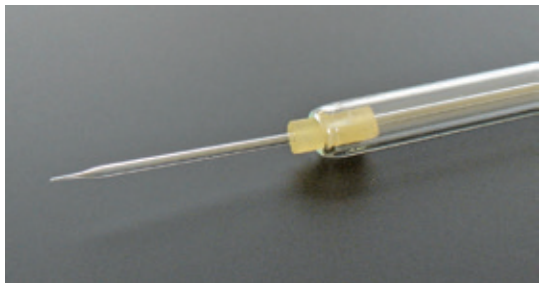
43. att. Spermas uzkrāšanas cauruli, kurai seko polivinila šļauka, izvada caur šprinces stikla cilindru, tā, lai šprinces stikla cilindra šaurākajā daļā dažus centimetrus izvirzītos spermas uzkrāšanas caurule.



44. att. Spermas uzkrāšanas caurules brīvo galu, kas izvirzīts caur šprinces stikla cilindru, 3–5 mm dziļumā ievirza lateksa savienotājā.



45. att. Stikla apsūklošanas kapilāru ievirza 3–5 mm dziļi lateksa savienotāja brīvajā galā.



46. att. Spermas uzkrāšanas caurules un stikla apsūklošanas kapilāra lateksa savienotāju iestiprina šprinces cilindra šaurākajā daļā.



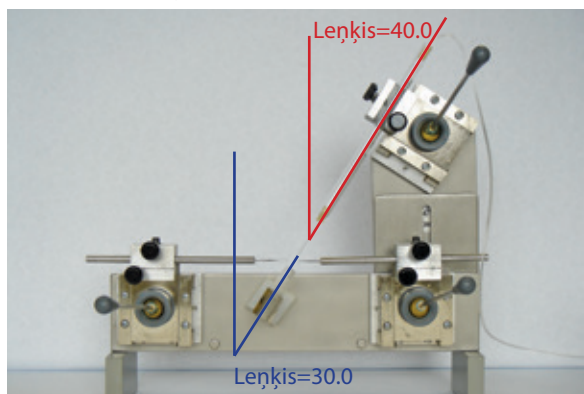
47. att. Ar manipulatora palīdzību no *Gilmont* mikrometra izvada fizioloģisko šķīdumu, rezultātā šķīdums piepilda lateksa savienotāju un apsūklošanas kapilāru. No *Gilmont* mikrometra fizioloģisko šķīdumu izvada tādā apmērā, lai rastos brīva vieta spermas uzņemšanai. Piemēram, ja darba procesā plānots uzpildīt 100  $\mu$ l spermas uzkrāšanas cauruli, tad no *Gilmont* mikrometra izvada lielāko daļu fizioloģiskā šķīduma, tajā atstājot vien ap 50–70  $\mu$ l.

Šādi sagatavot darbam *Harbo* šprici ir nepieciešams tikai vienu reizi sezonā. Izņemot gadījumus, ja polivinila šļaukā nokļūst sperma vai arī tās hidrauliskajā sistēmā parādās gaisa burbuļi. Regulārai tīrīšanai pakļauj vien apsūklošanas kapilāru, spermas uzkrāšanas cauruli, lateksa savienotājus un šprinces stikla cilindru.

J. Harbo [17] iesaka stikla apsūklošanas kapilārus uzglabāt 5% NaOCl\* (nātrija hipohlorīta) šķīdumā. Atgādināšu, ka to var lietot arī augstāk uzskaitīto šprīces detaļu dezinficēšanai.

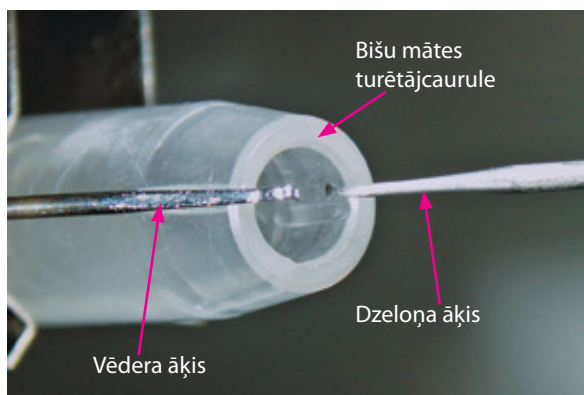
### 4.2.3. SWIENTY APSĒKLOŠANAS IERĪCES SAGATAVOŠANA DARBAM

Arī apsūklošanas aparatūras sagatavošana darbam prasa papildu uzmanību. Svarīgi ir precīzi iepozicionēt slīpumu, kādā atrodas šprīces kapilārs un bišu mātes turētājcaurule. Mackensen un Tucker [pārpublicēts no 17] iesaka bišu mātes turētājcauruli iepozicionēt 30° slīpumā no vertikāles, savukārt šprīces kapilārs veido 10° leņķi ar bišu mātes turētājcauruli (sk. 48. att.). Respektīvi, kapilārs ir nobīdīts par 10° vairāk uz horizontāli [3]. Šajā jautājumā starp bišu māšu apsūklošanas speciālistiem nav vienprātības. Tā, piemēram, E. Holm [22] iesaka bišu mātes turētājcauruli iepozicionēt 58° slīpumā pret horizontāli un šprīces kapilāru iepozicionēt 55° slīpumā pret horizontāli. Savukārt H. Laidlaw [26] *Mackensen* tipa instrumentam iesaka gan šprīces kapilāru, gan bišu mātes turētājcauruli iepozicionēt 32° slīpumā pret vertikāli.



48. att. Šprīces un bišu mātes turētājcaurules pozicionēšana pareizā slīpumā.

Uzmanība jāpievērš arī vēdera un dzeloņa āķa pareizai iepozicionēšanai (sk. 49. att.). Tos aparatūrā iepozicionē tā, lai ar tiem brīvi būtu iespējams pieskarties bišu mātes turētājcaurules augšējām malām. Lai to panāktu, ir jākorģē arī bišu mātes turētājcaurules augstums.



49. att. Iepozicionēta bišu mātes turētājcaurule un vēdera un dzeloņa āķis.

Visbeidzot aparatūras turētājā ievieto Harbo šprīces stikla cilindru. To iepozicionē tādā augstumā, lai brīvi būtu iespējams bišu mātes turētājcaurules atvērumā iegremdēt un no tā izcelt stikla apsūklošanas kapilāru. Tomēr augstums, kādā iepozicionē šprīces stikla cilindru, ir atkarīgs no veicamās darbības. Spermas savākšanas laikā to

pozicionē tuvāk galda virsmai tā, lai spermas savākšanas laikā rokas delna un plauksta, kurā tiek turēts trans, brīvi gulētu uz galda virsmas. Lai katru reizi nebūtu nepieciešams pierēgulēt atbilstošo šprīces stikla cilindra augstumu, vēlams uz to izdarīt atzīmes ar marķieri.

\* Nātrija hipohlorītu sadzīvē lieto dezinfekcijā un balināšanā [21]. OCl- jonam piemīt spēcīga oksidētāja spējas, un uzskata, ka tas dzīvā organisma šūnā, piemēram, baktērijā, oksidē dzīvības norisei nepieciešamos savienojumus, kā rezultātā dzīvais organisms iet bojā [5].

## 4.2.4. MIKROSKOPA SAGATAVOŠANA DARBAM

Stereomikroskopa ražotāja lietotāja instrukcija lieti noderēs tā sagatavošanai darbam. Personām, kas nekad nav strādājušas ar stereomikroskopu, vispirms jāsāk ar tā apgūšanu. Jāsaprot, ka bišu māšu apsēklošanas laikā roku kustības veic, skatoties mikroskopā, tādēļ ļabi jāpārzina mikroskopa asuma regulēšanas sviras (sk. 9. att. d), nepārtrauktas kustības palielinājuma sviras, kā arī apsēklošanas aparātūras manipulatoru atrašanās vietas un to darbības princips, lai bez acu atcelšanas no okulāriem būtu iespējams veikt vajadzīgo parametru iestatījumu. Mikroskopu sākotnēji vēlam apgūt, pētot vienkāršākus objektus, piemēram, beigtu biti, un tikai tad, kad apgūti pamatelementi, ķerties pie bišu māšu mākslīgās apsēklošanas apgūšanas.

Bišu māšu apsēklošanas aparāturu un stereomikroskopu uz galda izvieto tā, lai personai, kas veic bišu mātes mākslīgās apsēklošanas procesu, būtu ērti strādāt gan ar apsēklošanas aparāturu, gan stereomikroskopu. Arī atlikušo apsēklošanas inventāru (CO<sub>2</sub> reduktors, pincete, tiģelītis ar fizioloģisko šķīdumu, strūklene ar etilspirtu utt.) izvieto tā, lai tas būtu viegli aizsniedzams (sk. 8. att.).

## 5. SPERMAS IEGŪŠANA

Ja dravā izaudzētās bišu mātes un trani ir sasnieguši dzimumgatavību, tad ir iespējams uzsākt bišu māšu mākslīgo apsēklošanu. Apsēklošanas process sākas ar tranu spermas iegūšanu, kas vienlaicīgi ir arī darbietilpīgākais process bišu māšu mākslīgajā apsēklošanā. Tieši spermas savākšanas intensitāte limitē dienas laikā apsēklotu bišu māšu skaitu. E. Holm [22] raksta, ka profesionāls bišu māšu apsēklošanas speciālists dienā spēj apsēklot līdz pat 30 bišu mātēm. To apsēklošanai no traniem ir nepieciešams savākt 240 mm<sup>3</sup> spermas.

Pirmais solis šī procesa uzsākšanā ir inventāra sagatavošana spermas savākšanai. Sākotnēji darbam sagatavotas *Harbo* šprīces stikla cilindru iepozicionē apsēklošanas aparātūras šprīces turētājā un mikroskopa redzes lauku iestata asumā uz apsēklošanas stikla kapilāra atvērumu. Spermas savākšanas laikā to pozicionē tuvāk galda virsmai tā, lai rokas delna un plauksta gulētu uz galda, bet vienlaicīgi ar pirkstos satvertu tranu būtu viegli pieskarties stikla apsēklošanas kapilāra gala atvērumam. Ja darba laikā roka ir piepacelta no galda virsmas, tad tā ātri nogurst un trīc, tādēļ darba ergonomiskumam ir būtiska nozīme.



Ar etilspirtu dezinficē galda darba virsmu, kā arī pašu apsēklošanas aparāturu un pinceti (sk. 50. att.).

50. att. Darba virsmu un apsēklošanas aparāturu dezinficē ar spirtu.

Netālu no apsēklošanas aparātūras uz galda novieto vates pikuci. Uz galda novieto arī tiģelīti, vai kādu citu nelielu trauku ar pagatavotu fizioloģisko šķīdumu (pievienotas antibiotikas),

kurā ievieto nelielu vates gabaliņu. Nelielā plastmasas konteinerā, kurā plānots izsviest beigtos tranus, ielej nedaudz ūdeni, un to novieto uz vai zem galda, tā, lai beigtos tranus tajā ērti iesviest. Arī tranu kastei vai krātiņam, kurā plānots uz laboratoriju atnest tranus, izbrīvē brīvu vietu uz galda. Ja tas viss paveikts, tad ir pienācis laiks doties uz dravu pēc traniem.

Tranu pārnēsāšanai lieti noderēs speciāla tranu kaste (sk. 51. att.) vai koka bišu māšu krātiņi. J. Harbo [17] iesaka lietot 30x28x23 cm lielu tranu kastī, kuras viens sāns un augša ir noslēgta ar tumšu sietu. Tās vienā sēnā ir izveidots atvērums, kas nosegts ar auduma gabalu, lai tajā ērti būtu iespējams ievietot roku un satvert tranus, tajā pašā laikā traniem neļaujot izbēgt no kastes.



51. att. Tranu ķeršana stropā uz malējās apkāres un to ievietošana tranu kastē.

Ja trani ir izvietoti brīvi lidojošā tranu kopējsaimē, tad tranus brīvi salasa no ligzdas malējām apkārēm. Labos tranu lidošanas apstākļos, tos var salasīt arī no skrejas priekšpuses, skreju aizdarot ar māšu šķirsietu. Sarežģītāk tos iegūt, ja kopējsaimē tie ir spundēti. Tad ir nepieciešams lietot vēl papildu būri, kas atbilst stropa izmēriem un ir pagatavots no māšu šķirsietā. Šāda būra vienā sēnā ierīko atvērumu, kas aizklāts ar lupatu, lai tajā ērti ievietot roku un satvert tranus. Lai nepieļautu spundēto tranu pacelšanos gaisā, tad uz stropa novieto iepriekš aprakstīto būri un tikai tad nedaudz paver apkāres nosedzošo sedziņu. Būri ļauj pacelties ne vairāk kā 50 traniem. Caur pagatavoto atvērumu būra sēnā, kas nosegts ar lupatu, tranus saķer un pārvieto uz tranu kasti vai krātiņu. Savukārt, ja tranu kopējsaimē ir aprīkota ar papildu skreju, kura nosegta ar tranu aplidināšanās būri, tad ieteicams jau savlaicīgi šādā būrī iebūvēt atvērumu, caur kuru iespējams ievietot roku un salasīt tur atrodošos tranus.

Trani, atšķirībā no to spermas, ir ļoti neizturīgi, tādēļ uz laboratoriju vienlaicīgi nav ieteicams nest vairāk par 25–50 traniem. Tie aptuveni 30 minūšu laikā laboratorijā kļūst nekustīgi, un no šādiem traniem spermu sekmīgi iegūt grūti vai pat neiespējami.

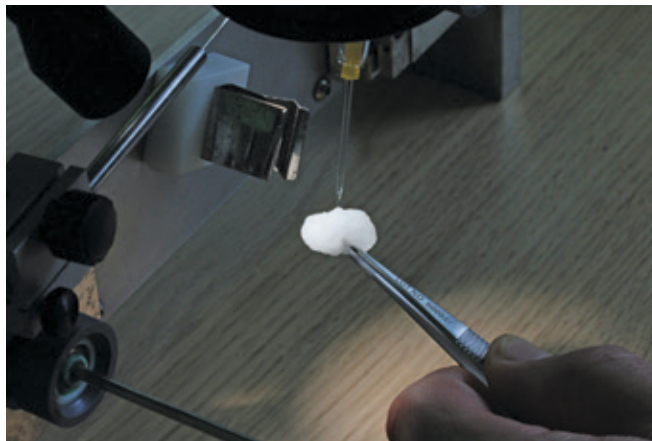
Uz laboratoriju atnesto tranu kasti novieto tā, lai kastes sāns, kurā iebūvēts siets, atrastos ar skatu prom no galda un aparatūras. Pretējā gadījumā kastē aktīvi lidojošie trani, kas ir tendēti izkārņīties, aptraipīs gan galdu, gan aparatūru. Pirms uzsāk darbu ar inventāru, rokas dezinficē ar etilspirtu. Vēl,

pirms sākam iegūt spermu no traniem, blakus aparatūrai novietoto vates pikuci piesūcina ar etilspirtu. Arī šprīces apsēklošanas kapilāru ir nepieciešams sagatavot spermas uzņemšanai. Ar pincetes palīdzību paņem fizioloģiskajā šķīdumā iemērktu vates gabaliņu (sk. 52. att.) un, ar to viegli pieskaroties, notīra kapilāra atvēruma galu (sk. 53. att.).



52. att. Vates pikuci darba laikā tur iemērktu nelielā trauciņā, piemēram, nelielā porcelāna tīģelī, ar fizioloģisko šķīdumu.





53. att. Pirms spermas uzņemšanas kapilāru apmitrina un notīra ar vates pikuci, kas piesūcināta ar fizioloģisko šķīdumu.

Ar *Gilmont* mikrometra manipulatora palīdzību atvēruma galā ievieļ aptuveni 3  $\mu$ l gaisa (sk. 54. att.) [17]. Tā rīkojas, lai, uzņemot spermu kapilārā, tā neatrstos tiešā kontaktā ar fizioloģisko šķīdumu. Ja tas viss paveikts, tad var sākt spermas iegūšanu.



54. att. Kapilārs sagatavots spermas uzņemšanai. Pirms spermas uzņemšanas kapilārā izveidots gaisa slānis.



55. att. Trana ķermeņa galvas un krūšu posma daļas satvertas ar iekšķī un rādītājpirkstu. Pirkstu radīto spiedienu pārnes uz krūšu posmu.

No tranu kastes tranus izceļ pa vienam. Lai tranu piespiestu izvadīt dzimumorgānu, tad to sākotnēji viegli satver aiz galvas daļas ar labās rokas rādītājpirkstu un iekšķī. Tranu pirkstos pozicionē tā, lai tā sternīta daļa atrodas ar skatu pret iekšķī. Pakāpeniski trana galvu saspiež un vienlaicīgi pirkstu kustību radīto spiedienu pārnes uz trana krūšu posmu (sk. 55. att.). To dara ar izjūtām!



Mirkli, kad daļēji saspiegts arī krūšu posms, trans izvada daļēji dzimumorgānu (sk. 56. att.). Šajā stadijā trana vēdera posms saraujas un kļūst stingrs. Ja tas tā nenotiek, tad tranu izbrāķē un ņem nākamo.

56. att. Daļēji izvadīts trana dzimumorgāns.

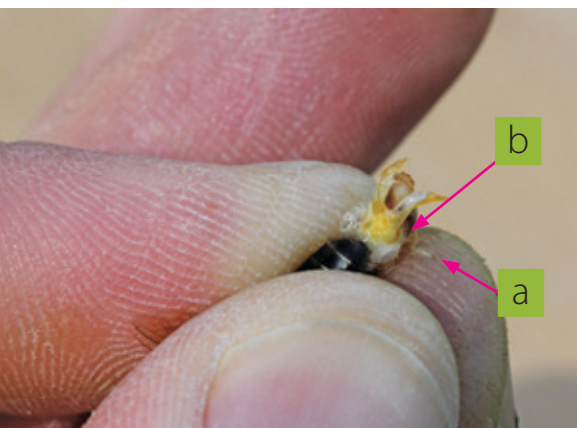
Daļēja trana dzimumorgāna izvadīšanu var panākt, lietojot arī alternatīvu metodi. Tranu saņem aiz krūšu posma ar kreisās rokas īkšķi un rādītājpirkstu. Pēc tam ar labās rokas īkšķi un rādītājpirkstu viegli satver trana vēdera posma galējos segmentus un tos viegli paveik trana galvas virzienā. Ja tas pareizi paveikts, tad trans daļēji izvada dzimumorgānu.

Parasti pēc augstāk aprakstīto metožu lietošanas trans dzimumorgānu izvada daļēji, tādēļ ir nepieciešams inducēt pilnīgu dzimumorgāna izvadīšanu. To panāk, trana sarāvušos un cieto vēdera posmu saspiežot sāniskā virzienā (sk. 57. att.).

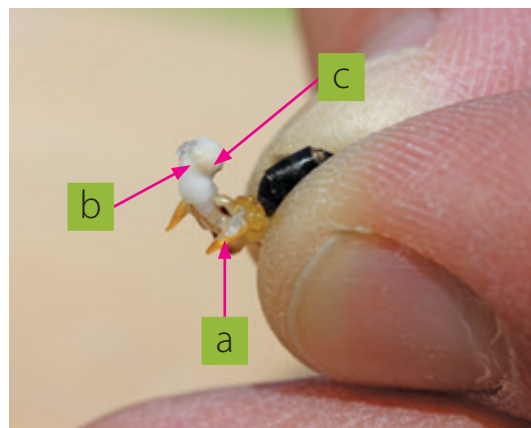


57. att. Trana vēdera posmu saspiež sāniski, spiedienu pārnesot uz daļēji izvadīta dzimumorgāna apakšējo daļu.

Labu rezultātu var panākt, arī lietojot alternatīvu metodi. Ar kreisās rokas īkšķi un rādītājpirkstu satver tranu aiz vēdera posma un, ar labās rokas īkšķi uzspiežot uz daļēji izvadītā dzimumorgāna apakšējās daļas (sk. 58. att.), panāk pilnīgu trana dzimumorgāna izvadīšanu (sk. 59. att.).



58. att. Pilnīgu trana pārošanās orgāna izvadīšanu var panākt, ar labās rokas īkšķi (a) uzspiežot uz daļēji izvadīta dzimumorgāna apakšējās daļas (b).



59. att. Pilnībā izvadīts trana pārošanās orgāns, kur orgāna a – tausteklis, b – galvas daļa jeb pūslis, uz kuras izlijusi sperma (c).

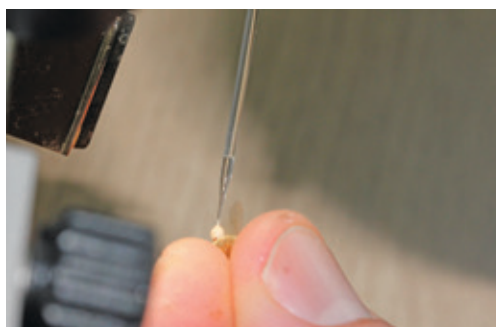
Trana dzimumorgāna izvadīšanu veic uzmanīgi, lai tā pilnīgas izvadīšanas mirklī sperma nepieskartos ķermeņa virsmai. Ja dzimumorgāna izvadīšanas momentā sperma pieskaras trana ķermeņa virsmai, tad šādu spermu kapilārā uzņemt nedrīkst un tranu izbrāķē, jo pretējā gadījumā ir paaugstināts mikrobioloģiskais un mehāniskais piesārņojuma risks, kas vēlāk pēc mākslīgas apsēklošanas var izraisīt bišu mātes bojāeju [24]. Bieži sperma pieskaras trana ķermeņa virsmai, ja pēc daļējas trana dzimumorgāna izvadīšanas un mākslīgas inducēšanas automātiski trans izvada pilnīgu dzimumorgānu.

Dažkārt īsi pirms dzimumorgānu izvadīšanas trans vienlaicīgi arī izkārnās un izkārnījumu saturs nokļūst uz pirkstiem (sk. 60. att.). Parasti tā rikojas trani, kas nav aplidojušies. Pirkstus ātri iespējams aptīrīt vates pikucī, kas piesūcināts ar etilspirtu un atrodas uz galda virsmas netālu no aparatūras.



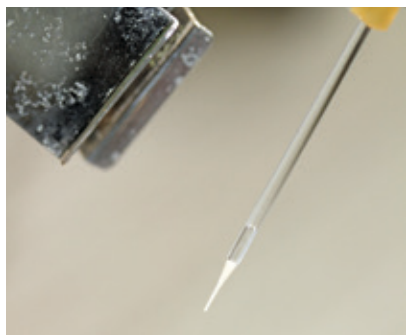
60. att. Neaplidojušies trani īsi pirms dzimumorgānu izvadīšanas izkārnās.

Ja trans dzimumorgānu ir pilnībā izvadījis, tad seko spermas uzņemšana kapilārā. Spermas uzņemšanu kapilārā uzsāk uzmanīgi, jo kapilārā uzņemt drīkst tikai spermu! Skatoties mikroskopā kapilāra galu pietuvina spermai un tai viegli pieskaras. Kad kapilārs nonācis kontaktā ar spermu, to nedaudz attālinot, spermu iestiep un, pagriežot *Gilmont* mikrometra manipulatoru, uzsāk spermas uzņemšanu kapilārā (sk. 61. att.). Nekādā gadījumā kapilāra atvērums nedrīkst iegremdēt dzimumorgāna galvas daļā. Svarīgi atcerēties, ka sperma atrodas tikai uz gļotu virsmas!



61. att. Ar kapilāra atvērumu viegli pieskaras spermai, to viegli iestiep un uzsāk tās uzņemšanu kapilārā.

Ja uzņemšanas laikā pazūd kontakts starp spermu un kapilāra atvērumu, tad nelielu tās daudzumu no kapilāra izvada uz trana dzimumorgāna galvas virsmas. Rezultātā tiek atjaunota saskare starp spermu un kapilāra atvērumu. Spermu savāc viengabalaini (sk. 62. att.), un ir jāizvairās no gaisa burbuļu ieraušanas kapilārā.



62. att. Viengabalaini savākta sperma no pirmā trana.

Kad visa sperma no trana ir iegūta, tad to izvies uz vai zem galda esošajā konteinerā, trana kastē ņemamo tranu un no tā izvada dzimumorgānu. Lai uzsāktu spermas uzņemšanu no nākamā trana, kapilāra atvērums pietuvina uz trana dzimumorgāna esošajai spermai, tai nepieskaroties, no kapilāra izvadot nelielu spermas daudzumu, panāk kontaktu starp kapilāra atvērumu un spermu (sk. 63. att.). Šādi rīkojas, ja darbs rit raiti.



63. att. Spermas uzņemšana secīgi no nākamā trana.

Spermai nedrīkst ļaut kapilārā iekalst. Ja dzimumorgāna izvadīšana no traniem rit gausi, tad ir nepieciešams spermu kapilārā mitrināt ar fizioloģisko šķīdumu, un tikai pēc tam uzņemt spermu no nākamā trana. Kapilārā esošās spermas mitrināšanu ar fizioloģisko šķīdumu veic ar vates palīdzību, kas iemērta fizioloģiskajā šķīdumā. Lai to paveiktu, ar

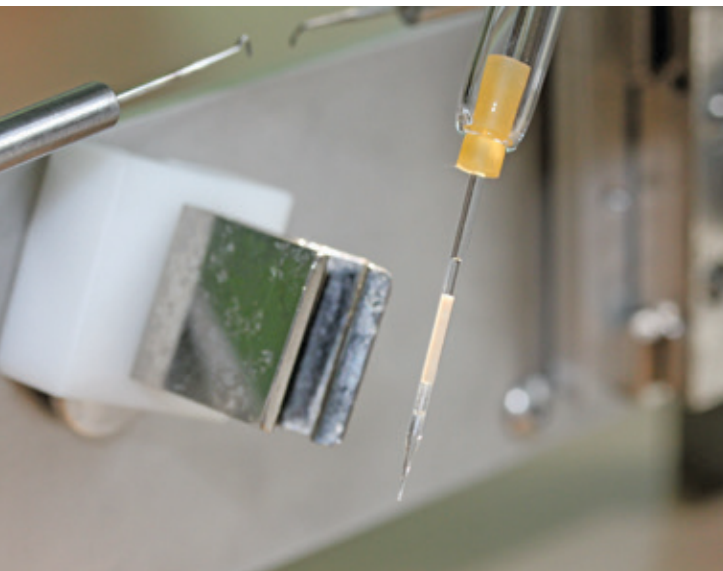


pinčetes palīdzību saņem fizioloģiskajā darba šķīdumā iemērktu vates pikuci un to pietuvina kapilāra atvērūmam. Ar *Gilmont* mikrometru panāk, ka sperma atrodas tieši kapilāra atvērūma galā un, viegli pieskaroties kapilāra atvērūmam ar vates pikuci, panāk spermas samitrināšanu ar fizioloģisko šķīdumu (sk. 64. att.).

64. att. Ja darbs sokas gausi, tad laiku pa laikam kapilāra atvērūma galā esošo spermu mitrina ar fizioloģisko šķīdumu.

Neuzmanīgi strādājot, kapilārā ir iespējams ieraut arī gļotas. Gļotas kapilāru var nosprostot, kā arī nav pieļaujama to ievadīšana bišu mātes vidusolvadā. Tādēļ, ja kapilārā ierauj gļotas, tad tās ar steigu no kapilāra izvada. Nelielu gļotu daudzumu iespējams izvadīt ar *Gilmont* mikrometra palīdzību, bet, ja kapilārā ierauj lielu daudzumu gļotu, tad kapilāru no sistēmas atvieno un tīra ar smalku stieples pavedienu.

Lai pēc visu tranu izmantošanas savāktā sperma neatrastos tiešā saskarē ar gaisu un neiekalstu, tad kapilāra atvērūma galā izveido aptuveni 3  $\mu$ l gaisa slāni, pēc kura seko aptuveni 4  $\mu$ l darba fizioloģiskā šķīduma uzņemšana. Līdz ar to sperma kapilārā atrodas nosprostota starp diviem gaisa slāņiem, kas savukārt nosprostoti ar fizioloģisko šķīdumu (sk. 65. att.).



65. att. Pēc spermas savākšanas to no abiem galiem ieskauj gaisa un fizioloģiskā šķīduma slāņi, lai tā neiekalstu.

Šādi spermu kapilārā uzglabā vienmēr. Turklāt, kā atzīst J. Balžekas (personīgie kontakti), ja spermu neizdodas izmantot bišu māšu apsēklošanai tās pašas dienas laikā, kad sperma savākta, šādi uzglabājot, to ir iespējams sekmīgi izmantot vēl nākamajā dienā. Vien jāatceras, ka to uzglabā normālā istabas temperatūrā un nepakļauj tiešiem saules stariem.

*Harbo* lielas kapacitātes šprīce sekmīgi ļauj savākt un uzglabāt spermu līdz pat divām nedēļām [20]. Tomēr sagatavošanās darbi ir nedaudz complicētāki. Šādā situācijā visu spermu uzņem *Harbo* šprīces spermas uzkrāšanas caurulē un tās abus galus aizdara ar vazelinu, neatstājot gaisa slāni starp spermu un vazelinu.

## 6. APSĒKLOŠANA

Ja reiz ir iegūta tranu sperma, tad ir iespējams uzsākt bišu māšu mākslīgu apsēklošanu. Sākotnēji, līdzīgi kā spermas savākšanas gadījumā, ir nepieciešams sagatavot inventāru. Jāpārregulē ir gan stereomikroskops, gan apsēklošanas iekārta.

Aparatūras fiksatorā ievieto bišu mātes turētājcauruli un iestata pozīcijā, tā, lai tās augšējās daļās atvērumu brīvi iespējams aizkart gan ar dzeloņa, gan vēdera āķi. Savukārt *Harbo* šprīces stikla cilindru iepozicionē tādā augstumā, lai brīvi būtu iespējams bišu mātes turētājcaurules atvērumā iegremdēt un no tā izcelt stikla apsēklošanas kapilāru. Pēc tam stereomikroskopa redzes laukā iestata asumā bišu mātes turētājcaurules augšējo atvērumu un abus āķus.

Ar etilspirtu dezinficē galda darba virsmu, kā arī pašu apsēklošanas aparatūru un citu bišu māšu apsēklošanai nepieciešamo siko inventāru (šķēres, pincete, u.c.). Dezinfekcijai pakļauj arī bišu mātes atkāpšanās cauruli un bišu mātes turētājcauruli. Netālu no apsēklošanas aparatūras uz galda novieto vates pikuci.

Ja bišu mātes ir izvietotas nukleusos (vēlams), tad bišu māšu saķeršanai ir nepieciešami bišu māšu krātiņi, marķieris un rokas smidzinātājs (dārzkopības). Rokas smidzinātāju uzpilda ar tīru ūdeni. Lai nezaudētu kontroli pār bišu mātes izcelsmi, vēlams, ka visi nukleusi ir numurēti.

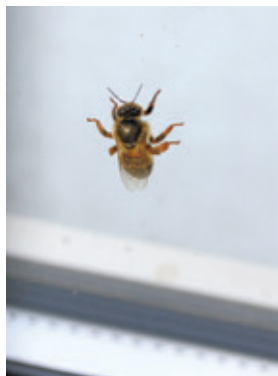
Nukleusā, dienas laikā ņerot neapaugļotu bišu māti, ir jāuzmanās, ka tā nepaceļas gaisā. Lai tas nenotiktu, ar rokas smidzinātāja palīdzību nukleusā esošās bites viegli apsmidzina ar ūdeni (sk. 66. att.).



66. att. Dienas laikā ņerot bišu māti, ar ūdeni viegli apsmidzina gan nukleusā, gan uz kāres esošās bites, līdz bišu māti atrod!

Noķerto bišu māti ievieto krātiņā, kas ir marķēts ar atbilstošā nukleusa numuru. Autora pieredze liecina, ka ļoti ērti ir strādāt ar *Nicot* sistēmas ruļļiem. Uz laboratoriju vienlaicīgi nenes vairāk par 3–5 bišu mātēm. Jāņem vērā, ka bišu mātei nukleusā ir jāatgriežas ne vēlāk kā divu stundu laikā.

## 6.1. BIŠU MĀTES TURĒTĀJCAURULES LIETOŠANA



Uz laboratoriju atnestās bišu mātes apsēklo pa vienai. Ieteicams, ka bišu māti pirms apsēklošanas aplidina pret logu (sk. 67. att.), bet to var arī apiet. Tas ļauj bišu mātei nepieciešamības gadījumā izkārņties, kā arī ir iespējams novērtēt tās kvalitāti. Gadās, ka sprostotām mātēm, piemēram, bišu māšu bankā glabātām, ir ārēji defekti, it īpaši uzmanību pievēršot ekstremitāšu kvalitātei. Kroplas bišu mātes likvidē.

67. att. Pret loga rūti viegli novērtēt bišu mātes kvalitāti.

Pēc aplidināšanās to iemāna bišu mātes atkāpšanās caurulē un tās platāko atvērumu nosprosto ar pirkstu (sk. 68. att.), lai neizsprūk. Ir dažādas tehnikas, ar kuru palīdzību bišu māti iemāna atkāpšanās caurulē. Atzīmēšu dažas:

- bišu māti ieskauj saujā un starp īkšķi un rādītājpirkstu paver spraugu, kurā ievirza bišu mātes atkāpšanās caurules platāko atvērumu – tiecoties uz gaismu, bišu māte pati ieskrien atkāpšanās caurulē (sk. 69. att.);
- bišu mātei esot pret logu, tās galvas daļai pietuvina atkāpšanās caurules platāko atvērumu un ar kreisās rokas pirkstu palīdzību to ievirza caurulē (sk. 70. att.);
- bišu māti ar īkšķi un rādītājpirkstu satver aiz spārniem vai krūšu posma un ar galvas daļu pa priekšu ievirza bišu mātes atkāpšanās caurules platākajā atvērumā. Veicot šo darbību, jāuzmanās, ka nesatraumē bišu māti.



68. att. Bišu māte iemānīta atkāpšanās caurulē.

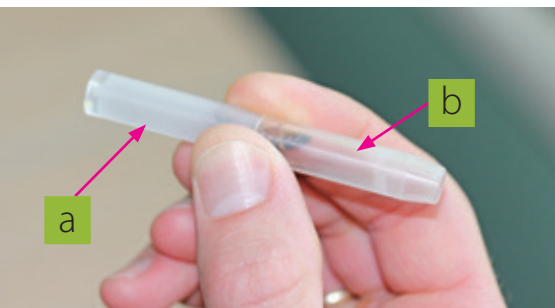


69. att. Bišu mātes atkāpšanās caurule ieskauta starp īkšķi un rādītājpirkstu.



70. att. Pret logu esošas bišu mātes iemānīšana atkāpšanās caurulē.

Nākamajā solī, strauji atlaižot pirkstu, savieno atkāpšanās caurules un bišu mātes turētājcaurules platākos atvēruma galus un ļauj bišu mātei atmuguriski atkāpties turētājcaurulē (sk. 71. att.). Līdzko bišu māte ir atkāpusies turētājcaurulē, ar pirkstu nosprosto tās platāko atvērumu, lai tā nespētu no caurules izbēgt (sk. 72. att.).



71. att. Bišu māte atmuguriski atkāpjas turētājcaurulē, kur a – atkāpšanās caurule un b – turētājcaurule.



72. att. Bišu mātes vēdera posma segmenti izvirzījušies ārpus turētājcaurules šaurāko atvērumu.

Ja reiz bišu māte ir ieskrējusi turētājcaurulē, tad seko precīzas CO<sub>2</sub> plūsmas dozēšana. Parasti manometru nelieto un ļoti labi iztiek vien ar burbuļkolbu jeb gāzu atmazgāšanas kolbu. Ja laboratorijas reduktors ir aprīkots ar precīzu manometru, tad J. Harbo [17] iesaka to noregulēt tā, lai CO<sub>2</sub> plūsma būtu aptuveni 35 ml/min. Tomēr ļoti labu rezultātu panāk, CO<sub>2</sub> plūsmas intensitāti regulējot, balstoties uz burbuļkolbas rādījumiem. Precīza gāzes plūsma ir noregulēta, ja burbuļkolbas ūdenī ir iespējams izdalīt lēni plūstošus atsevišķus gāzes burbuļus (sk. 73. att.). Būs iespējams saklausīt atsevišķus tik...tik...tik... un nevis trrrrrrrrr.....!



73. att. Pirms bišu mātes anestēzijas noregulē CO<sub>2</sub> plūsmu tā, lai burbuļkolbā būtu skaidri saskatāmi un atdalāmi ogļskābās gāzes burbuļi.



74. att. Anestēzijas laikā bišu māte nereti saraujas un ievirzās caurulē.

Tikai pēc tam, kad ir precīzi nodozēta CO<sub>2</sub> plūsma, ir iespējams savienot bišu mātes turētājcauruli ar ogļskābās gāzes vārstu (sk. 74. att.). Parasti bišu māte ogļskābās gāzes ietekmē nekustīga kļūst dažu sekunžu laikā. Vienmērīga ogļskābās gāzes plūsma nodrošina bišu mātes anestēziju visā tās apsūkšanas laikā.

Gan J. Balžekas (personīgie kontakti), gan J. Harbo [17] iesaka bišu māti turētājcaurulē iepozicionēt tā, lai vēdera posma beidzamie 2–2,5 segmenti izvirzītos ārpus turētājcaurules sašaurinātā atvēruma gala. Šajā jautājumā nav vienprātības starp apsēklošanas speciālistiem, tā, piemēram, H. Laidlaw [24] iesaka izvirzīt 4–5 vēdera posma beidzamos segmentus. Ja pēc anestēzijas bišu mātes vēdera posma beidzamie segmenti nav izvirzīti ārpus turētājcaurules sašaurinātā atvēruma gala, tad to panāk ar pūšanas un CO<sub>2</sub> vārsta palīdzību. Respektīvi, turētājcaurules platāko atvēruma galu pieliek pie mutes un, tajā viegli iepūšot, panāk bišu mātes vēdera posma beidzamo segmentu izvirzīšanu ārpus turētājcaurules sašaurinātā atvēruma gala (sk. 75. att.). CO<sub>2</sub> vārstu iepozicionē tieši zem bišu mātes galvas posma (sk. 76. att.), un ar tā palīdzību, pastumjot to dziļāk vai seklāk, viegli regulēt bišu mātes vēdera posma beidzamo segmentu skaitu, kas izvirzīti ārpus turētājcaurules sašaurinātā atvēruma gala.

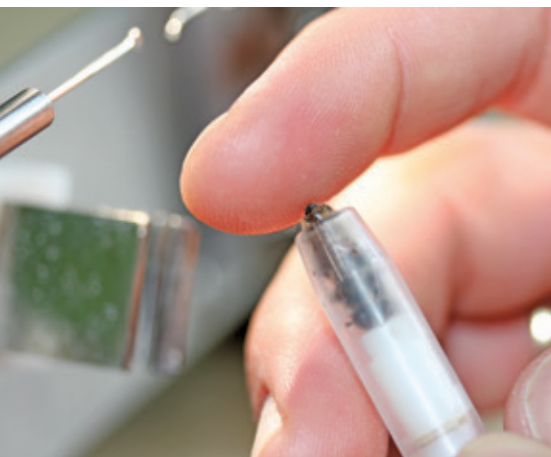


75. att. Pēc anestēzijas bišu māti ar vieglu elpas plūsmu aizpūš līdz šaurākajam turētājcaurules galam. Šo procesu veic pēc nepieciešamības – var apiet!



76. att. Bišu māti ar CO<sub>2</sub> vārstu pavirza, lai zināms skaits vēdera posma beidzamo segmentu izvirzītos ārpus turētājcaurules.

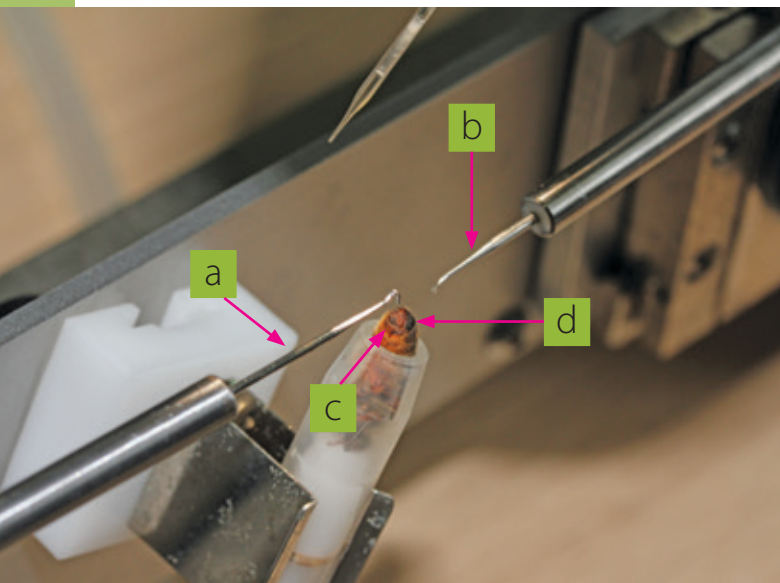
Bišu mātes vēdera posma segmenti ir sasaistīti ar elastīgām adu membrānām. Atbilstoši situācijai bišu māte segmentus var sakļaut ciešāk vai pretēji – izvērst. Apsēklošanas laikā, kad iepozicionēti āķi, jāuzmanās, ka anestēzētā bišu māte segmentus nesakļauj ciešāk. Rezultātā bišu māte var izkustēties un it īpaši vēdera āķis var zaudēt iestatīto pozīciju. Lai tas nenotiktu, laikā, kad bišu māti iepozicionē turētājcaurulē, ar vieglu pirksta pieskārienu vēdera posma galējos segmentus satuvina (sk. 77. att.).



77. att. Ar vieglu rādītājpirksta pieskārienu satuvina vēdera posma beidzamos segmentus.

Pēc sekmīgas bišu mātes iepozicionēšanas, turētājcaurulī iestiprina apsēklošanas aparātūras bišu mātes turētājcaurules fiksatorā. Bišu mātes turētājcaurulī aparātūrā iestiprina tā, lai bišu mātes vēdera posma sternītu daļa atrastos pret vēdera āķi, savukārt tergītu daļa atrastos pret dzeloņa āķi (sk. 78. att.).

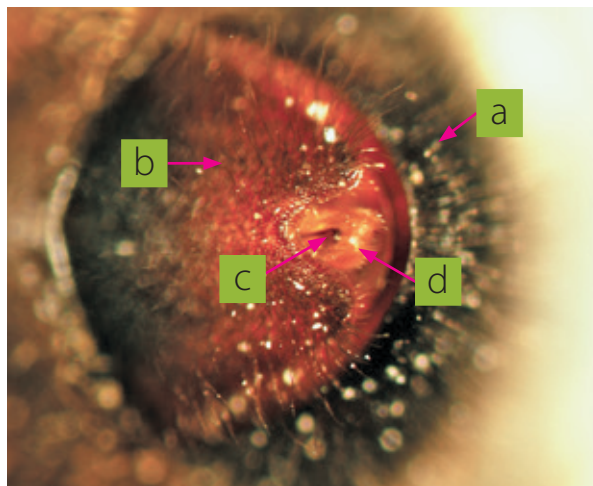




78. att. Aparatūrā iepozicionēta bišu mātes vēdera turētājcaurule, kur: a – vēdera āķis, b – dzeloņa āķis, c – vēdera posma sternīti un d – vēdera posma tergīti.

## 6.2. DZELOŅA KAMBARA ATVĒRŠANA

Uzsākot apsēklošanu, vispirms stereomikroskopa redzes lauku iestata asumā uz bišu mātes vēdera posma beidzamajiem segmentiem. Starp beidzamajiem sternīti un tergīti segmentiem skaidri saskatāma atvere, kuras dziļumā atrodas dzeloņa kambaris (sk. 79. att.).



79. att. Skats mikroskopā no augšas uz bišu mātes vēdera posma beidzamo tergītu (a) un sternītu (b). Kur c – dzelonis un d – dzeloņa maksts.

Bišu mātes vagīna atrodas dzeloņa kambarī. Lai varētu tai piekļūt un tajā ievadīt apsēklošanas kapilāru, ir nepieciešams atvērt dzeloņa kambari. Tā atvēršanai lieto vēdera un dzeloņa āķi. Pirmo iepozicionē vēdera āķi (sk. 80. att.), ar kura palīdzību satver beidzamo sternīta segmentu. Ja bišu mātes vēdera posma beidzamie segmenti nav cieši sakļāvušies un ir saskatāma atvere, tad, ar šo āķi viegli

pieskaroties dzelonim, to nedaudz pastumj pa labi un vienlaicīgi dzeloņa kambari iegremdē vēdera āķa galu. Dažkārt bišu mātes vēdera posma beidzamie segmenti ir cieši sakļāvušies un ir nepieciešams šos segmentus nedaudz pavērt, lai sekmīgi ievadītu vēdera āķi. Galējos segmentus pavērt palīdzēs smalks metāla stienītis vai stikla kapilārs. Iepozicionētu vēdera āķi skatīt 81. attēlā.

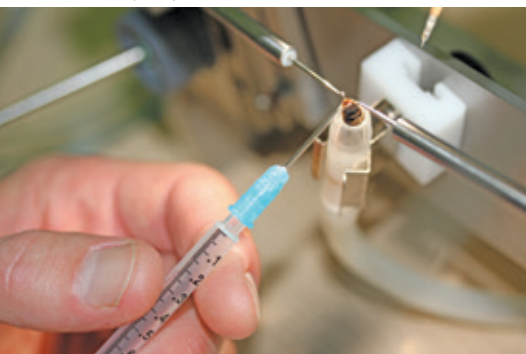


80. att. Vēdera āķis iepozicionēts aiz beidzamā vēdera posma sternīta.

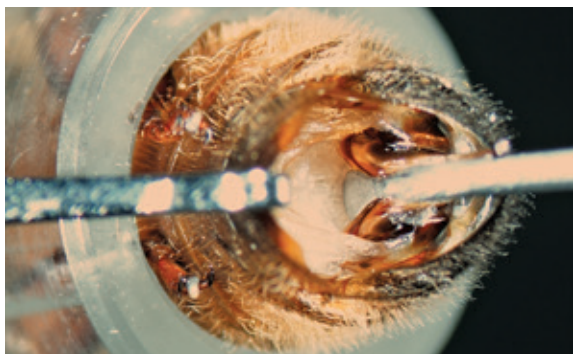


81. att. Iepozicionēts vēdera āķis – skats mikroskopā.

Nākamo iepozicionē dzeloņa āķi. Sākotnēji, lietojot stikla stienīti vai smalku nerūsējošā tērauda stiepli, kas iestiprināta kātā un ir ar noapaļotu galu, daļēji atver dzeloņa kambari (sk. 82. att.). Lai to paveiktu, ar smalka metāla vai stikla stienīša galu satver tergīta daļas beidzamo segmentu, un to nedaudz pavēlc pa labi. Svarīgi, ka vienlaicīgi pa labi pavēlc arī dzelonī un tā maksti. Tas atvieglos dzeloņa āķa iepozicionēšanu.



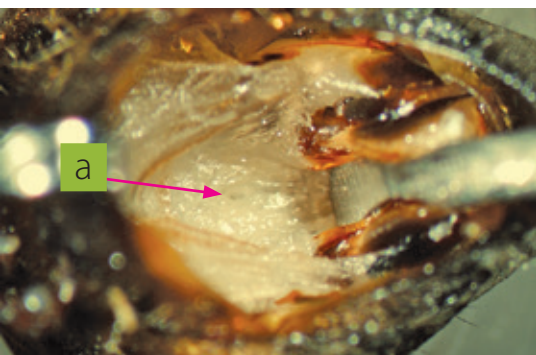
82. att. Ar stikla stienīti pavēr dzeloņa kambari.



83. att. Dzeloņa āķa iepozicionēšana – skats mikroskopā.

Pēc daļēja dzeloņa kambara atvēršanas iepozicionē dzeloņa āķi. Ar šī āķa gala saplacinājumu satver dzeloņa pamatni un to ieskaujošās lancetes (sk. 83. att.).

Ja dzeloņa āķis ir iepozicionēts, tad, ar vieglām kustībām to pavēlcot pa labi, panāk pilnīgu dzeloņa kambara atvēršanu (sk. 84. att.).



84. att. Pilnībā pavērts dzeloņa kambaris, kur a – vagina.

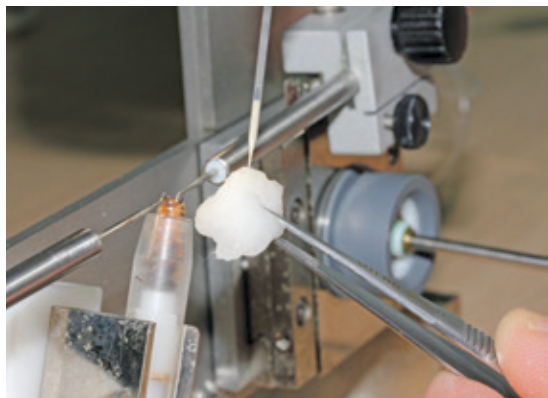
Pilnīgi atvērta dzeloņa kambara dziļumā ir skaidri saskatāma bišu mātes vagina, bet pirms šprīces apsūklošanas kapilāru ievadīšanas vagīnu iepozicionē vienā slīpumā ar apsūklošanas kapilāru. To panāk, vienlaicīgi pa labi pabīdot vēdera un dzeloņa āķi, kā rezultātā viss dzeloņa kambaris atrodas vienā slīpumā ar šprīces apsūklošanas kapilāru.

## 6.3. SPERMAS IEVADĪŠANA

Pēc dzeloņa kambara atvēršanas nekavējoties sagatavo šprīces apsēklošanas kapilāru. No kapilāra gala izvada fizioloģisko šķīdumu (sk. 85. att.) un ar *Gilmont* mikrometra palīdzību panāk, ka sperma atrodas apsēklošanas kapilāra atvēruma galā. Pincetē satver vates pikuci, kas piesūcināta ar fizioloģisko šķīdumu, un, viegli ar to pieskaroties apsēklošanas kapilāra atvērimumam, samitrina tā galā esošo spermu (sk. 86. att.). J. Harbo [17] pat iesaka apsēklošanas kapilāra galā uzņemt  $\frac{1}{2}$  līdz  $1 \mu\text{l}$  fizioloģiskā šķīduma, neatstājot gaisa slāni starp spermu un fizioloģisko šķīdumu. Ar vates palīdzību samitrina arī apsēklošanas kapilāra ārējo virsmu, tas atvieglos kapilāra ievadīšanu vaginā. Ja tas paveikts, tad apsēklošanas kapilāru iepozicionē pret bišu mātes vagīnu un uzsāk tā ievadīšanu vaginā.



85. att. Kapilāra sagatavošana apsēklošanai.



86. att. Pirms kapilāra ievadīšanas vaginā tā galā esošo spermu mitrina ar fizioloģisko šķīdumu.

Atgādināšu, ka bišu mātes vagīnu noslēdz krokas vārsts. Lai to apietu, sākotnēji kapilāru ievada vagīnas tālākajā labajā stūrī (tuvāk tergītu muguras daļai). To padziļina aptuveni  $\frac{1}{2}$  mm (divtīk, cik plats ir kapilāra atvērums) un pēc tam horizontālā plaknē to pavirza pa kreisi (sternītu jeb vēdera virzienā) aptuveni  $\frac{1}{2}$  mm, un pēc tam seko beidzamā kapilāra padziļināšana (sk. 87. att.), aptuveni  $\frac{3}{4}$  mm apmērā [17]. Kopējais kapilāra ievadīšanas dziļums ir aptuveni  $1\frac{1}{4}$  mm [17]. Protams, kapilāra ievadīšana vaginā notiek ar izjūtām, un nomērit kapilāra ievadīšanas dziļumu nav iespējams. Tomēr jāņem vērā, ka kapilāram vaginā jāieslid viegli, bez apkārtējo audu bojāšanas. H. Laidlaw [24] atzīmē, ka tajā mirklī, kad kapilāra ārējās sienīņas sakļaujas ar vagīnas audiem, pārtrauc kapilāra padziļināšanu.



87. att. Kapilāra ievadīšana bišu mātes vaginā.

Pēc kapilāra ievadīšanas bišu mātes vaginā seko spermas atbrīvošana. Viegli pagriežot *Gilmont* mikrometru, sperma brīvi plūst – tā ieplūst bišu mātes vidusolvadā un tālāk jau sānu olvados. Ja kapilārs pareizi ievadīts bišu mātes vaginā, tas ir, apsēklošanas kapilāra atvērums atrodas vidusolvadā, tad, viegli pagriežot *Gilmont* mikrometru, stereomikroskopā redzes laukā saskatāms, ka

sperma brīvi bez piepūles no stikla kapilāra izplūst. Savukārt, ja, pagriežot *Gilmont* mikrometru, spermas kustību kapilārā nenovēro, tad visticamāk, ka kapilārs vagīnā nav pareizi ievadīts. Ja ievadīšanas laikā sperma izplūst dzeloņa kambarī, arī tad kapilārs nav pareizi ievadīts vagīnā. Dažkārt to novēro gadījumā, ja kapilārs nav pietiekami dziļi ievadīts, un to novērš, kapilāru padziļinot.

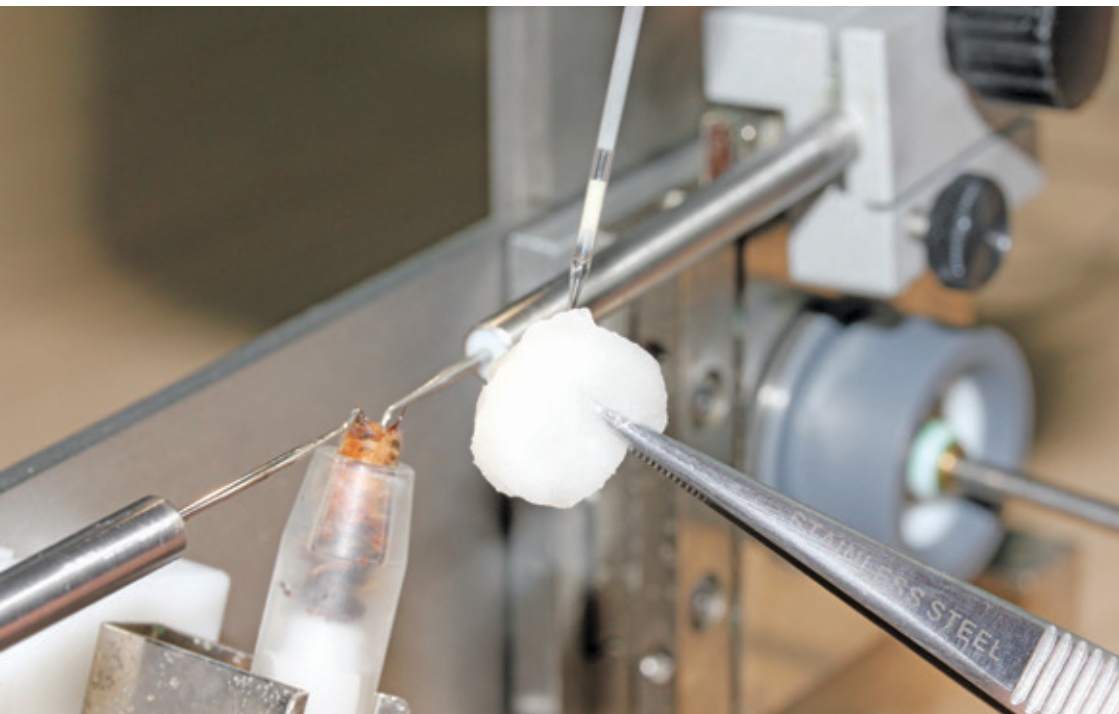
Ja kapilāru bišu mātes vagīnā neizdodas sekmīgi ievadīt ar pirmo piegājienu, tad to cenšas ievadīt atkārtoti. Tomēr, ja neizdodas kapilāru sekmīgi ievadīt arī ar otro piegājienu, tad bišu māti atgriež nukleusā un mēģina apsēklot nākamajā dienā.

Bišu mātes sānu olvados ievada ne vairāk kā 8  $\mu$ l spermas, bet tas ir atkarīgs no apsēklošanas metodikas un mērķiem, kādiem bišu māte paredzēta. Tā, piemēram, bišu māti var apsēklot arī ar viena trana spermu, kas ir līdzvērtīgs daudzums aptuveni 1  $\mu$ l spermas.

Kad nepieciešamais spermas daudzums ir ievadīts, tad seko kapilāra izcelšana no vagīnas, bet, pirms to dara, J. Harbo [17] iesaka izlīdzināt spiedienu *Gilmont* mikrometrā. To panāk, *Gilmont* mikrometra manipulatoru pagriežot atpakaļ par aptuveni  $\frac{1}{2}$   $\mu$ l [17]. Piezīme, skatīt *Gilmont* mikrometra dozēšanas skalu. Pretējā gadījumā kapilāra izcelšanas laikā neliels daudzums spermas izlīs dzeloņa kambarī. Gadījumā, ja bišu mātes dzeloņa kambarī izlīst sperma, tad tā ir jāsavāc.

## 6.4. BIŠU MĀTES IZCELŠANA NO APARATŪRAS

Pirmais uzdevums, kas jāveic pēc kapilāra izcelšanas no vagīnas, ir jāparūpējas par apsēklošanas kapilārā atlikušās spermas drošību. Tas ir, kapilāra gala atvērumā uzņem aptuveni 4  $\mu$ l fizioloģiskā šķīduma (sk. 88. att.), atstājot gaisa slāni starp spermu un fizioloģisko šķīdumu, lai sperma neiekalstu.



88. att. Pēc kapilāra izcelšanas no vagīnas to aptīra un tajā uzņem fizioloģisko šķīdumu.



Visbeidzot aizver bišu mātes dzeloņa kambari un atbrīvo gan dzeloņa, gan vēdera āķi. Vispirms atbrīvo dzeloņa āķi (sk. 89. att.), pēc kura seko vēdera āķa atbrīvošana (sk. 90. att.). To panāk ar pretējām darbības kustībām, kādas veic pie dzeloņa kambara atvēršanas.

89. att. Pēc apsūklošanas pirmo atbrīvo dzeloņa āķi.



90. att. Vēdera āķi atbrīvo kā beidzamo.

Pēc tam seko CO<sub>2</sub> plūsmas apturēšana un bišu mātes turētācaurules izcelšana no aparatūras, kā arī bišu mātes turētācauruli atvieno no CO<sub>2</sub> vārsta (sk. 91. att.). Bišu māte no anestēzijas atgūstas vairāku minūšu laikā. Lai darbs ritētu raiti, tai no caurulītes palīdz izklūt. Vispirms ar vieglu pirksta pieskārienu bišu mātes vēdera posma galam to ievirza dziļāk caurulē (sk. 92. att.). Nākamajā solī to no turētācaurules izpūš saujā (dezinficēta ar etilspirtu) ar mutes gaisa radīto spiedienu (sk. 93. att.). Tālāk seko bišu mātes novietošana uz galda virsmas, kura pirms tam dezinficēta ar etilspirtu (spirtam ļauj izgarot).



91. att. Atvieno ogļskābās gāzes padeves vārstu.



92. att. Ar rādāmpirkstu anestezēto bišu māti viegli ievirza dziļāk caurulē.



93. att. Ar pūšanu bišu māti iepūš saujā.

## 7. MARĶĒŠANA

Kamēr bišu māte nav atguvusies no anestēzijas (sk. 94. att.), tai viegli ar šķērēm saīsināt vienu priekšējo un pakaļējo spārnu, kā arī to nomarķēt krūšu posmā. Kavēties gan nevajadzētu. Ja apsūklošanas process un anestēzija aizņem tikai dažas minūtes, tad bišu māte atgūstas relatīvi īsā laika sprīdī.



94. att. Bišu māte novietota uz tīras virsmas atžirgšanai. Tūlīņ pēc apsūklošanas bišu māte ir nekustīga.

Mākslīgi apsūklotām bišu mātēm parasti saīsina spārnu/-us. Tas ir zināms garants, ka bišu mātei nonākot saimē, tā nemēģinās atkārtoti pāroties dabā. Papildus, gadījumā, ja bišu māte agrāk marķēta ar numuriņu vai krāsu krūšu posmā, bet marķējums ir zudis, tad saīsinātais spārns ir kā liecība, ka bišu māti saime nav nomainījusi, piemēram, ar kluso bišu māšu nomaīņu.

Spārna saīsināšanu veic ar nelielām, asām medicīniskajām šķērītēm. To veic piesardzīgi. Bišu māti ar pārlicēki saīsinātu priekšspārnu un pakaļspārnu pamatsaime var izbrāķēt. Apjomā un veidā, kādā saīsina spārnu/-us, starp selekcionāriem un mākslīgās apsūklošanas speciālistiem nevalda vienprātība. Raksta autora praktiskā pieredze liecina, ka sekmīgi var saīsināt viena sāna priekšspārnu robežās no  $\frac{1}{4}$  līdz  $\frac{1}{3}$ , nedaudz skarot arī aizmugurējo spārnu (sk. 95. un 96. att.).



95. att. Ar medicīniskajām šķērītēm saīsina vienu no bišu mātes priekšspārniem.

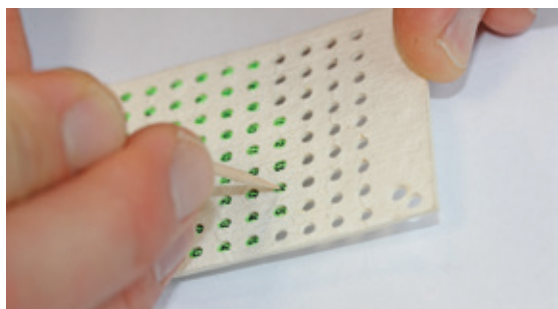


96. att. Bišu māte ar saīsinātu spārnu.

Selekcijā un mākslīgajā apsēklošanā bišu mātes marķē, lai nezustu kontrole pār īpatnā izcelsmi un saimē to būtu viegli identificēt. Marķēšanu veic gan ar numuriņiem, gan arī ar krāsu (atšķirīgiem krāsu toniņiem). Biežāk gan marķēšanu veic tieši ar numuriņiem. Plastikāta numuriņu līmēšanas tehniku skatīt attēlos no 97. līdz 102.



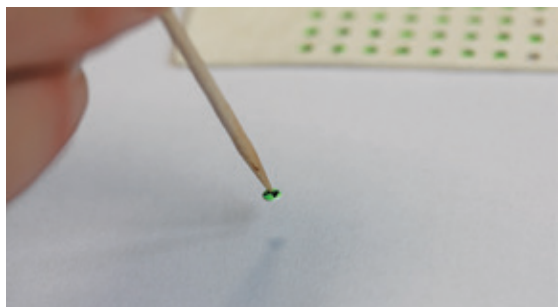
97. att. Ar nelielu koka vai plastmasas irbulīti, piemēram, zobu bakstāmo, uz bišu mātes krūšu posma uznes līmi.



98. att. Izvēlas numuriņu un ar tītu irbulīti to atbrīvo no fiksētās vietas kartonā.



99. att. Tira irbulīša galu samitrina ar siekalām.



100. att. Ar samitrināto irbulīša galu pārvieto numuriņu.



101. att. Numuriņu novieto uz krūšu posma virs līmes plankuma un ar irbulīti to viegli piespiež.



102. att. Marķēta bišu māte atguvusies no narkozes.

Ja reiz bišu māte ir nomarķēta, tad atliek to ievietot krātiņā (sk. 103. att.) un ielikt atpakaļ nukleusā. Gadījumā, ja uz laboratoriju apsēklot atnestas 3–5 bišu mātes, tad secīgi apsēklo visas bišu mātes un tās vienlaicīgi ieliek atpakaļ izcelsmes nukleusos, bet to paveic divu stundu laikā.



103. att. Bišu māti aiz spārniem vai kā citādi iemāna *Nicot* sistēmas rullī.



## 8. HARBO ŠPRICES TĪRĪŠANA

Dienas beigās, kad pabeigts darbs pie bišu māšu apsēklošanas, ir jāsakopj darba vide un inventārs. Ņemot vērā, ka gan spermas savākšanas, gan apsēklošanas laikā darba vidi uztur tīru, tad nemaz tik daudz tā darba nav.

Mazgāšanai jeb tīrīšanai pakļauj darba procesā lietoto inventāru, piemēram, petrī plates, medicīniskās šķērites, pinceti, bišu māšu atkāpšanās cauruli un turētājcauruli, tiģelīti jeb kādu citu trauku, kurā dienas laikā turēts fizioloģiskais šķīdums, utt. Mazgāšanai lieto tīru, tekošu ūdeni, kam seko dezinfekcija ar etilspirtu un skalošana ar destilētu ūdeni. Sakopj arī apsēklošanas aparatūru – to aptīra un dezinficē ar vates pikuci, kas piesūcināts ar etilspirtu. Protams, dienas beigās satīra arī konteineru, kurā uzglabāti beigtie trani.

Lielāku uzmanību un laika patēriņu dienas beigās prasa *Harbo* šprīces satīrīšana. Vienmēr, kad dienas laikā sēklotas bišu mātes un izlietota visa *Harbo* šprīcē savāktā tranu sperma, dienas beigās satīra un dezinficē šprīces sastāvdaļas un to sagatavo darbam nākamajai dienai.

Regulārai tīrīšanai pakļauj šādas šprīces sastāvdaļas – stikla apsēklošanas kapilāru, spermas uzkrāšanas cauruli, lateksa savienotājus un šprīces stikla cilindru.

Uzsākot šprīces tīrīšanu, vispirms rokas nomazgā ar ziepēm un dezinficē ar etilspirtu (darba gaitā roku dezinfekciju veic ik pa brīdim, pēc nepieciešamības), kam seko galda virsmas un trauku, piemēram, petrī plates, dezinfekcija ar etilspirtu, kur plānots izvietot nomazgātās un dezinficētās šprīces detaļas.

Tikai pēc roku un darba virsmas satīrīšanas ķeras pie šprīces detaļu atvienošanas no kopējās sistēmas. Detaļu atvienošanu veic pretējā secībā, kādā šprīci samontēja (sk. 4.2.2. nodaļu), sākot ar lateksa savienotāja atvienošanu no šprīces stikla cilindra sašaurinājuma, kam seko apsēklošanas kapilāra atvienošana no lateksa savienotāja un noslēdzas ar lateksa savienotāja atvienošanu no polivinila šļaukas. Pilnīgu šprīces izjaukšanu un tīrīšanu veic gadījumā, ja polivinila šļaukā ir iekļuvusi sperma vai arī šļaukā un *Gilmont* mikrometrā ir parādījušies gaisa burbuļi.

Gan stikla, gan lateksa materiāla detaļas mazgā ar ūdeni, kam seko dezinfekcija ar etilspirtu  $\geq 69\%$  un skalošana ar destilētu ūdeni.

Rūpīgāku tīrīšanu un dezinfekciju prasa stikla apsēklošanas kapilārs un spermas uzkrāšanas caurule. Stikla apsēklošanas kapilāru gan no ārpuses, gan iekšpusē vispirms skalo ar tīru krāna vai destilētu ūdeni. Lai kapilāra iekšējās sienas atbrīvotu no spermas aplikuma, tad to no platākā atvēruma gala tīra ar smalku stieples pavedienu (sk. 104. att.).



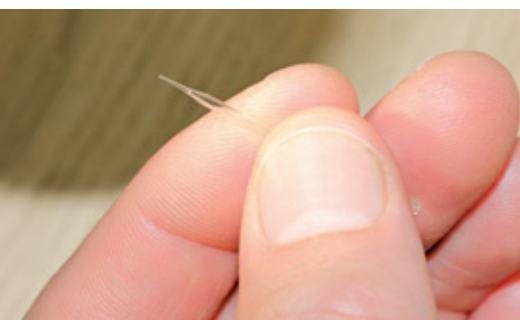
104. att. Stikla apsēklošanas kapilāra tīrīšana ar smalku metāla stieples pavedienu.

Kad kapilāra iekšējās sienas ar stieples palīdzību notīrītas, seko skalošana ar tīru ūdeni, kam savukārt seko dezinfekcija ar etilspirtu. Iekšējo sienu skalošanai un dezinfekcijai lieto strūklens, brīvi darba šķīdumu skalojot caur kapilāru (sk. 105. att.). Noslēgumā kapilāra ārpusi un iekšējo virsmu skalo ar destilētu ūdeni.



105. att. Kapilāru dezinficē ar  $\geq 69\%$  etilspirtu. Kapilāra iekšējās sienīgu virsmas skalošanai un dezinficēšanai lieti noder strūklenes.

Tīro stikla apsūklošanas kapilāru (sk. 106. att.) lieto atkārtoti, vien mikroskopā pārlicinās, vai šaurākajā kapilāra galā nav asi stikla lūzumi.



106. att. Tīrs stikla apsūklošanas kapilārs – sagatavots atkārtotai lietošanai.

Lasītājam atzīmēšu, ka iepriekš aprakstīto metodiku kapilāra tīrīšanā izmanto arī gadījumā, ja spermas savākšanas laikā kapilārs nosprostojas tajā ierautu gļotu dēļ. Tādā gadījumā kapilāru atvieno no lateksa savienotāja un pakļauj tīrīšanai. Ja kapilāru ir nosprostojušas gļotas, tad bez smalka stieples pavediena lietošanas neiztikt.



107. att. Ar smalku stieples pavedienu tīra spermas uzkrāšanas caurules iekšējās sienīgas.



108. att. Spermas uzkrāšanas cauruli skalo ar destilētu ūdeni, ļaujot darba šķīdumam brīvi plūst caur cauruli.

Kad visas *Harbo* šprīces detaļas ir satīrītas un dezinficētas, tad atliek vien šprīci samontēt un sagatavot darbam. *Harbo* šprīces salikšanu skatīt 4.2.2. nodaļā.

## 9. ATKĀRTORTA ANESTĒZIJA

Dabīgās pārošanās laikā bišu māte saņem signālu, kas inducē dēšanas uzsākšanu. Aptuveni trīs dienas pēc pārošanās gaisā bišu māte uzsāk dēt. Mākslīgās apsēklošanas laikā bišu māte šādu signālu nesaņem. Lūk, lai laboratorijā apsēklotu bišu māti drīzumā uzsāktu dēšanu, to mākslīgi stimulē. Pretējā gadījumā tā dēt uzsāk pēc vairākām nedēļām, līdzīgi kā tas ir gadījumos ar bišu mātēm jaunavām, kas sliktu laika apstākļu dēļ dabā nepārojas un neapaugļojas.

Ogļskābās gāzes anestēzija stimulē bišu māti uzsākt dēšanu [17; 24]. Tādēļ mākslīgi apsēklotu bišu māti atkārtoti pēc 24 stundām anestezē ar CO<sub>2</sub>. Anestēzija ilgst 7–10 min. Lai to paveiktu, atkārtoti mākslīgi apsēklotās bišu mātes izceļ no nukleusiem vai māšu bankas un ievieto krātiņos. Laboratorijā krātiņus ar bišu mātēm ievieto *Zip Lock* plastmasas maisiņā (sk. 109. att.) un to piepilda ar ogļskābo gāzi. Ogļskābā gāze ir smagāka par gaisu, rezultātā tā izspiež maisiņā esošo gaisu.



109. att. Atkārtota bišu māšu anestēzija ar ogļskābo gāzi. To ērti paveikt *Zip Lock* maisiņā.

Vienlaicīgi iespējams anestezēt lielu skaitu bišu mātes, tomēr jārēķinās, ka bišu mātēm, kas izceltas no nukleusiem, tajos jāatgriežas divu stundu laikā.

Pēc atkārtotas anestezēšanas ar CO<sub>2</sub>, bišu māte parasti uzsāk dēt nepilnas nedēļas laikā.

# 10. BIŠU MĀTES KVALITĀTES PĀRBAUDE

Bišu mātes apsēklošanas kvalitāti raksturo vairāki kritēriji, kas savstarpēji cieši saistīti:

- dzīvotspēja;
- spermas uztvērējā nokļuvusi sperma;
- uzsāk dēt;
- dēj gan apaugļotas, gan neapaugļotas olšūnas.

## 10.1. DĒŠANAS KVALITĀTES PĀRBAUDE

Efektīvākais veids mākslīgi apsēklotas bišu mātes kvalitātes pārbaudē ir pārliecināties par tās dēšanas potenciālu. Dēšanas kvalitāti pārbauda nukleusā → atdalenī → bišu saimē. Tomēr līdz dēšanai bišu mātei ir jānodzīvo. Gadījumā, ja apsēklošanas laikā satraumē bišu mātes vidusolvalu vai arī tā iegūst infekciju, tad nereti bišu māte iet bojā dažu dienu laikā pēc apsēklošanas.

Biežāk mākslīgi apsēklotu bišu māti izvieto nukleusā, kur arī veic pirmo kvalitātes pārbaudi. Parasti nedēļu pēc otrās CO<sub>2</sub> apstrādes tā uzsāk dēt. Dēšanas uzsākšana ir pozitīvs signāls, bet ne vienīgais kritērijs. Atminēsimies, ka pēc CO<sub>2</sub> apstrādēm dēt uzsāk ikvienu bišu māte, kas nav traumēta, tai skaitā neapaugļotas – tās kļūst par bišu mātēm tranenēm.



110. att. Aizvākoti darba bišu peri ir kā liecība, ka bišu māte pēc apsēklošanas producē apaugļotas olšūnas.

Aizvākotu darba bišu peru veidošanās nukleusa vai atdalaņa apkārē (sk. 110. att.) ir kā gala liecība, ka bišu māte ir kvalitatīvi apsēklota – spermas uztvērējā ir nokļuvusi sperma un bišu māte spēj producēt apaugļotas olšūnas.

## 10.2. SPERMAS UZTVĒRĒJA PĀRBAUDE

Gan pēc dabīgas pārošanās, gan mākslīgas apsēklošanas daļa (ap 10%) no uztvertās spermas migrē no nokļūst bišu mātes spermas uztvērējā. Bišu mātei jaunavai spermas uztvērējs ir kristāldzids, savukārt sekmīgi apaugļotai – krēma dzeltenbrūns [12].

Mācoties un apgūstot mākslīgās apsēklošanas tehniku, nereti bišu mātes apsēklošanas kvalitāti pārbauda, analizējot spermas uztvērēja ārējo izskatu. Metodes pozitīvais aspekts, ka jau 24–40 stundas pēc mākslīgas apsēklošanas ir iespējams noskaidrot, vai process ir bijis sekmīgs un sperma nokļuvusi spermas uztvērējā. Lai pārbaudītu spermas uztvērēja izskatu, to no bišu mātes vēdera posma ir jāizpreparē, tātad bišu māti nogalina, kas ir šīs metodes negatīvā puse.

Gadījumā, ja nolemts analizēt spermas uztvērēju, tad vispirms pēc iespējas humānāk nogalina bišu māti (sk. 111. att.).

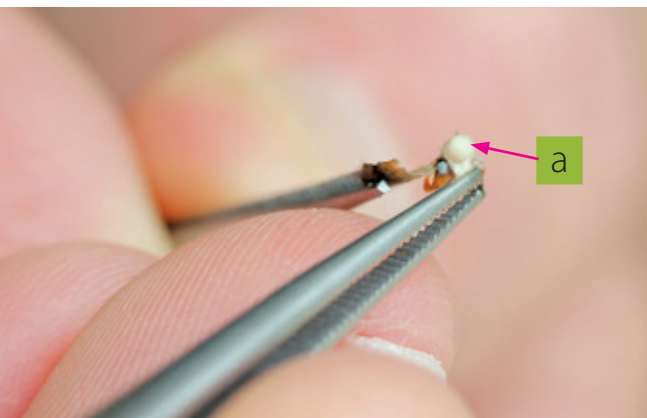


111. att. Pirms spermas uztvērēja izpreparēšanas bišu māti nogalina, to saspiežot pie galvas un krūšu daļas.

Pēc tam ar pincetes palīdzību satver vēdera posma beidzamos segmentus un tos atrauj no ķermeņa (sk. 112. att.). Starp atrautajiem vēdera posma audiem ar neapbruņotu redzi saskatāms neliels, aptuveni 1,0 mm diametra sfērisks orgāns, kas ir spermas uztvērējs. Parasti to ieskauj citi audi, tai skaitā labi attīstīts traheju dzislojums. Ar pincetes un pirkstu palīdzību sfērisko maisiņu atbrīvo no liekajiem audiem (sk. 113. att.). Traheju dzislojumu (sk. 114. att.) atbrīvojot, viegli spermas uztvērēju pavilājot starp pirkstiem.



112. att. Ar pinceti satver beidzamos bišu mātes vēdera posma segmentus un atrauj no ķermeņa.



113. att. Spermas uztvērēju atbrīvo no liekajiem audiem, kur a – spermas uztvērējs.

Sekmīgi apsēklotas bišu mātes spermas uztvērējam 40 stundas pēc apsēklošanas ir jābūt krēma dzeltenbrūnā krāsā, kas ir kā liecība, ka spermas uztvērējā ir nokļuvuši spermatozoīdi [12]. Savukārt, ja spermas uztvērējs ir kristāldzidsrs, tad bišu māte apsēklota nekvalitatīvi un sperma uztvērējā nav nokļuvusi.



114. att. Spermas uztvērējs, kuru ieskauj ciešs traheju dzislojums.

## 11. BIŠU MĀŠU PIEVIENOŠANA BIŠU SAIMEI

Mākslīgi apsēklotas bišu mātes, kas uzsākušas dēšanu, turpmāk bišu saimēm pievieno taisni tādā pašā veidā kā jebkuru citu dējošu bišu māti. Nelielu piesardzību gan vajadzētu ievērot –

- pielaišanu organizē caur krātiņu un
- pielaišanas brīdī saimē atrodas aizvākoti peri un, ja ir, tad tikai vēlīnas stadijas cirmeņi.

Sarežģītāk ir ar mākslīgi apsēklotām bišu mātēm, kas izvietotas bišu māšu bankā un nav uzsākušas dēšanu. Šādas bišu mātes pamatsaimes slikti pieņem. Profesors J. Harbo [19] rekomendē šāda tipa mātes vispirms pievienot nukleusiem, un arī to veikt piesardzīgi. Nukleusam, kurā plāno pievienot bišu māti, vismaz 24 stundas ļauj izjust bezmātes stāvokli un tikai tad pievieno krātiņu ar bišu māti. Pirms atbrīvošanas bišu māti nukleusā krātiņā notur vismaz piecas dienas un tikai tad to mēģina atbrīvot – iesaka profesors J. Harbo [19]. Pēc sekmīgas pievienošanas nukleusam bišu mātei ļauj iedēties, kam vēlāk seko pievienošana pamatsaimē.

# LITERATŪRA

1. ABC and XYZ of Bee Culture / Ed. By R. A. Morse and K. Flottum. – Medina: The A. I. Root. Co., 1990. – 516 p.
2. Atkinson J. H. Background to bee breeding. – Holme Court, Biggleswade: Watkiss Studio Ltd, 1999. – 289 p.
3. Bee genetics and breeding / Ed. By T. E. Rinderer – USA: Academic Press. Inc, 1986. – 426 p.
4. Caron D. M. Honey Bee Biology and Beekeeping. – USA: Wicwas Press, LLC., 1999. – 355 p.
5. Chang R. Chemistry. – 4th ed. USA: Mc Graw – Hill, Inc, 1991. – 1065 p.
6. Cobey S. Drone rearing for instrumental insemination. // American Bee Journal. No. 4. (1983), P. 284 – 289.
7. Cobey S. Instrumental insemination: The possibility of semen storage. // American Bee Journal. No. 5. (1983), P. 389 – 395.
8. Cobey S. The development of instrumental insemination. // American Bee Journal. No. 2. (1983), P. 108 – 111.
9. Cobey S. The extraordinary honey bee mating strategy and a simple field dissection of the spermatheca; Part 1; Mating behavior. // American Bee Journal. – No.1. (2003), P. 67 – 69.
10. Cobey S. The extraordinary honey bee mating strategy and a simple field dissection of the spermatheca; Part 2; The colony as a Superorganism. // American Bee Journal. – No.2. (2003), P. 130 – 133.
11. Cobey S. The extraordinary honey bee mating strategy and a simple field dissection of the spermatheca; Part 3; The Spermatheca. // American Bee Journal. – No.3. (2003), P. 217 – 220.
12. Cobey S., Tarpay D., Woyke J. Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens // Journal of Apicultural Research. v.52, No. 4 (2013), P. 1 – 18.
13. Cobey S. Harbo syringe user manual.  
Pieejams: <http://nebula.wsimg.com/95d14a9147c0c94735b07264de412e9b?AccessKeyId=95EE9AA7688652D2F900&disposition=0&alloworigin=1>, 11. jūlijs, 2017.
14. Dade H. A. Anatomy and Dissection of the honey bees. – Oxford: Alden Press, 1994. – 178p.
15. Fert G. Breeding queens. – France: O.P.I.D.A., 1997. – 104 p.
16. Goodman L. Form and Function in the honey bee. – Cardiff: The Westdale Press Limited, 2003. – 220 p.
17. Harbo J. R. Instrumental insemination of queen bees. // American Bee Journal. No.3. (1985), P. 197 – 202.
18. Harbo J. R. Instrumental insemination of queen bees. // American Bee Journal. No.4. (1985), P. 282 – 287.
19. Harbo J. R. Introducing an artificially inseminated queen when she has not yet begun to lay eggs.  
Pieejams: <http://harbobeeeco.squarespace.com/bee-faq/common-questions/are-there-special-procedures-for-introducing-ai-queens.html>, 11. jūlijs, 2017.
20. Harbo J. R., Rinderr T. E. Breeding and genetics of honey bees.  
Pieejams: <http://beesource.com/resources/usda/breeding-and-genetics-of-honey-bees/>, 11. Jūlijs, 2017.
21. Hill W. J. Chemistry for changing times. – USA: Macmillon publishing Company, 1992. – 749 p.
22. Holm E. Artificial insemination of the queen bee. – Byskovsvej: Eigil Holm, 1986. – 65 p.
23. Koeniger G., Koeniger N., Ellis J., Connor L. Mating biology of honey bees (*Apis mellifera*). – USA: Wicwas Press LLC, 2014. – 155 p.
24. Laidlaw H. H. Instrumental insemination of honey bee queens. – USA: Dadant & Sons, Inc., 1978. – 144 p.
25. Laidlaw H. H. Queen rearing. – USA: Dadant & Sons, Inc, 1979. – 199 p.
26. Laidlaw H. H., Page R. E. Queen rearing and bee breeding. – USA: Wicwas Press, 1997. – 224 p.
27. Pēteris Rīzga dzīvē un darbā. – Rīga: Zinātne, 1985. – 190 lpp.
28. Ruttner F. Breeding techniques and selection for breeding of the honeybee. – Brighton: G Beard & Son Ltd., 1988. – 152 p.





