

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

**Studijní program:** N4101 Zemědělské inženýrství

**Studijní obor:** Fytotechnika

**Katedra:** Katedra speciální produkce rostlinné

**Vedoucí katedry:** prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Výskyt virových onemocnění včel v souvislosti s úrovní  
zamoření roztočem *Varroa destructor* v oblasti Klatovska**

**Vedoucí diplomové práce:** prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph. D.

**Konzultanti diplomové práce:** Ing. Irena Jelínková

**Autor diplomové práce:** Bc. Miroslav Janeček

České Budějovice, 2017

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Miroslav JANEČEK**  
Osobní číslo: **Z15463**  
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**  
Studijní obor: **Zemědělské inženýrství - Fytotechnika**  
Název tématu: **Výskyt virových onemocnění včel v souvislosti s úrovní zamoření roztočem Varroa destructor v oblasti Klatovska**  
Zadávací katedra: **Katedra speciální produkce rostlinné**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Cílem diplomové práce je vypracování literární rešerše na téma vlivu roztoče Varroa destructor na zdravotní stav včelstev a na výskyt virových onemocnění včel. Pozornost bude věnována i aktuální situaci zdravotního stavu včelstev v ČR a způsobům prevence a léčení. Experimentální část práce bude zaměřena na provedení monitoringu výskytu roztoče Varroa destructor na Strakonicku a na detekci virů ve vybraných včelstvech.

Úvod: význam včel a závažnost varroázy v chovu včel.

Literární přehled: vlivu roztoče Varroa destructor na zdravotní stav včelstev a na výskyt virových onemocnění včel, aktuální situace zdravotního stavu včelstev v ČR, způsoby prevence a léčení.

Materiál a metody: popis a charakteristika studovaných včelstev, lokalit, metodika odběru vzorků, kvantifikace roztoče Varroa destructor ve vzorku a stanovení virů ve vybraných včelstvech.

Výsledky: výsledky rozborů, vyhodnocení získaných dat, uspořádání do tabulek, grafů, vyhodnocení a statistické zpracování výsledků.

Diskuze: porovnání vlastních výsledků s literárními zdroji, posouzení možností praktického uplatnění dosažených výsledků, poznatků a doporučení.

Závěr: přehledné shrnutí nejdůležitějších poznatků, naplnění cílů práce, doporučení vyplývajících z řešené problematiky.

Seznam použité literatury: V abecedním pořadí dle platné citační normy ČSN ISO 690 (01 0197):

Obsah: Uvedení stran jednotlivých kapitol práce.

Rozsah grafických prací: 10 - 15 stran

Rozsah pracovní zprávy: 40 - 50 stran

Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

CLERMONT, et al., 2015. Virus Status, Varroa Levels, and Survival of 20 Managed Honey Bee Colonies Monitored in Luxembourg Between the Summer of 2011 and the Spring of 2013. *Journal of Apicultural Science* [online]. 1.1., roč. 59, č. 1 [vid. 20. leden 2016]. ISSN 2299-4831. Dostupné z: doi:10.1515/jas-2015-0005

DESAI, Suresh D. a Robert W. CURRIE, 2015. Genetic diversity within honey bee colonies affects pathogen load and relative virus levels in honey bees, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology* [online]. 9., roč. 69, č. 9, s. 1527-1541. ISSN 0340-5443, 1432-0762. Dostupné z: doi:10.1007/s00265-015-1965-2

EMSEN, et al., 2015. Lower Virus Infections in Varroa destructor-Infested and Uninfested Brood and Adult Honey Bees (*Apis mellifera*) of a Low Mite Population Growth Colony Compared to a High Mite Population Growth Colony. *Plos One* [online]. 27.2., roč. 10, č. 2, s. e0118885. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0118885

RYBA, et al., 2012. Prevalence of honeybee viruses in the Czech Republic and coinfections with other honeybee disease. *Biologia* [online]. roč. 67, č. 3, s. 590-595. ISSN 1336-9563. Dostupné z: doi:10.2478/s11756-012-0038-5

VESELÝ, V., et al. *Včelařství*. 3rd ed. Praha: Brázda, 2013

Kol. autorů PSNV, *Včelařství*. 2016. ISBN978-80-260-9090-8

*Časopisy Včelařství, Moderní včelař a Odborné včelařské překlady*

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.


Katedra speciální produkce rostlinné

Konzultant diplomové práce: Ing. Irena Jelínková


Katedra speciální produkce rostlinné

Datum zadání diplomové práce: 29. března 2016

Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2017

  
prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA  
PS  
Studentů 1888, 370 05 České Budějovice

  
prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 29. března 2016

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne

.....

Bc. Miroslav Janeček

## Poděkování

Tímto bych chtěl poděkovat vedoucímu mé diplomové práce prof. Ing. Vladislavu Čurnovi, Ph.D., především pak mé konzultantce Ing. Ireně Jelínkové za cenné rady, odbornou pomoc a trpělivost. Mé poděkování patří také kolektivu pracovníků laboratoře katedry speciální produkce rostlinné za ochotu a odbornou pomoc v laboratoři. Dále bych chtěl poděkovat Zuzaně a Františkovi Melichovým za informace z českého svazu včelařů. Velké poděkování patří také mé přítelkyni a rodině za podporu.

## Abstrakt

Zdravotní stav včelstev je v dnešní době velmi diskutovaným tématem. Proto jsem se ve své diplomové práci zaměřil na hlavní příčiny zhoršení zdravotního stavu včel. Jako hlavní příčinu zhoršení zdravotního stavu naší včely medonosné (*Apis mellifera*) bývá uváděn kleštík včelí (*Varroa destructor*) a jím způsobované onemocnění varroóza. Toto onemocnění je doprovázeno viry. Proto jsem se zaměřil na komplexní vztah těchto dvou patogenů a možnosti jejich eliminace při chovu včel. V praktické části jsem se pak věnoval varroamonitoringu a přítomnosti včelích virů v monitorovaných včelstvech.

Klíčová slova: varroamonitoring, *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, včelí viry

## Abstract

Nowadays the health status of bee colonies is very discussed topic. For this reason in this thesis I was focused on the main causes of deterioration of health of bees. As the main cause of the deterioration of health of bees *Apis mellifera* is mentioned *Varroa destructor*. This disease is accompanied by viruses. For this reason I focused on the complex relationship of these two pathogens and possibilities of their elimination in beekeeping. In the practical part of this thesis I focused on varroamonitoring and the presence of bee viruses in monitored bee colonies.

Keywords: varroamonitoring, *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, bee viruses

## Obsah

1	.....	9
2	Literární přehled .....	10
2.1	Včela medonosná ( <i>Apis mellifera</i> ) .....	10
2.2	Kleštík včelí ( <i>Varroa destructor</i> ) .....	11
2.3	Viry .....	17
2.3.1	Klasifikace virů .....	18
2.3.2	Včelí viry .....	18
2.3.3	Přenos včelích virů .....	25
2.3.4	Diagnostika virů ve včelstvech .....	26
2.4	Nosemóza .....	27
2.5	Colony collapse disorder (CCD) .....	28
2.6	Tlumení výskytu kleštíka včelího .....	28
2.6.1	Potírání varroózy dle legislativy .....	28
2.6.2	Jiné metody boje s keštíkem .....	31
2.6.3	Varroa tolerance .....	35
3	Cíl práce .....	36
4	Materiál a metody .....	37
4.1	Popis stanoviště .....	37
4.2	Odběr vzorku .....	38
4.3	Monitoring .....	38
4.4	Diagnostika virů napadajících včely .....	39
4.5	Diagnostika hmyzomorky včelí .....	43
5	Výsledky .....	44
6	.....	48
7	.....	51
8	Použitá literatura .....	52



## 1 Úvod

Význam včely medonosné (*Apis mellifera*) pro člověka není jen v produkci medu, vosku, propolisu, mateří kašičky a jedu, ale má především nezastupitelné místo v opylování rostlin. Tím udržuje rovnováhu mezi rostlinami hmyzosnubnými a větrosnubnými a přispívá tak k ochraně životního prostředí. Opyluje na 160 000 rostlinných druhů, z toho 40 000 druhů je na opylování zcela závislých. Důležitá je i z hlediska tvorby výnosu zemědělských plodin. Nepřímo zajišťuje člověku a jiným živočichům potravu. Podílí se totiž na velikosti a počtu plodů a semen rostlin.

V poslední době dochází celosvětově k úbytku včelstev. Tento jev je o to více znepokojující, že není známá přesná příčina. Největší podíl na ztrátách včel je přisuzován roztoči kleštíku včelímu (*Varroa destructor*) a jím vyvolanému onemocněním kleštíkovitosti (varroóze). Toto onemocnění je doprovázeno viry, které kleštík včelí jak přenáší, tak aktivuje a dochází k celkovému kolapsu včelstva. Proto jsem se zaměřil na celkový vztah tohoto parazita a včely medonosné a na následnou přítomnost virů ve včelách.

## 2 Literární přehled

### 2.1 Včela medonosná (*Apis mellifera*)

Včela medonosná (*Apis mellifera*) patří do:

Třídy: hmyz – *Insecta*

Řád: blanokřídli – *Hymenoptera*

Čeleď: včelovití – *Apidae*

Rod: včela – *Apis*

(Macek 2010)

První vědecké pojmenování provedl Linnaeus v roce 1758 a dal včele medonosné název *Apis mellifera* L. (včela nosící med). Tento název v roce 1761 upravil, protože zjistil, že tento název je nepřesný, jelikož včela medonosná med nenosí. Nosí nektar nebo medovici a tu v úle dále zpracovává a vytváří med. Změnil název na *Apis mellifica* (včela vyrábějící med). Dodnes se používají obě označení (Geisler et al., 1954).

Včela medonosná žije ve společenství, které nazýváme včelstvo. Včelstvo se skládá z matky, dělnic a trubců. Tyto včelí kasty plní různé úkoly s ohledem na stáří jedince a roční období (Bentzien, 2008). Na včelstvo tedy pohlížíme jako na nedělitelný celek, jako na jednoho jedince. Americký biolog William Morton Wheeler roku 1911 tuto formu života nazval superorganizmus, vycházel přitom ze svých studií o mravencích (Tautz, 2016).

Matka je ve včelstvu pouze jedna a liší se především velikostí. Měří 20-25 mm a váží 180-260mg. Její úkol je plodit potomstvo, a to velmi intenzivně, denně naklade až 1500 vajíček. Zajišťuje tak rychlou obnovu včelích dělnic a trubců. Výkonná matka naklade za rok i více jak 200 000 vajíček (Veselý et al. 2010). Klade oplozená vajíčka, z nich se vylíhne včelí dělnice nebo nová matka. Klade ale také neoplozená vajíčka do větších buněk, z kterých jsou poté trubci. Takto klade střídavě a během několik málo vteřin. Není dosud plně objasněno, jakým způsobem je toho schopna (Lampeitl, 1996). Matka se líhne po 16 dnech z oplozeného vajíčka a je

krmena po celou dobu larválního vývoje mateří kašičkou (Boháček, 1990). Vývoj matky probíhá ve speciální buňce, zpočátku kulaté, během vývoje se podélně protáhne a jako jediná kukla se vyvíjí hlavou dolů, buňka je tedy svisle (Diemer, 1997).

Nejpočetněji jsou ve včelstvu zastoupeny včelí dělnice. Dělnice je velká 12 – 14 mm a její hmotnost se pohybuje kolem 100 mg. Líhne se po 21 dnech z oplozeného vajíčka. Včelí dělnice je krmena mateří kašičkou pouze do třetího dne larválního vývoje, proto není plně vyvinutá samička. Nemá dokonale vyvinuté vaječníky, nemají semenný váček a jejich pochva není přizpůsobená k páření (Veselý et al., 2010).

Dělnice zajišťuje vše pro správný chod včelstva. Podle kategorie je můžeme řadit do dvou základních skupin a to včely úlové a včely létavky. Jejich úloha se mění s ohledem na jejich stáří. Po vylíhnutí čistí jednotlivé buňky. Připravují je, aby byly vhodné pro kladení vajíček. Od třetího dne se stávají kojíčkami, které krmí včelí larvy, trubce a matku. Od desátého dne se u nich začínají aktivovat voskové žlázy a začínají stavět plásty. Jsou tedy stavitelkami. Od 18. dne se starají o čistotu a kontrolu létavek. Zpracovávají nektar, který odebírají létavkám a přetváří jej na med (Weiss, 2010). Od 22. dne se stává létavkou a až do konce svého života má za úkol sběr pylu, nektaru a vody (Lampeitl, 1996). Některé včely se stávají zároveň pátračkami, které vyhledávají nové zdroje potravy a sdělují polohu ostatním létavkám pomocí včelího tance na plástu (Tausz, 2016). Délka života dělnic je závislá na roční době. Letní generace se dožívá 6-8 týdnů. Zimní generace žije od srpna do dubna dalšího roku, jelikož přečkává zimu v zimním chomáči (Veselý et al. 2010).

Trubec je včelí samec, který se líhne z neoplozeného vajíčka a jeho vývoj trvá 24 dní (Weiss, 2010). Je velký 20-25mm a váží 200 -260 mg. Jeho jediné poslání je oplodnit mladou neoplozenou matku při snubním letu. V červnu až srpnu jsou dle snůšky bez milosti vyhnáni dělnicemi z úlu (Veselý et al. 2010).

## **2.2 Kleštík včelí (*Varroa destructor*)**

Vědecká terminologie tohoto parazita je v češtině kleštík včelí a nemoc způsobená tímto parazitem kleštíkovitost. V latině pak *Varroa destructor* a onemocnění varroóza.

Kleštík včelí byl v odborné literatuře do roku 2000 zaměňován s kleštíkem *Varroa jacobsoni* (Anderson a Trueman, 2000). Pochází z jihovýchodní Asie, kde parazituje na včele východní (*Apis cerana*). Vztah mezi nimi je vyrovnaný a zpravidla je nepoškozuje. V 60. letech 20. století byl zavlečen na západ a tím i na naši včelu medonosnou. (Pohl 2008). Prvního roztoče v ČSSR objevil v roce 1978 Hanco. Na jaře 1981 se zjistilo, že přes všechna opatření se kleštík zavlékl do Ústí nad Orlicí a odtud do celé ČR (Veselý et al., 2010).

Jedná se o ektoparazita včely medonosné způsobující varroózu (Anderson a Trueman, 2000). Kleštík včelí je považován za nejvýznamnějšího škůdce včely medonosné. Škodí tím, že sají hemolymfu (Morse a Flottum 1997). Následně byl kleštík označen jako hlavní vektor virových onemocnění, který má schopnost jak vir přenášet, tak i virovou infekci aktivovat (Yang a Cox-Fister 2005).



**Obr. č. 1:** Stádia kleštíka: mladé samičky, dospělá samička a vpravo dole samečci.  
Zdroj: <http://articles.extension.org/pages/65450/varroa-mite-reproductive-biology>.

Kleštík včelí je zařazen do kmene členovců (*Arthropoda*), (von Siebold, 1848), třídy pavoukoců (*Arachnida*), řádu (*Mesostigmata*) a čeledi kleštíkovití (*Varroidae*).

Tělo dospělé samičky roztoče je hnědé barvy, 1-1,77 mm dlouhé a 1,5- 1,99 mm široké, a tvar připomínající kraba (Delfinado, 1984). V poměru parazita a hostitele jde o jednoho z největších zevních parazitů. Když se ale zasune mezi štítky na břišní straně zadečku včely medonosné, je jen těžko viditelný a pro čistící včely

takřka neodstranitelný. K pevnému přichycení mu slouží drápky a přísavné polštářky na osmi nohách. Díky tomu ani při letu neodpadne (Pohl, 2008). Sameček má okrouhlý tvar, je nažloutlý s délkou 0,75- 0,98 mm a šířkou 0,7-0,88mm (Definado, 1984).

Kleštík včelí má u samic dvě zcela odlišné životní fáze. Jednu takzvaně foretickou na včelích dospělých. A druhou reprodukční fázi v zavíčkovaném plodu, a to buď dělničím nebo trubčím. Na dospělé včely se samičky dostávají z buněk plodu při reprodukci, anebo z včely na včelu při shánění potravy, rojení nebo při loupežení (Kuenen a Calderone, 1997). K přenosu samic kleštíka přispívají také trubci, kteří se často po prvním proletu nevrací do svého úlu (Veselý et al., 2010). Na včele medonosné může být kleštík včelí na jednom místě až 9 měsíců (Pohl, 2008).

Reprodukční fáze nastává v zavíčkovaném plodu. Samičky kleštíka včelího sestupují většinou ze včel chův na otevřený plod (Pohl, 2008) a to 15-20 hodin před zavíčováním u dělničího a 40-50 hodin před zavíčováním u plodu trubčího (Boot et al., 1992). Gérard Donéz z Liebefeldu sledoval sestoupení samic v průhledných buňkách. Ta se protlačí podél larvy a skryje se v krmné šťávě na dně buňky před včelami starajícími se o plod. Kleštíka včelího chrání před utonutím vychlípené dýchací ústrojí (Pohl, 2008). Poté co včelí larva spotřebuje všechnu krmnou šťávu, to bývá 5 hodin po zavíkování, se samička přichytne na larvu a začne ji sát hemolymfu (Infantidis, 1988). Po 70 hodinách naklade první vajíčko, to je neoplozené a vylíhne se z něj sameček a dalších 5-6 oplozených vajíček, z nichž se vylíhnou samičky (Rhem a Ritter, 1989). Vývoj samečka je 158 hodin a samičky 132 hodin. Z vajíčka se líhne šestinohá larva (Veselý et al. 2013). Protonymfa a další nymfální stádia se živí hemolymfou, otvor pro sání jim připraví matka, samy toho nejsou schopny (Donéz a Guerin, 1994).

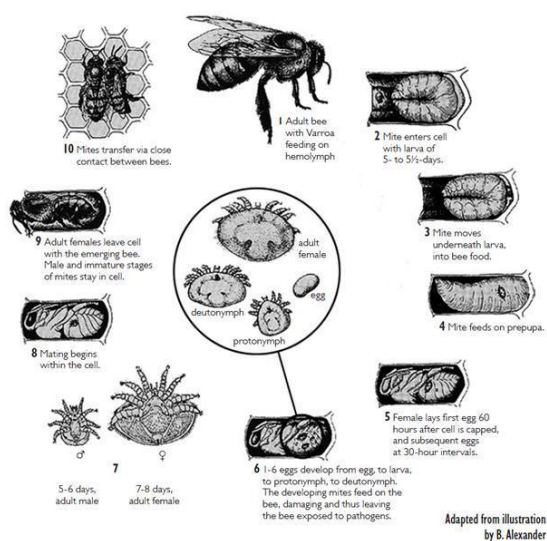
K páření je sameček zralý ihned po přeměně v dospělé. V dospělé se sameček z vajíčka vyvine za 5,8 dne a samička za 6,6 dne (Rhem a Ritter, 1989).

K páření dochází tedy ihned poté, co se první samička vyvine a najde si samečka. Ten čeká na samičky v místě, kde se shromažďují výkaly včelí larvy (Donéz et al., 1996). Před pářením si sameček očistí chelicery (Alberti a Hanel, 1986). Vklouzne na břišní stranu samičky a svými trubičkovitě přeměněnými ústními orgány zasouvá semenný váček do pohlavního otvoru samičky. Páření se několikrát

opakuje, aby samička měla zásobu na několik generací (Pohl, 2008). Sexuální chování je řízeno feromony a pro samečka je nejatraktivnější feromon nejmladších samiček. Páří se tedy pouze s nejmladšími samičkami (Rosenkranz et al., 2010).

V trubčím plodu dosahuje rozmnožovací schopnost 2,6 oplodněných mladých samiček z jedné buňky a na dělničí buňce je to 1,4 mladých oplozených samiček (Pohl, 2008). Proto bývá trubčina napadena kleštíkem častěji, a to více než 10 krát. Samička má citlivé chemoreceptory na methyl- a ethyl estery mastných kyselin a ty produkují více larvy trubců (Le Conte et al., 1989).

Samečci po oplození samiček brzy hynou a samičky se přichytnou na tělo líhnoucí se včely a použijí ji jako vektora. Za 5 – 7 dní je mladá samička kleštíka schopna klást vajíčka (Peroutka, 1981). Pokud je však kleštík bez hostitele, není schopen přežít déle než týden (Spürgin, 2013).



**Obr. č. 2:** Životní cyklus kleštíka včelího.

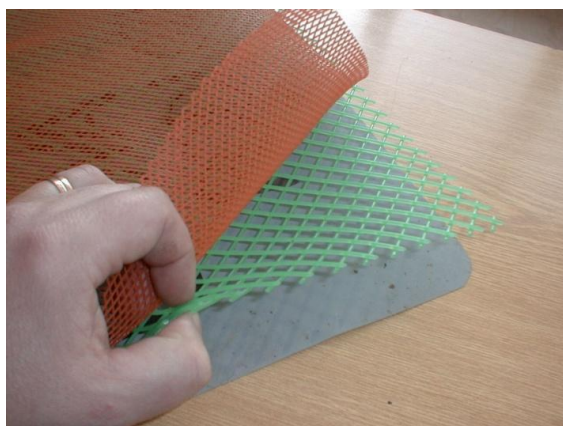
Zdroj: <http://articles.extension.org/pages/65450/varroa-mite-reproductive-biology>.

## Diagnostika kleštíka včelího ve včelstvu

Diagnostiku kleštíka včelího je možné provádět několika různými způsoby, mezi které patří kontrola spadů, odběr zimní měli, metoda posypu cukrem, narkotizace pomocí CO<sub>2</sub> a kontrola trubčího plodu.

## Kontrola spadu

Diagnostika kleštíka včelího se provádí především kontrolou spadu. K tomu slouží takzvané varroa dno, které se odlišuje celozasítovaným dnem a pod ním je zasunuta většinou bílá vysouvací podložka. Přes síto na podložku padají samičky kleštíka včelího. Nebo lze do plného dna vložit podložku opatřenou dvojitou sítí proti vynášení včelami (Kamler, 2008). Sčítají se kleštíci dolů spadlí, kteří přirozeně uhynuli. Jejich počty se dělí počtem dní ve včelstvu od předešlého vyhodnocení a vyčištění. Tento výsledek se násobí převádějícím faktorem a to od 100-300, u neplodujícího včelstva i 500. To je z toho důvodu, že spad samic kleštíka, života neschopných, souvisí s plochami plodu. Například u silného včelstva je denní spad 80 samic kleštíka x faktor 100 = 8000 samic kleštíka. Takového zamoření by obvykle včelstvo ani nedosáhlo a zhroutilo by se. (Pohl, 2008). Aby tento jednoduchý způsob monitoringu byl objektivní, je zapotřebí, aby na podložku neměli přístup mravenci. Ty jsou totiž schopni samice kleštíka odnést a včelaře tak nechat v domnění, že je vše v pořádku (Kamler, 2016). Tento monitoring provádíme především v červenci, srpnu a září. Dobrý včelař by ovšem měl mít celoroční přehled o populační dynamice kleštíka včelího ve včelstvech a celkový přehled o zdravotním stavu včelstev. K těmto účelům monitoringu slouží jednoduchá a přitom velice účinná úlová podložka (Tyl, 2016).



**Obr. č. 3:** Úlová podložka s dvojitou sítí zamezující odnos kleštíků.

Zdroj: <http://www.beedol.cz/2014/monitoring-z-podlozek/>

## Odběr zimní měli

Další monitoring je celorepublikový a povinný. Odebírá se směsný vzorek ze všech včelstev na stanovišti. Vzorky se odebírají nejdříve 30 dní po ometení a vyčištění podložek. Měl je nutné vysušit a přesít přes mřížku, či síto s oky 4 mm,

nesušit však na topení, jinak by se vosk v měli zahřál a slepil. Nejlépe vyschne na novinách při pokojové teplotě. Dále se vysušená měl sesype do obalu. Nejvhodnější je papírový tubus s uzávěrem. Hojně používaným obalem je kelímek od jogurtu přikryt propustnou, ale hustou tkaninou zajištěnou gumičkou. Takto připravený vzorek včelař řádně označí číslem vzorku, jménem chovatele, názvem stanoviště, počtem včelstev a odevzdá do 15. 2. v místě příslušné včelařské organizace nebo na veterinární zprávě (Vořechovská, Tiřera, 2015).

Při monitoringu zimní měli je nutné také pracovat s chybným obrazem spadu. Například, když včelař zimuje včely ve více nástavcích, mohou roztoči po léčení ulpět na horních loučkách rámků spodního nástavku a poté být shozeny proletem nebo pohybujícím se zimním chomáčem. Nebo naopak mohou být při intenzivnějším proletu včelami odklizeni (Krabec, 2016).

Další možností, jak zjistit sílu napadení, je smyv vodou, alkoholem nebo zmrazení tekutým dusíkem. Tato metoda ovšem není úplně vhodná, jelikož jsou včely usmrcovány (Pohl, 2008).

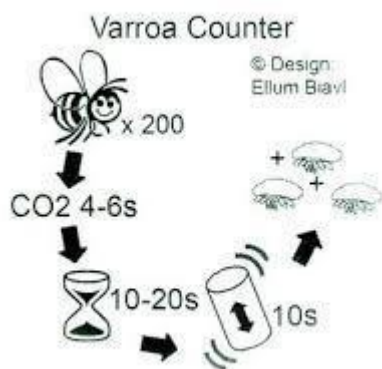
#### Metoda posypu cukrem

Tato metoda je vhodná na orientační zjištění kleštíka včelího. Výhodou je, že nejsou včely usmrcovány a výsledek je okamžitý. Jde o nasypání 50 g včel plodového plástu do plastové nádoby a přidání 50g moučkového cukru. Nádobu uzavřeme a protřepeme, necháme 3 min v klidu a poté krátce dvakrát přesypeme a vysypeme cukr přes síto na jemné sítko. Včely vrátíme do úlu, jemné sítko můžeme prolít vodou a vyklepneme na pláténko. Nyní stačí jen spočítat samičky kleštíka a dle tabulky zjistíme závažnost (Kamler, 2016).



## Narkotizace pomocí CO<sub>2</sub>

Firma Swienty navrhla přípravek, který pracuje na principu narkotizace jak včel, tak kleštíka pomocí CO<sub>2</sub> (Danihlík, 2016).



**Obr. č. 4:** Princip metody narkotizace pomocí CO<sub>2</sub>

Zdroj: <http://www.bienenzuchtbedarf-seip.de/Varroabehandlung-Verdunster-Zubehoer/zugelassene-Behandlungsmittel-gegen-die-Varroa/Varroatester-mit-CO2-Spender.html>.

## Kontrola trubčího plodu

Jedná se o rozřezání nebo vylomení zavíčkovaného trubčího plodu a následný rozbor. Pinzetou vyndáme z buňky plod a pozorujeme dolní stranu plodu a stěny buňky a hledáme přítomnost roztočů. Pokud najdeme na plodu roztoče, není to žádné kritické znamení. Trubčí plod je napadán ve vlnách, je to ovšem dobrá signalizace (Titěra, 2009).

Pokud vidíme roztoče na včelách přímo při prohlídce, je stav akutní. Jestliže krom toho pozorujeme znetvořené včely, již byl překročen práh poškození (Pohl, 2008)

## **2.3 Viry**

Vir je vnitrobuněčný cizopasník nacházející se někde mezi živým a neživým organismem. Tvořen je pouze virovou částicí a to z bílkovin a nukleových kyselin (Cann, 2005). Viry byly objeveny na konci 19. století. Jedná se o nejjednodušší formy života. Definice podle britského imunologa a nositele Nobelovy ceny sira

Petera Medawara zní: „Virus je kus špatné zprávy zabalené v proteinu“ (Carter, 2007). Nejnovější definice publikovaná v časopise NATURE říká: „Virus je kapsid kódující organismus, který se skládá z proteinů a nukleových kyselin, je schopen samovolného složení svého nukleokapsidu a využívá organismy kódující ribozomy pro dovršení svého replikačního cyklu“ (Růžek, 2010).

### 2.3.1 Klasifikace virů

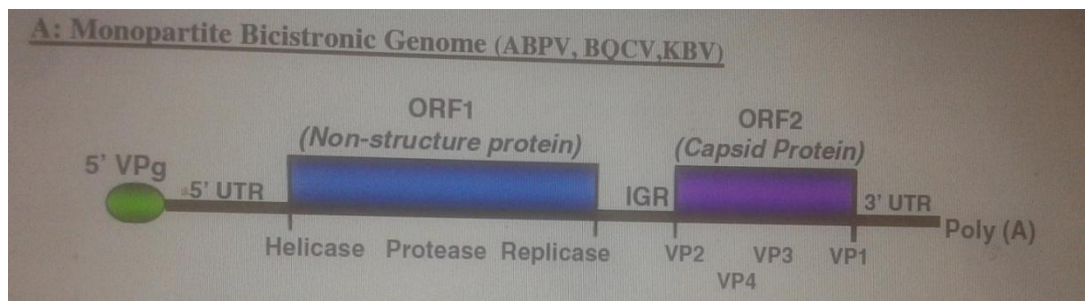
Viry jsou rozděleny bez ohledu na přirozeného hostitele. Jsou taxonomicky utříděny do čeledí, podčeledí, rodů a druhů. Čeleď virů má stejný typ nukleové kyseliny a stejné uspořádání virionu a stejnou strategii replikace. Podčeledi, pokud se stanovují, jsou sdružením virů se společnými vlastnostmi a to bez ohledu na antigenní příbuznost. Rody sdružují viry čeledě více či méně antigenně příbuzné. A jednotlivé druhy jsou pak příslušníci lišící se svými biologickými vlastnostmi. Ty se mohou dále sdružovat do skupin a podskupin dle biologické podobnosti (Bednář et al., 1996)

### 2.3.2 Včelí viry

Včelích virů bylo popsáno již 22. Celosvětově jsou rozšířeny všude tam, kde jsou chovány včely. Zastoupení je však ovlivněno několika faktory a to klimatickými podmínkami, počtem a hustotou chovaných včelstev. Většina virů přetrvává v podobě skryté infekce bez zjevných projevů klinických příznaků, proto nebyly dlouhou dobu považovány za významné původce nemocí. Zvrat přišel až s celosvětovým rozšířením kleštíka včelího. Ten působí jako přenašeč viru, ale také jako spouštěč virového kolapsu. K aktivaci dochází zejména vlivem stresu tím, že parazituje na včele medonosné (Prodělalová, 2015)

Některé včelí viry byly zařazeny do dvou čeledí *Dicistroviridae* a *Iflaviridae*. Ostatní viry nejsou zařazeny do čeledí. Do čeledi *Dicistroviridae* spadají dva rody a to Aparavirus a Cripavirus. Rod Aparavirus zahrnuje tři vzájemně příbuzné viry: ABVP, IAPV, KBV. Do rodu Cripavirus spadá BQCV (Runckel et al. 2011). Charakteristické pro tuto čeleď jsou malé viry, o průměrné velikosti 30 nm a

s velikostí genomu 8500-10000 nt. Jedná se o viry neobalené s lineární jednovláknovou pozitivní RNA (+ssRNA) viz obr. 5. (King et al. 2012).



**Obr. č. 5:** Grafické zobrazení struktury genomu viru.

Zdroj: (Chen et al., 2006)

Čeleď *Iflaviridae*, stejně jako čeleď *Dicistroviridae*, je neobalená +ssRNA, má však odlišné uspořádání genomu. Měří v průměru 26-30nm, délka genomu činí 8800-10100nt. Do této čeledě se řadí pouze jeden rod *Iflavirus*, který zastupuje vir DWV (King et al. 2012).

**Tabulka č. 1:** Přehled některých včelích virů. Zdroj: (Pohl, 2008)

Zkratka názvu viru	Anglický název	Český název viru	Příznaky (V.d. = <i>Varroa destructor</i> )
ABPV	Acute bee paralysis virus	Virus akutní paralýzy včel	Neškodný, ale v souvislosti s V.d. smrt ochrnutím
CBPV	Chronic bee paralysis virus	Virus chronické paralýzy včel	Smrt ochrnutím po přenosu cestou výkal- ústa
SBPV	Slow bee paralysis virus	Virus pomalé paralýzy včel	Neškodný, ale smrt ochrnutím v souvislosti s V.d.
BQCV	Black queen cell virus	Virus zčernání matečnicků	Černé zbarvení mateřích buněk, smrt v souvislosti s V.d.
KBV	Kashmir bee virus	Kašmírský včelí virus	Neškodný, ale úhyn po přenosu V.d.
CWV	Cloudy wing virus	Virus zakalených křídel	Křídla jsou neprůhledná (kalná), smrt v souvislosti s V.d.
SBV	Sacbrood virus	Virová nákaza včelího plodu, váčková choroba	Smrt larev, rychlejší rozšíření ve včelstvu prostřednictvím V. d.
DWV	Deformed wings virus	Virus deformovaných křídel	Neškodný, ale znetvoření po přenosu na kukly prostřednictvím V.d.

### ABPV (Acute bee paralysis virus)

Virus akutní paralýzy včel byl krom včely zaznamenán i u pěti druhů čmeláků. Včela je pravděpodobně jeho původní hostitel. Byl poprvé popsán roku 1964 při zkoumání viru CBPV (Bailey a Gibbs, 1964). Tento vir má vysokou virulenci. V laboratorních podmínkách postačilo 100 virionů při injekčním podání a  $10^{11}$  virionů při podání v potravě k tomu, aby během několika dní došlo k usmrcení (Bailey a Gibbs 1964). V laboratoři docházelo u včel k třesu a paralýze, v přirozených podmínkách nebyly příznaky paralýzy zaznamenány. Důvodem je fakt, že nakažené včely hynou dříve, než se stihnou příznaky objevit u většího počtu včel, aby se daly zaznamenat (Ribiére et al. 2010). Za hlavního přenašeče je považován kleštík včelí, avšak dochází i k přenosu spermatem trubců (Yue et al. 2007).

### IAPV (Israel acute paralysis virus)

Projevem IAPV je ztráta ochlupení včely. Na první pohled zčernají a to od špičky zadečku. Ztráta ochlupení se během 3 – 6 dnů rozšíří po celém těle včely. Dalším projevem jsou i změny chování. Jsou neklidné, pohybují se v kruhu, nepřijímají potravu a nelétají. Poté se přestávají pohybovat a hynou (Maori et al. 2007).

K hromadění částic viru dochází v hltanových žlázách, to dokazuje detekce virových částic v medu, pylu a mateří kašičce. Takto dochází k přenosu při krmení a předávání potravy z úst do úst (Chen et al. 2014). Velký podíl má samozřejmě kleštík včelí, který snižuje včelám imunitu a dává prostor viru k replikaci (Di Prisco et al., 2011). Průzkumy naznačily blízký vztah viru IAPV a syndromu kolapsu CCD (Cox – Foster et al., 2007).

### KBV (Kashmir bee virus)

Kašmírský virus je velice těžko rozeznatelný. Pokud se dostanou částice viru přímo do hemolymfy, například při napadení kleštíkem, do tří dnů dochází k úhynu a to jak u dospělce tak larvy (De Miranda et al., 2012). Je považován za nejvirulentnější včelí vir. Letální dávka při injekčním podání činí pouhých 35

virových částic (Baley et al., 1976). Hlavním vektorem je kleštík včelí (Shen et al., 2004a). Přenos je možný také prostřednictvím potravy a výkalů (Hugo, 2000).

#### BQCV (Black queen cell virus)

Jedná se o druhý nejrozšířenější virus a je spojen s houbovým onemocněním hmyzomorkou včelí (*Nosema apis*) (Chen, 2007). Projevuje se pouze u matečnicků. Larvy mají tuhou, světle žlutou pokožku a následně hynou, poté stěny matečnicku zčernají (Ball a Bailey, 1997). Tento virus byl zaměňován s virem SBV, jelikož má podobné příznaky. Po použití antiséra SBV, nebyla sledována žádná rekce a potvrdilo se, že jde o odlišný vir (Bailey a Woods, 1977).

K projevům viru dochází pouze za přítomnosti hmyzomorky včelí (Bailey et al., 1883). K přenosu dochází infikovanou mateří kašičkou. U dělnic a trubců nedochází zřejmě k dostatečnému pozření počtu virových částic, neboť jsou krmeny mateří kašičkou jen omezenou dobu (Allen a Ball, 1996).



**Obr. č. 6:** Nakažený matečník virem BCQV.

Zdroj: <https://beeinformed.org/2013/12/04/bqcv-black-queen-cell-virus/>

### DWV (Deformed wings virus)

Jedná se o nejznámější a zdá se i velmi významný vir v pozadí syndromu zhroucení včelstev. V Japonsku byl tento vir izolován roku 1982 a to ze včelstva napadeného keštíkem včelím (Ball, 1988). Mezinárodní tým pod vedením Leny Wilfertové potvrdil, že DWV pochází z Evropy a původní hostitel je včela medonosná (Petr, 2016).

Projevuje se deformovanými křídly a zkrácením zadečku (Boecking a Genersch, 2008). Vybledlé zbarvení těla, malátnost a postupné ochrnutí končetin vede ke smrti po méně než třech dnech života (Ryabov et al., 2014). Nutno dodat, že k projevům dochází pouze při nakažení před vylíhnutím včely. Pokud je nakažena dospělá včela, žádnými příznaky netrpí (Aubert et al., 2008.)

Pro vypuknutí otevřené infekce virem DWV je tedy přítomnost kleštíka včelího nezbytná. Důležitá je především míra napadení (Bowen- Walker et al., 1999). Rozvoj může být velmi pomalý. Pokud byli v počátečním stavu ve včelstvu dva kleštíci, po prvním roce se jejich počet vyšplhá na 44, další rok na 405, ve třetím roce 1826 a ve čtvrtém se dostáváme k číslu převyšujícím 15 000. Jako hraniční se považuje populace čítající 3000 samic kleštíka. Jsou známy však případy přežití včelstva s populací 10 000 samic kleštíka (Bienkowska, 2006). Kleštík je nejen mechanický, ale také biologický vektor (Mockel et al., 2011). Dochází u něj k replikaci viru a ke koncentraci  $10^{10}$  kopií, což je dostatečné pro vyvolání otevřené infekce (Gisder et al., 2009).

DWV vedle včely medonosné a kleštíka včelího byl popsán i u včely východní (*Apis cerana*), včely květné (*Apis florea*), lesknáčka úlového (*Aethina tumba*) (Eye et al., 2009). A také u čmeláků *Bombus terrestris* a *Bombus pascorum* (Genersch et al., 2005).



**Obr. č. 7:** Ve středu včela s typickými příznaky DWV.

Zdroj: <https://phys.org/news/2016-02-bee-virus-manmade-emanates-europe.htm>

### SBV (sacbrood virus)

Tento vir je třetím nejběžnějším virem na světě. Chovateli je často mylně diagnostikován jako mor včelího plodu. Na rozdíl od moru včelího plodu nedochází k úplnému rozložení larvy. Larvy odumírají většinou na jaře, nejspíše je to díky nedostatku potravy, především pylu (Tentcheva et al., 2004). U larvy po čtyřech dnech od zavíčkování dochází k poslednímu svlékání a kuklení. U larev nakažených SBV dojde pouze k oddělení poslední larvální pokožky a naplnění tekutinou. Larva poté připomíná váček naplněný tekutinou, změní se její zbarvení z perleťové postupně přes žlutou až na tmavě hnědý útvar, který seschne. Po rozboru vidíme seschlou tmavou larvu se zvednutými konci (Grabensteiner et al., 2001).

K přenosu dochází především při čištění, kdy se mladá včela nakazí při úklidu napadené buňky a následně se stává krmičkou a nakazí mladou larvu (Shen et al. 2006 a). Schopnost přenášet SBV kleštíkem včelím, byla potvrzena experimentálně (Aubert et al. 2008). Přenos z matky na potomstvo byl také potvrzen (Chen et al., 2006b).

O projevech na dospělých včelách panují dosti odlišné názory. Podle Shen et al. (2005) jsou královny a dospělé včely bez příznaků. Naproti tomu Bailey a Fernando (1972) popisují zrychlený vývoj mladé včely v létavku a neschopnost sbírat a konzumovat pyl.



**Obr. č. 8:** Larva napadená virem SBV.

Zdroj: <http://articles.extension.org/pages/71172/honey-bee-viruses-the-deadly-varroa-mite-associates>

### **Nezařazené viry**

#### IBPV (Israeli acute bee paralysis virus)

Toto virové onemocnění má jak vizuální, tak fyziologické modifikace. První příznaky jsou třes a neschopnost létat. Druhá skupina příznaků zahrnuje především to, že jsou dospělé včely lysé, tedy tmavé a lesklé (Genersch & Aubert, 2010).

Postižené včely mají také zduřelý medný váček, díky tomu zvětšený zadeček a nepřírozně postavená křídla (Ball and Bailey, 1997). Dochází také k hromadění postižených jedinců na česnech. Ti totiž nejsou vpuštěni strážkyněmi do úlu, jelikož se vizuálně odlišují. Během pár dní dochází k úhynu (Berenyi et al., 2006). Včelstvo, a to často nejsilnější, se takto zbaví létavek a dochází ke kolapsu (Ribiere et al., 2010).



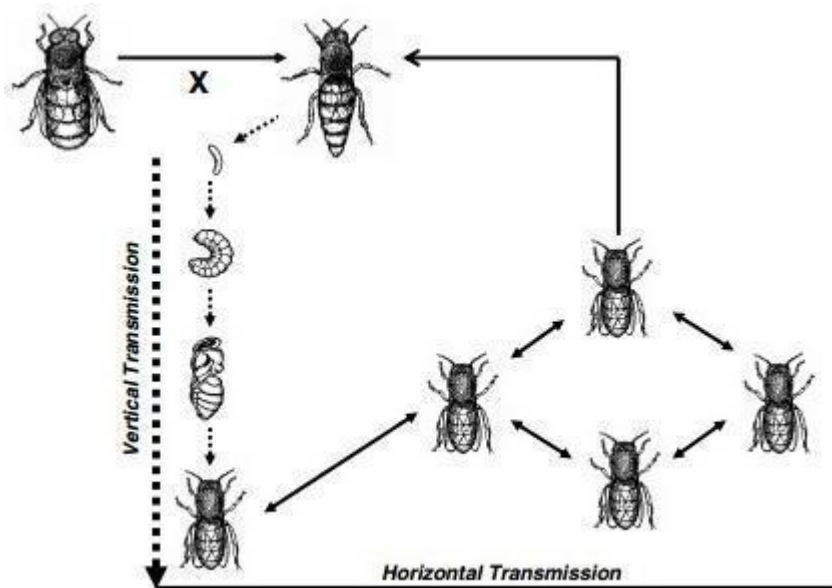


**Obr. č. 9:** Včely napadené virem IBPV.

Zdroj: <http://articles.extension.org/pages/71172/honey-bee-viruses-the-deadly-varroa-mite-associates>

### 2.3.3 Přenos včelích virů

Přenosy včelích virů rozdělujeme podle jejich způsobu na přenos horizontální přímý a nepřímý. A dále také na přenos vertikální.



**Obr. č. 10:** Grafické znázornění přenosů virových infekcí.

Zdroj: (Chen et al., 2006).

### Přenos horizontální přímý

Nejběžnější způsob je přenos přímý horizontální, ke kterému dochází přímým kontaktem zdravých včel s infikovanými. Systém organizace včelstva umožňuje rychlé šíření. Přesto bývají většinou napadeny jen určitá vývojová stadia a ostatní včely jsou bez nákazy. Takto přenášené viry jsou často doprovázeny pozorovatelnými příznaky (Chen et al., 2006).

K přímému horizontálnímu přenosu může dojít i prostřednictvím infikované potravy, kterou dospělá včela krmí larvy, a tím dojde k jejich nakažení. Potrava může být silně infikovaná, jelikož dělnice produkuje potravu svými hltanovými žlázami a ty bývají viry silně napadány. Tímto způsobem může být nakažen i pyl, nektar a med (Shen et al., 2005).

### Přenos horizontální nepřímý

Děje se tak za pomoci vektora kleštíka včelího. Ten parazituje na včele medonosné sáním hemolymfy. Experimenty prokázaly, že virus pozřelý kleštíkem včelím se hromadí v zažívacím traktu a replikuje. A při nabodnutí včely, těsně před sáním, dochází k vyvržení útrobního obsahu (Wiegers, 1986). Tento způsob je zřejmě nejvýznamnější (Browen-Walker et al., 1999). Nepřímý horizontální přenos viru způsobuje také hmyzomorka včelí (*Nosema apis*). Hmyzomorka včelí je spojována především s virem BQCV (Bailey et al., 1983).

### Přenos vertikální

O vertikální přenos jde, jestliže se vir přenáší z vaječnicků matky na potomstvo, nebo spermatem trubce na potomstvo. Tento přenos částic viru se vyskytuje ve velmi malé míře a je tedy i nedostatečný pro vyvolání příznaků (Shen et al., 2005).

#### **2.3.4 Diagnostika virů ve včelstvech**

K diagnostice virů se v minulosti používal elektronový mikroskop nebo sérologické metody, z nichž nejpoužívanější je metoda ELISA (Bowen – Walker et

al., 1999). Dnes se k zjištění používají především molekulárně biologické metody. Výhodou těchto metod je rychlost, přesnost a citlivost, která zaznamená i velmi nízké koncentrace. Tyto metody stanoví průkazné virové nukleové kyseliny DNA, a nebo RNA a jejich množství. Nejpoužívanější je metoda PCR (Read, 2000)

## 2.4 Nosemóza

Nosemóza je onemocnění způsobené mikrosporidii hmyzomorkou včelí (*Nosema* spp.), která je od roku 2006 řazena mezi houby (Hrabak, 2007). Nosemózu způsobují dva druhy mikrosporidií *Nosema apis* a *Nosema ceranae*. *Nosema apis* je původní druh parazitující na včele medonosné. *Nosema ceranae* je nově objevený druh, který byl poprvé zaznamenán ve Španělsku v roce 2005. Podobně jako se rozšířil kleštík včelí, tak se i *Nosema ceranae*, která je původní u včely východní, dostala díky člověku do celého světa (Kamler, 2011).

Tato vnitrobuněčná houba způsobuje střevní potíže u dospělých včel (Lucký, 1984). V začátcích nejsou patrné žádné příznaky. Po propuknutí nákazy se objevují včely se zduřelými zadečky a všudypřítomné výkaly žluté až hnědé barvy, které jsou plné spor (Lampeitl, 1996). Velkým nebezpečím je požívání výkalů (cekotrofie), která je přirozenou vlastností čistících včel. Tímto se nemoc rychle šíří. Ve výkalech se z důvodu narušené výstelky žaludku nedokonale tráví cukry a ty jsou lákadlem i pro ostatní včely. (Rejnič et al., 1987). Nemocná včela hyne na sepsi (Lucký, 1984).

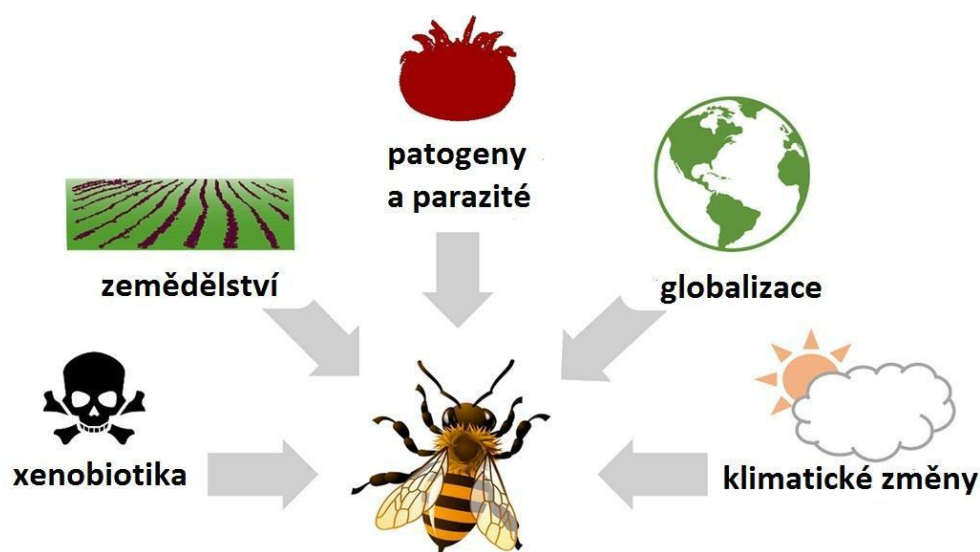
Na vývoj nemoci má vliv především teplota. Pokud je teplota kolem 20°C v zimním chomáči, spory se nemnoží. Problém nastává v jarním období, kdy je teplota včel 30 – 33°C. Tato teplota je ideální pro rozvoj a napomáhá i přítomnost bílkoviny v potravě. Po překročení teploty 35°C se omezí vývoj nemoci. Pokud si včely udrží teplotu 37°C po dobu 10 dnů dojde k úplnému uzdravení (Veselý et al., 2010).

Jediným doporučovaným postupem k tlumení nosemózy je obměna díla a dodržování běžných dezinfekčních postupů (Kamler, 2011). Prevencí je pak silné včelstvo se zdravou a výkonnou matkou a s vhodnými zimními zásobami. Neméně důležité je také ničím nerušené zimování (Rejdič et al., 1990).

## 2.5 Colony collapse disorder (CCD)

Tento dosud neobjasněný jev byl poprvé popsán ve spojitosti s obrovskými ztrátami včel v USA v roce 2006-2007 (Oldroyd, 2007). Jedná se o náhlé zhroucení, kdy se bez předchozích příznaků v úle nahlé nachází pouze matka a několik mladých dělnic. V úlu se nachází plod i zásoby. Zajímavé je, že první týdny po kolapsu se v úle nenachází ani přirození škůdci ani loupeživé včely jiných včelstev (Cox- Foster et al., 2007).

Při důkladném zkoumání patogenů v potvrzených včelstvech na CCD byl nejvíce predikován virus IAPV. Studie však prokázaly přítomnost viru v USA ještě před objevením CCD. Dalším spojovaným virem s CCD je KBV a DWV a dva druhy mikrosporidií *Nosema apis* a *ceranae* (Cox- Foster et al., 2007). Dalším podezřelým patogenem jsou pesticidy s důrazem na neonicotinoidy (Higes, 2010).



Obr. č. 11: Znárodnění možných příčiny CCD.

Zdroj: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/mec.13986/full>

## 2.6 Tlumení výskytu kleštíka včelího

### 2.6.1 Potírání varroózy dle legislativy

V souladu s § 44 odst. 1 písm. d) zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon) je včelař povinen se řídit pokyny k zabránění šíření kleštíka včelího (Semerád, 2017).

### Jarní ošetření

Jarní ošetření je závislé na výsledcích rozborů zimní měli. Pokud není alespoň 25% stanovišť bez nálezu kleštíka včelího, je nařízené kompletní přeléčení všech včelstev na území obcí. Pokud je více než 25% stanovišť bez nálezu kleštíka, provedou přeléčení pouze včelaři, kteří mají na stanovišti průměrně více jak 3 kleštíky na včelstvo (Krabec, 2016).

Jestliže je výsledek pozitivní je včelař povinen ošetřit včelstva nátěrem plodu nejpozději do 15. dubna a doplnit ošetření následnou fumigací Varidolem. Nátěr se provádí emulzí přípravku M-1 AER. Nátěr je možno užít jen na plochu 10dm<sup>2</sup> zavíčkovaného plodu. Ostatní plod musí být vyřezán. Nátěr zabíjí roztoče v plodu a následná fumigace likviduje samičky kleštíka na včelách (Kamler, 2015).

### Podzimní preventivní ošetření

Preventivní ošetření všech včelstev je nezbytné provést na všech stanovištích. To je možné přípravkem Varidol 125 mg/ml a to ošetřením včel 3x v období od 10. 10. do 31. 12. 2017. Provádí se v intervalu 14 – 21 dnů z hlediska aplikace, v souladu s příbalovou informací k jeho použití. Lze léčit i jiným veterinárním léčivým přípravkem pro ošetření včel opakovaně v souladu s příbalovou informací k jeho použití.(Krabec, 2016).

### Seznam registrovaných přípravků vhodných k ošetření včelstev:

Apiguard 25 % gel, 12,5 g účinné látky, reg. Č. 99/003/10 - C

Gabon PF 90 mg, proužek do úlu, reg. č. 96/088/09 - C

Formidol 41g, proužek do úlu, reg. č. 99/051/09 - C

Formidol 81g, proužek do úlu, reg. č. 96/044/14 – C

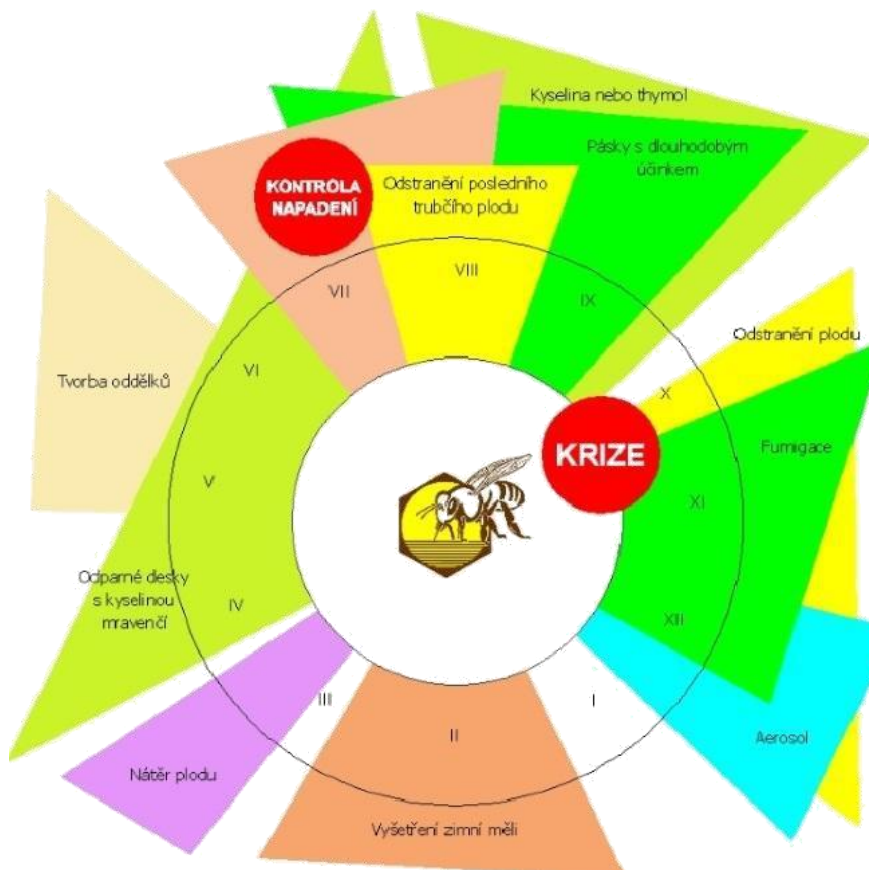
MP – 10 FUM 24 mg/ml, fumigantní roztok do úlu, reg. č. 96/090/09 – C

M - 1 AER 240 mg/ml, koncentrát pro roztok k léčebnému ošetření včel, reg. č. 96/089/09 – C

Varidol 125 mg/ml, roztok k léčebnému ošetření včel, reg. č. 96/238/94 – C

Thymovar 15 g, (12,5 g účinné látky), proužky do úlu, reg. č. 96/060/10 – C

(Krabec, 2015).



**Obr. č. 12:** Celoroční schéma doporučených postupů k tlumení varoózy.  
Zdroj: <http://www.beedol.cz/varroaza/>

### Doporučení Státní veterinární správy (SVS)

Podle doporučení SVS je důležité pravidelné sledování přirozeného spadu roztočů, zejména v podletí. Při zjištění vysokého spadu roztočů je nutné neprodleně vyšetřit včelstva a provést jeho léčebné ošetření. Léčebné ošetřování včelstev se smí provádět pouze schválenými léčivými přípravky. Postupuje se vždy v souladu s příbalovou informací k léčivému přípravku a nepoužívají se léčiva nadměrně nebo neefektivně, aby nedocházelo k rezistenci roztočů případně výskytu reziduí těchto léčiv ve včelích produktech.

Další doporučení, které SVS vydává je provádět léčebná ošetření pokud možno ve stejnou dobu (v co nejkratším časovém rozmezí) na souvisejících stanovištích. Nová včelstva (oddělky) nebo matky by se měly pořizovat pouze z důvěryhodných zdrojů. Vhodné je také provádět chovatelská opatření, mezi která

patří pravidelná obnova včelího díla (během tří let obměnit veškeré včelí dílo), odstranění zavičkováného trubčího plodu, omezování plodování na podzim, odstranění plodu ze včelstva v době léčebného ošetřování apod.

Další možností je provádění vhodných protirojových opatření (např. tvorba oddělků), a začít včas zakrmovat v podletí, což omezí loupeže, jako jednu z cest šíření nákazy. Pravidelně by měla být sledována nálezová situace v okolí stanoviště (v doletové vzdálenosti pro včely). Potřeba je také spolupráce mezi chovateli, hledání společných řešení, která mohou nákazu řešit účinněji. Roje neznámého původu a divoce žijící včelstva by měla být utrácena, protože jsou brána jako potenciální zdroj nákazy. Úživná kapacita lokality by neměla být překračována vysokou koncentrací včelstev na stanovišti a usilovat by se mělo o rovnoměrné rozmístění stanovišť v krajině, zejména při kočování (SVS, 2017).

## **2.6.2 Jiné metody boje s kleštíkem**

Jedná se o metody nevyplývající ze zákona. Jde však buď o vhodný doplněk, nebo naopak slouží k řešení extrémní situace napadení kleštíkem včelím. Dalším důvodem použití alternativních metod léčení je produkce biopotravin. A také řešení s neustále přibývajícím rezistencí kleštíků včelích na chemické akaricidy.

### Přemetání na mezistěny

Původní název metody je severské zimování, někdy se můžeme setkat také s termínem finské či norské zimování. Jedná se o to, že původní včelstvo je přemeteno na mezistěny do nového vydezinfikovaného úlu. Zde dochází k plodové pauze, jelikož musí včely nejdříve vystavit plásty. Na včelách se nachází pouze foretické samičky kleštíků, které snadno zlikvidujeme kyselinou mravenčí, fumigací nebo aerosolem. Metoda je velmi pracná, naproti tomu je účinnou metodou v boji a prevenci proti kleštíku včelímu, hmyzomorze včelí, zvápenatění včelího plodu a moru včelího plodu. Při této metodě lze také snadno vyměnit matku (Solčanský, 2016).

### Izolátor matky

Jedná se o metodu opírající se o BAR (Brood-adult ratio) poměr počtu kleštíků v plodu a na dospělých včelách. V podmínkách České republiky je stanoven

na hodnotu 2,5-3,3. To znamená, že 30-40% kleštíků je tedy foretických na včelách a 60-70% je v plodu. (Holub, 2010).

První způsob metody je odchytit matku a vložit ji do izolátoru. Izolátor umístíme do středu mezi plodové rámy. Po 24 dnech není ve včelstvu žádná buňka plodu. Provedeme tedy ošetření fumigací. Včelstvo ponecháme v klidu a zakrmíme. V polovině listopadu zkontrolujeme, jestli je izolátor v prostoru sezení včelstva a zásob, v případě potřeby převěsíme. Matku vypouštíme až v březnu za předpokladu dobrého počasí. Můžeme provést kontrolní fumigaci, jestli není ve včelstvu kleštík. (Sciskala, 2015). Při použití izolátoru dochází ke snížení spotřeby zimních zásob a výrazné omezení množství léčiv (Kružík, 2015).

Druhý způsob je mechanická likvidace kleštíka. Jedná se o izolátor, do kterého se vloží jeden plást a do něj se vloží matka přibližně v červnu. Každých deset dní je použit nový rámeček a stávající je buďto zlikvidován nebo ošetřen kyselinou mravenčí. Tento systém se 3x opakuje a populace kleštíka je dosti zredukována. Touto metodou je rozvoj včelstva silně zpomalen (Pohl, 2008).

### Organické kyseliny, éterické oleje a thymol

Jedná se o boj proti kleštíkovu pomocí měkké chemie. Využívají se organické kyseliny a to kyselina mravenčí, mléčná a šťavelová (Pohl, 2008). Výhodou je malá pravděpodobnost resistance (Rosekrnz et al., 2010). A fakt, že nedochází ke kontaminaci vosku a medu (Bogdanov, 2006). Jelikož většina těchto látek je rozpustná ve vodě nebo těkavá. Některé jsou i přirozenou součástí medu (Bogdanov et al., 1998).

#### Kyselina mravenčí

Je jediný organický akaricid, který může usmrtit i kleštíka v zavíčkovaném plodu a je možné ho používat i během produkčního období (Fries, 1991). V České republice je registrována ve formě formidol 41 a formidol 81.



## Kyselina mléčná

Tato kyselina je málo používaná. Je to díky pracnosti. Aplikuje se postřikem a nepůsobí na zavíčkovaný plod (Pohl, 2008). K aplikaci se používá 15% roztok v množství 8 ml na každou stranu obsednutého rámu. Účinnost je 94,2 až 99,8% (Kraus a Berg, 1994).

## Kyselina šťavelová

Tato kyselina se používá k tlumení varroózy ve většině zemí Evropy (Popov et al., 1989), kde se používá více jak 20 let a v Kanadě od roku 2010. U nás i přes veškerou snahu PSNV nebyla zatím registrovaná. Podle Dr. Marly Spivak, významné výzkumnice z univerzity v Minesotě, jde o vysoce účinné léčivo s minimálními riziky kontaminace včelích produktů (Matela, 2016). Proti kleštíkovci se používá pouze ve včelstvu bez plodu. Je tedy používána v sezoně k ošetřování oddělků, rojů a smetenců. A také k podzimnímu ošetřování včelstev v bezplodovém období (Pohl, 2008). Používá se aplikace pokapem, sublimací a rozprášením (Rademacher a Harz, 2006).

## Thymol

Mezi éterickými oleji se vyznačuje dobrou účinností. Může sloužit jako náhrada kyseliny mravenčí. Používá se po ukončení snůšky po dobu 6 týdnů. Je dodáván ve dvou výrobcích a to Thymovar, což je plátek houbičkové utěrky napuštěn účinnou látkou. A Apiguard je směs uložena v ploché misce. Oba přípravky se aplikují na horní loučky a nechají se vypařit (Pohl, 2008).

## Termoterapie

Jedná se o specializovaný úl navrhnut, zkonstruován a patentován českým včelařem R. Linhartem. Vychází z poznatků, že schopnost reprodukce samiček kleštíka výrazně snižuje teplota nad 36,5°C a teplota nad 38°C, která kleštíky zabíjí (Le Conte et al., 1990).

Úl se skládá z varroa dna, které je oproti běžnému dnu navíc opatřeno izolační vložkou. Nástavek je konstruován na 10 rámků míry 39x24. Má výrazně zúženou čelní stěnu, kde se nachází okénko, kterým proniká sluneční záření. Nástavek je precizně utěsněn a zcela neprůdušný. U stropu jde o silně utepřený rám se vsazenými skly se speciální barvou. Zajišťuje silný skleníkový efekt. Má velký výkon a je vhodný pouze na termoterapii. Aktivuje se sejmutím střechy. Je vybaven dvěma teploměry umožňující sledování teploty v horní a spodní části plodiště. Střecha je silně zateplena, aby byla zajištěna tepelná setrvačnost. Nijak se neodlišuje od běžných úlových střech (Linhart, 2016).

V praxi se za slunného počasí sundá střecha. Termosolární víko začne úl ohřívat. Vystavíme úl teplotě 40°C na spodním a 47 °C na horním čidle, při dosažení teploty 47°C se nasadí střecha, a tím je deaktivováno termosolární víko. Doba trvání teplot od dosažení 40°C na dolním čidle je 150 min. Při testech bylo dosaženo výborných výsledků, nebyl zjištěn negativní vliv na plod ani vosk. Termoterapie byla již v minulosti úspěšně testována. Nikdy však nemohla být aplikována v praxi díky náročnosti založené na elektrickém ohřevu. Nyní však s Linhartovým termosolárním úlem se stává metoda termoterapie slibným postupem léčení bez použití chemie (Bičík, 2016).



**Obr. č. 13:** Termosolární úl.

Zdroj: <http://thermosolarhive.com/cs/galerie-videa/fotogalerie/>

### 2.6.3 Varroa tolerance

Jedná se o genetické vlastnosti včel, které jsou schopné s kleštíkem včelím normálně žít. Jde o soubor vlastností, které drží populaci kleštíka v mezích normy. Takové včely jsou schopny s kleštíky normálně žít.

#### Varroasenzitivní hygiena (VSH)

Jede o velmi dobře vyvinuté hygienické chování, kdy dělnice aktivně rozpoznávají nemocné kukly a ty odstraňují ze včelstva. Při tomto zákroku se dospělé samičce většinou podaří utéct. Kleštík se ale nenamnoží (Page, et al, 2016). Experimentem bylo prokázáno, že 61% roztočů se podařilo přemístit na jiný plod, 14,6% samic kleštíka se uchytilo na dospělých včelách. A 35,5% samic kleštíka bylo usmrceno, z toho 10,9 % bylo usmrceno přímo při čištění buněk a zbylých 24,6% bylo nalezeno mrtvých v podmetu na podložkách (Boecking a Spivak, 1999).

Jeden ze základních testů je pin test. Provádí se tak že se část zavíčkovaného plodu usmrtí a to buď jehlou, nebo mrazem. Následně se vrátí do včelstva a kontroluje se vyklizení mrtvých buněk dělnicemi v časových intervalech. Byla prokázána spojitost mezi silou čistícího pudu, tedy rychlostí vyklizení mrtvých larev s odstraňováním napadených buněk keštíkem (Boecking a Spivak, 1999).

#### Grooming

Jde o jednu z forem hygienických vlastností včel. Včely se zbavují roztočů navzájem a mechanicky. Roztoči bývají poraněni především amputací nohou, některé včely jsou schopny kleštíka rozdrtit svými kusadly (Thankur et al., 1997). Mladé včely provozují takzvaný třepavý tanec a starší včely je prohlíží a kleštíky odstraňují (Žák, 2001). Bylo vyzorováno, že se takto chovají konkrétní dělnice a nestávají se létavkami (Moore et al., 1995).

### **3 Cíl práce**

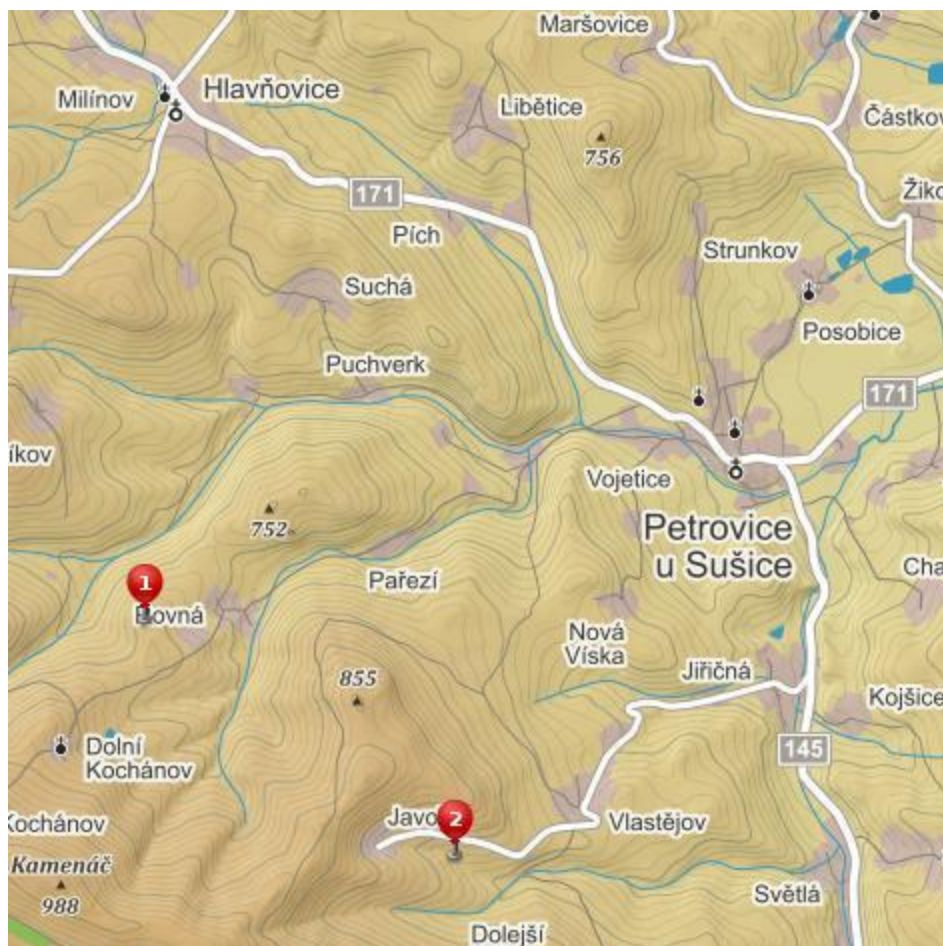
Cílem práce bylo zmonitorovat sílu populace kleštíka včelího ve vybraných včelstvech a detekovat přítomnost virů (SBV, ABPV, BCQV, DWV) a hmyzomorky včelí.

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Popis stanoviště

Z vlastního chovu bylo vybráno celkem 6 průměrných včelstev ze dvou lokalit Javoří u Hartmanic a Rovná. Obě lokality jsou od sebe vzdáleny přibližně 2 km. Nacházejí se v podhůří Šumavy v nadmořské výšce 750 m. n. m. Průměrná roční teplota je 5-6 °C a roční úhrn srážek je 750 mm.

Celkem obhospodařujeme 20 včelstev. Na každém stanovišti je umístěno 10 včelstev. Stanoviště na Javoří je staré stanoviště, na Rovné je od roku 2015. Včelaříme nástavkově na rámkové míře 39x24 a na většině úlů jsou varroa dna. Chováme včelu kraňskou (*Apis mellifera carnica*). V chovu využíváme vlastní výběrové matky a matky ze šlechtitelského chovu Sedláček Příchovice.



**Obr. č. 14:** Mapa lokalit.

Zdroj: [www.mapy.cz](http://www.mapy.cz)

## 4.2 Odběr vzorku

Na včelnici byla vybrána 3 průměrná včelstva. U těchto včelstev byly odebrány dva vzorky, a to před a po léčení fumigací. Před léčením bylo odebráno přibližně deset včel sklepnutím z plodového plástu na folii a následně byly přesypány do odběrné zkumavky. Druhý odběr byl proveden v lednu odebráním včel z kraje zimního chomáče. Včely byly usmrceny mrazem a do laboratorního rozboru byly uchovány v -20 °C. Vzorky byly označeny čísly 1- 12. Kde 1-6 jsou vzorky před léčením a 7-12 vzorky po léčení.



**Obr. č. 15:** Odběrná zkumavka.

Zdroj: vlastní foto

## 4.3 Monitoring

Po odebrání vzorku byla u včelstev provedena kontrola zamoření kleštíkem včelím. K tomuto účelu byla použita kyselina mravenčí ve formě formidol 81. Od tohoto zákroku byl u včelstev sledován v týdenních intervalech spad kleštíka. Tyto výsledky byly následně přepočteny na spad denní. Po 10. říjnu byla provedena fumigace. Za 24 hodin byla provedena kontrola podložek. Další fumigace a aplikace pomocí aerosolu byla provedena v doporučených termínech.



**Obr. č. 16:** Úlová podložka s mělí.  
Zdroj: vlastní foto

#### **4.4 Diagnostika virů napadajících včely**

##### Příprava vzorku

Homogenizace celých včel byla provedena v třecí misce za použití tekutého dusíku. Vzniklá drť byla uschována v  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  a následně použita v dalších krocích.

##### Izolace virových nukleových kyselin

Izolace z homogenizovaných včel byla provedena dvěma způsoby:

- pomocí TRI - reagentu
- kitem (Qiagen)

##### Izolace pomocí TRI-reagentu

Tento postup byl proveden dle metodiky publikované De Miranda et al. (2013). V první řadě byla zapnuta a nachlazena centrifuga na teplotu  $4^{\circ}\text{C}$ . Z již homogenizovaných včel byla odebrána část odpovídající přibližně 100 mg, vložena do zkumavky a bylo přidáno 3 ml TRI-reagentu a 0,5 ml chloroformu. Po řádné homogenizaci za pomoci vortexu, byl vzorek umístěn do centrifugy na dobu 15 min.

při 4°C a 8000 x g. Poté byl vzorek vyjmut z centrifugy, byla odebrána vodní fáze vzorku a přidáno stejné množství isopropanolu. Takto připravená a promíchaná směs byla uložena v -20 °C po dobu 15 min. za účelem vysrážení nukleové kyseliny.

Následovala opět centrifugace po dobu 15min při 4 °C a 8000 x g. Poté byl ze vzorku vylit isopropanol. Pelet byl vysušen a následně rozpuštěn v 10µl RNase- free vody.

### Izolace kitem Qiagen

Jako u předchozí metody byly použity homogenizované včely. Vzorek o navážce cca 100 mg byl přemístěn do RLT pufru. Následovala inkubace 3 minuty v 56°C. Takto připravený lyzát byl umístěn do QIAshredder spin kolonky fialové barvy. Tato kolonka byla vložena do sběrné zkumavky a celý komplet byl umístěn do centrifugy na 2 minuty při nejvyšší rychlosti. Výsledný supernatant bez peletu, byl přemístěn do nové mikrocentrifugační zkumavky a k vzorku bylo přidáno poloviční množství 96% ethanolu. Po promísení byl vzorek přemístěn na RNeasy spin kolonky růžové barvy zakomponované do 2 ml sběrné zkumavky. Následovalo uzavření a centrifugace při 10000 rpm, 15s. Přefiltrovaný obsah byl odstraněn a na kolonku bylo přidáno 700 µl pufru RW1 a opět následovala centrifugace při 10000 rpm, 15s. Filtrát byl odstraněn a k vzorku bylo přidáno 500 µl pufru RPE. Následovala opět centrifugace a vylití filtrátu a poté znovu přidání 500 µl pufru RPE a zcentrifugování při 10000 rpm 2 minuty. Poté byla vyměněna sběrná zkumavka za novou a centrifugováno na nejvyšší rychlost po dobu 1 minuty. Posledním krokem bylo umístění kolonky do nové 1,5 ml sběrné zkumavky. Na střed kolonky bylo přidáno 40 µl RNase- free vody a po 1 minutové centrifugaci při 10 000 rpm byl získán roztok RNA. Ta byla skladována v hluboko mrazicím boxu při – 80°C, nebo rovnou použita k syntéze cDNA.

### **Syntéza cDNA**

#### Přečištění vzorku RNA

Do mikrozkušavky s roztokem RNA byl vložen 1µl rDNase a 1/10 objemu 10x DNase I buffer. Tato směs byla temperována při 37°C po dobu 20 minut. Poté byla přidána 1/10 objemu DNA inactivation reagent. Tato směs byla ponechána 2 min v pokojové teplotě. Následovala centrifugace při 10000 rpm po dobu 1,5 minuty



a výsledný roztok byl přenesen do nové mikrozkušavky bez peletu. Všechny operace proběhly na ledu, pokud nebylo stanoveno jinak.

### Vlastní syntéza cDNA

Do mikrozkušavky byly přidány 3  $\mu\text{l}$  přečištěné RNA a k tomu 1  $\mu\text{l}$  oligo (dT) 15 primer a 1  $\mu\text{l}$  nuklease free vody. Tato směs byla zahřáta na 70°C po dobu 5 minut. Po té byl přidán Master mix složený ze 6,6  $\mu\text{l}$  nuklease free vody, 1  $\mu\text{l}$  d NTP, 4  $\mu\text{l}$  5xRxN Buffer, 2,4  $\mu\text{l}$  chloridu hořečnatého a 1  $\mu\text{l}$  enzymu reverzní transkriptázy. Po přidání byla směs vložena do termocyklu, kde byl nastaven program 5 min 25 °C a 60 min 42°C. Takto připravený vzorek byl uchován při teplotě – 20 °C.

### PCR

Připravená reakční směs (viz tab. č. 2) ve zkumavce se vloží do termocyklu, kde probíhá počáteční denaturace, teplotní cykly a závěrečná polymerační reakce.

Cyklus se skládá ze tří fází: -denaturace

-annealing

- extenze

**Tabulka č. 2:** Reakční směs pro PCR

Složka reakční směsi	Množství
PPP Master Mix (Top Bio)	5 $\mu\text{l}$
Primer Forward	0,5 $\mu\text{l}$
Primer reverse	0,5 $\mu\text{l}$
Nuclease free H <sub>2</sub> O	3 $\mu\text{l}$
cDNA	1 $\mu\text{l}$

**Tabulka č. 3:** Přehled sekvencí jednotlivých primerů s teplotou annealingu.

Virus	Forward primer (5' - 3')	Reverse primer (5' - 3')	Ta (°C)	Zdroj
DWV	TTTGCAAGATGCTGTATGTGG	GTCGTGCAGCTCGATAGGAT	55	Chen et al.(2002)
SBV	GGATGAAAGGAAATTACCAG	CCACTAGGTGATCCCACT	48	Ryba et al.(2012)
ABPV	TGAGAACACCTGTAATGTGG	ACCAGAGGGTTGACTGTGTG	48	Ryba et al.(2012)
BQCV	GGACGAAAGGAAGCCTAAC	ACTAGGAAGAGACTTGCACC	48	Ryba et al.(2012)

**Tabulka č. 4:** Program termocyklu pro detekci viru DWV.

Počáteční denaturace	95°C	60s	
Denaturace DNA	94°C	30s	35x
Nasedání primerů (annealing)	55°C	30s	
Syntéza kompletního řetězce DNA (extenze)	72°C	60s	
Dosyntetizování (finální extenze)	72°C	8min	
Ochlazení	4°C		

**Tabulka č. 5:** Program termocyklu pro detekci virů SBV, ABPV, BQCV.

Počáteční denaturace	94°C	60s	
Denaturace DNA	94°C	30s	35x
Nasedání primerů (annealing)	48°C	30s	
Syntéza kompletního řetězce DNA (extenze)	72°C	60s	
Dosyntetizování (finální extenze)	72°C	8min	
Ochlazení	4°C		

### Vyhodnocení produktu PCR

Pro separaci amplifikovaných produktů byla použita gelová elektroforéza. Ta pracuje na principu rozdílných rychlostí pohybu fragmentů DNA agarózovým gelem v elektrickém poli. Záporně nabitě molekuly nukleových kyselin se pohybují od katody k anodě.

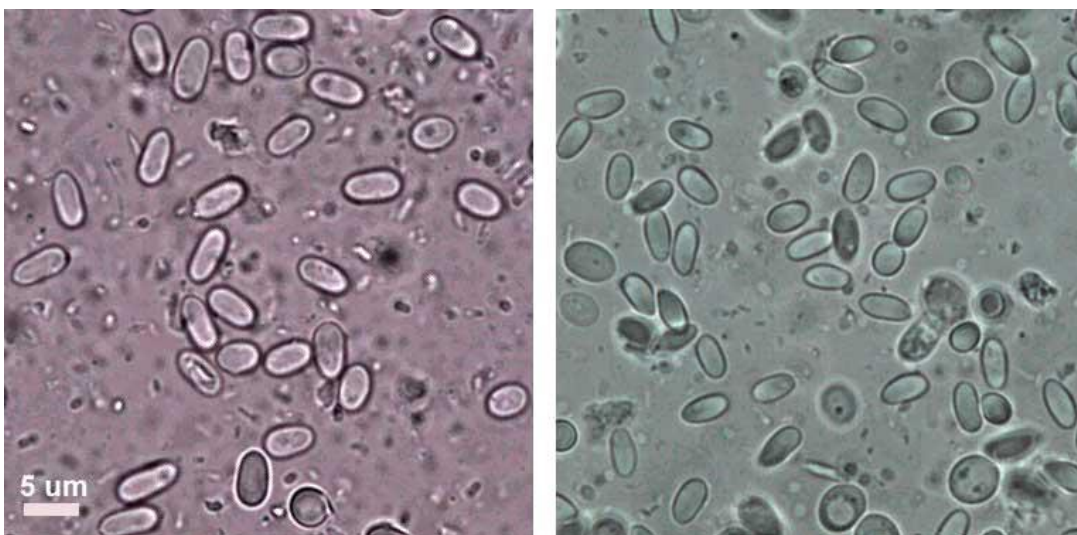
### Příprava gelu

Gel je složen z 1,5% roztoku práškové agarózy v TBE pufru. Použito bylo 200ml TBE pufru s 3 g agarózy. Obě složky byly v Erlenmeyerově baňce za občasného míchání a ohřevu v mikrovlnné troubě důkladně rozvařeny v čirý roztok. Tento roztok byl zchlazen na teplotu 60 °C a bylo přidáno barvivo ethidium-bromid. Takto připravený a promíchaný roztok byl nalit do připravené formy, která byla osazena hřebeny. Po utužení byly vyjmuty hřebeny a gel byl vložen do elektroforetické vany. Následovalo nanesení ladderu do krajních jamek gelu. Do dalších jamek byly nanášeny jednotlivé vzorky. Následovalo připojení elektrod a nastavení napětí na 30V, po pěti minutách přenastavení na 120V po dobu 90 min.

Vyhodnocení proběhlo pomocí UV transiluminátoru.

### **4.5 Diagnostika hmyzomorky včelí**

Diagnostika hmyzomorky včelí byla provedena mikroskopicky. K tomuto rozboru byl použit již připravený vzorek homogenizovaných včel. Malé množství bylo nanášeno na čisté mikroskopické sklíčko, přidána byla kapka vody. Následovalo hledání spór v mikroskopu.



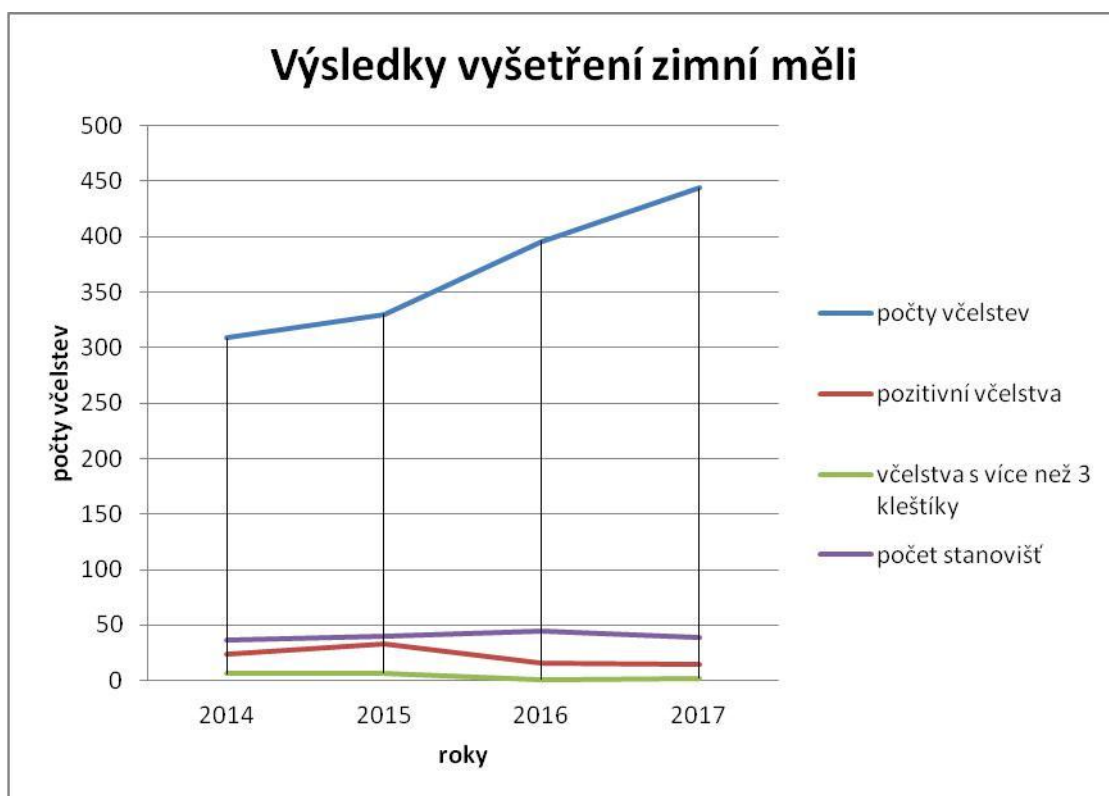
**Obr. č. 17:** Spory *Nosema apis* (vlevo) a *Nosema ceranae* (vpravo).  
Zdroj: (Kamler, 2011)

## 5 Výsledky

Monitoring výskytu kleštíka včelího v okolí umístění sledovaných včelstev

**Tabulka č. 6:** Výsledky z rozborů vyšetření zimní měli v ZO ČSV Petrovice u Sušice v letech 2014- 2017.

Rok	Počet vyšetřených včelstev		Pozitivní nález			
	vzorky	včelstva	vzorky		včelstva	>3 kleštíci na včelstvo
2014	36	309	24		184	6
2015	40	330	33		263	7
2016	45	396	16		147	1
2017	39	444	14		7	2



**Obr. č. 18:** Výsledky vyšetření zimní měli v letech 2014-2017 na území ZO ČSV Petrovice u Sušice.

## Vlastní monitoring

**Tabulka č. 7:** Zázpis monitoringu pro včelstvo 1.

Datum	7.8	14.8	21.8	28.8	4.9	11.9	18.9	25.9	2.10	9.10	16.10	23.10	30.10
Spad	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0

**Tabulka č. 8:** Zázpis monitoringu pro včelstvo 2.

Datum	7.8	14.8	21.8	28.8	4.9	11.9	18.9	25.9	2.10	9.10	16.10	23.10	30.10
Spad	1	2	0	2	4	0	2	1	1	3	1	41	0

**Tabulka č. 9:** Zázpis monitoringu pro včelstvo 3.

Datum	7.8	14.8	21.8	28.8	4.9	11.9	18.9	25.9	2.10	9.10	16.10	23.10	30.10
Spad	2	1	2	3	1	0	2	0	1	1	2	176	2

**Tabulka č.10:** Zázpis monitoringu pro včelstvo 4.

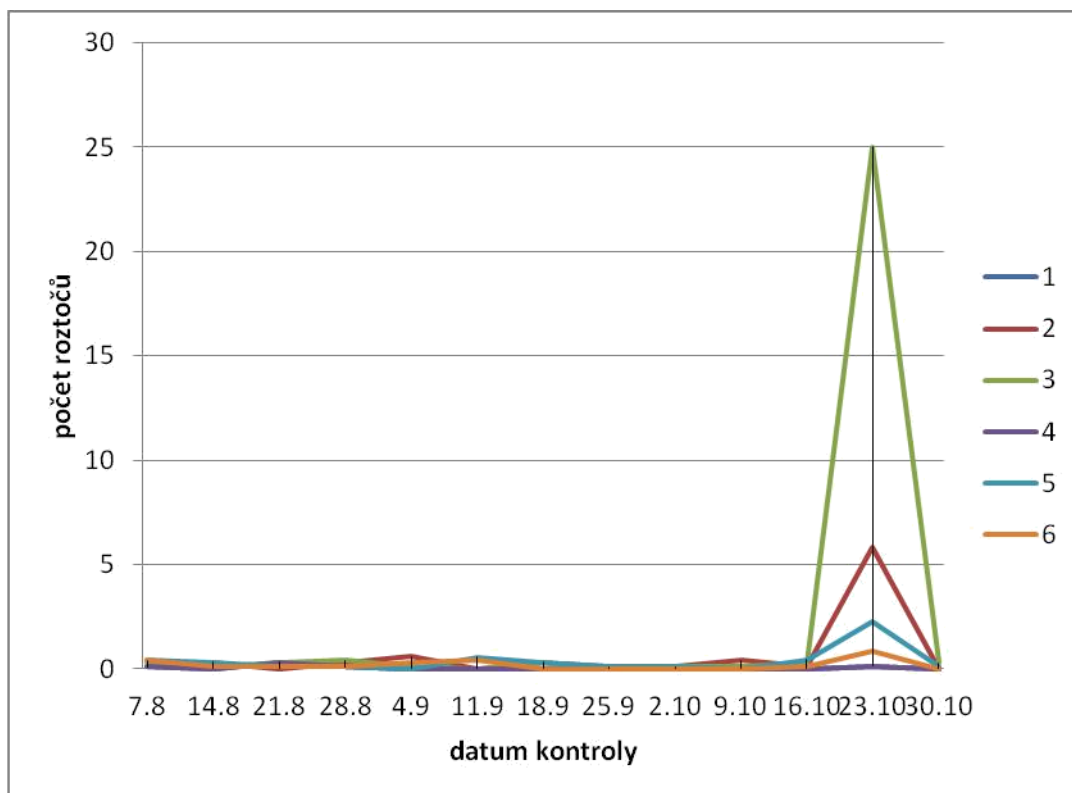
Datum	7.8	14.8	21.8	28.8	4.9	11.9	18.9	25.9	2.10	9.10	16.10	23.10	30.10
Spad	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0

**Tabulka č.11:** Zázpis monitoringu pro včelstvo 5.

Datum	7.8	14.8	21.8	28.8	4.9	11.9	18.9	25.9	2.10	9.10	16.10	23.10	30.10
Spad	3	2	1	1	0	4	2	1	1	0	3	16	1

**Tabulka č.12:** Zázpis monitoringu pro včelstvo 6.

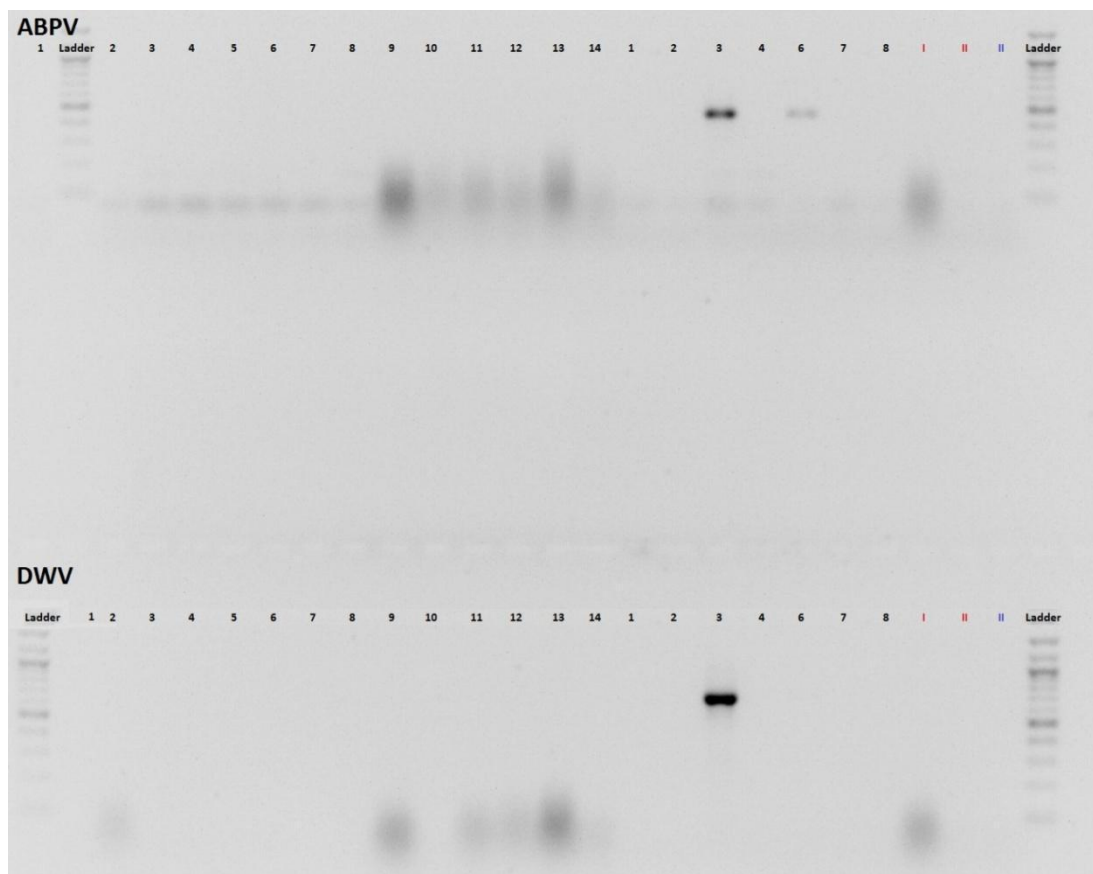
Datum	7.8	14.8	21.8	28.8	4.9	11.9	18.9	25.9	2.10	9.10	16.10	23.10	30.10
Spad	3	1	1	1	2	3	0	0	0	0	1	6	0



**Obr. č. 19:** Sledování průměrných denních spadů jednotlivých včelstev.

**Tabulka č. 13:** Výsledky analýzy přítomnosti virů pomocí PCR.

Včelstvo	DVW	SBV	ABPV	BQCV
1	negativní	negativní	negativní	negativní
2	negativní	negativní	negativní	negativní
3	negativní	negativní	negativní	negativní
4	negativní	negativní	negativní	negativní
5	negativní	negativní	negativní	negativní
6	negativní	negativní	negativní	negativní
7	negativní	negativní	negativní	negativní
8	negativní	negativní	negativní	negativní
9	negativní	negativní	negativní	negativní
10	negativní	negativní	negativní	negativní
11	negativní	negativní	negativní	negativní
12	negativní	negativní	negativní	negativní



**Obr. č. 20:** Elektroforetický snímek amplifikovaných fragmentů. Pozitivní vzorky byly poskytnuty kolegyní Janou Bláhovou. Zdroj: vlastní foto.

**Tabulka č. 20:** Výsledky analýzy *Nosema* spp.

Včelstvo	<i>Nosema</i> spp.
1	negativní
2	negativní
3	negativní
4	negativní
5	negativní
6	negativní
7	negativní
8	negativní
9	negativní
10	negativní
11	negativní
12	negativní

## 6 Diskuze

Varroamonitoring byl proveden pomocí celozasít'ovaných den a podložky. Podle Tyla (2016) je tento způsob velice účinný a jednoduchý. Kamler (2016) připomíná, že aby tento způsob byl objektivní, nesmí mít na podložku přístup mravenci. Ti si kleštíka aktivně odnáší jako potravu. Při odběru zimní měli můžeme nalézt kleštíky, kteří ulpěli na horních loučkách po ošetření např. aerosolem a byli shozeni až pohybujícím se zimním chomáčem nebo jednotlivými včelami při silnějším proletu. Toto je možné, pokud včelař zimuje na více než jednom nástavku (Krabec, 2016).

Při kontrolách kleštíkovitosti v kombinaci s aplikací Formidolu 81 (proužky do úlu) by měl být monitoring objektivní. Jeho účinnou látkou je kyselina mravenčí a ta usmrcuje jak foretické kleštíky tak kleštíky v plodu (Fries, 1991). A přesto jsem v jednom včelstvu po fumigaci Varidolem nasčítal spad 176 kleštíků a v druhém 41, u ostatních byl spad i nadále velmi nízký. To se domnívám, že bylo zapříčiněno nejspíše vyloupením vysoce napadeného včelstva nalézajícího se v okruhu 5 km.

Myslím si, že nízké napadení včelstev je také výsledkem mého chovu, kde praktikuji moderní metody ošetřování včelstev. Informace získávám studiem odborných časopisů a návštěvami včelích farem. Tlak kleštíka je zatím také omezen vysokou dynamikou chovu. Protože navyšování počtu včelstev má za následek rozdělení tlaku kleštíka včelího mezi více včelstev. Během roku nevytáčím medník včel, ale pouze medník včelaře, což má za následek pohodu včelstev, která nejsou stresována nedostatkem zásob. U včelstev provádím celoroční monitoring kleštíka a to pomocí varroaden, kontrolou trubčího plodu podle (SVS, 2017) a diagnostikou pomocí moučkového cukru podle Kamlera (2016). Preventivní opatření doplňuji povinným podzimním přeléčením v souladu se zákonem o veterinární péči a to dvěma fumigacemi Varidolem a jednou aplikací aerosolem v době od 10.10. do 31.12. dle podmínek prostředí. Následně vyhodnotím napadení jednotlivých včelstev a dle zápisů z celého roku si stanovím nejúčinnější metodu pro uplynulý rok.

Přihlížím také ke specifickým podmínkám daného roku. Včelstva nejsou na zimu uteplována, to má za následek dostatečnou přestávku v plodování a není podporován vznik tolerance kleštíka k používaným účinným látkám amitrázu a fluvaliátu v léčivech. To platí, ale pouze do prvních proletů, kdy je důležité úl řádně utepřit, protože podle Kamlera (2011) zde může dojít k propuknutí noseμόzy. Na včelnici



také nechovám slabá včelstva. Ta buďto spojím se silnými včelstvy nebo zruším, jak radí Sedláček (2016). Vosk je vytaven a úly desinfikovány. Nemalou měrou také přispívá k dobrému zdravotnímu stavu genetika matek. Matky si chovám z nejlepších včelstev a z nakoupených matek z ušlechtilých chovů s výbornými vlastnostmi. Do budoucna je nutné se zaměřit na potírání varroózy organickými kyselinami, protože na všechny dosud vyráběné chemické prostředky je podle Rosekranze et al. (2010) sledována tolerance Proto se musíme zaměřit na metody boje pomocí biologicky účinných látek, které nezanechávají rezidua ve včelích produktech jak radí Bogdanov (2006). V letech, kdy lze předpokládat silný tlak, je podle Solčanského (2016) vhodné přistoupit i k radikálním krokům jako je například přemetání na mezistěny. Osobně se mi tato metoda líbí, je však třeba si tuto metodu osvojit, jelikož je to metoda náročná a nedostatky v provedení se objeví až v praxi. Pro včelaře, který chce hospodařit s menším počtem včelstev, je určitě velmi vhodnou metodou boje s kleštíkem termosolární úl (Linhart, 2016). Věřím, že tato metoda má do budoucna velký potenciál. Pokud sledujeme stav včelstev pomocí moderní techniky, lze ho i programově ohřívát a řídit a bojovat tak s kleštíkem.

Detekce virů byla provedena metodou PCR. Tato metoda plně nahradila dříve používané sérologické metody, které fungovaly na principu detekce protilátek (Chen et al., 2004). Metoda PCR vyniká především přesností a citlivostí, která zaznamená i velmi nízké koncentrace DNA (Read, 2000). Přesto nebylo prokázáno virové napadení u žádného ze sledovaných včelstev. Příznaky virové nákazy nebyly pozorovány ani v minulých letech, kdy byl tlak kleštíka velmi silný. Podle Prodělalové (2015) je zastoupení virů ovlivněno několika faktory. Mezi ně patří především počet a hustota včelstev a klimatické podmínky. To vzhledem k poloze stanovišť odpovídá. V daných lokalitách je nízký počet včelstev i jejich hustota rozmístění. Je to zapříčiněno především menší a pozdní snůškou nektaru, malým podílem květového medu a celkově horšími podmínkami komerčního využití včel při výrobě medu. Nepěstuje se zde žádná plodina, která by stála za kočování jiným včelařům.

Nosemóza také nebyla potvrzena u žádných ze sledovaných včelstev. Na stanovišti Rovná se ovšem letos objevila u jednoho z v této práci nesledovaných včelstev. Byl to následek zkoušky zimování včel v tenkostěnném dřevěném úlu, kde dlouhá zima bez možnosti proletu a tepelná nepohoda v úlu vedla k propuknutí

nákazy. Problém nastal v jarním období, kdy je teplota včel 30 – 33°C. Tato teplota je ideální pro rozvoj nosemózy a napomáhá i přítomnost bílkoviny v potravě. Po překročení teploty 35°C se omezí vývoj nemoci. Pokud si včely udrží teplotu 37°C po dobu 10 dnů dojde k úplnému uzdravení (Veselý et al., 2010). Tyto včely byly tedy přeloženy do utepeleného úlu, nakrmeny medocukrovým těstem a s nákazou se vypořádaly. Pokálené části úlu byly umyty vydezinfikovány a vysušeny. Do budoucna budou tenkostěnné nástavky použity pouze jako medníky, jelikož se do těchto klimatických podmínek na zimování nehodí.

## **7 Závěr**

U sledovaných včelstev byla monitoringem prokázána nízká populace kleštíka včelího. Při diagnostice na včelí viry a hmyzomorku včelí nebyla prokázána jejich přítomnost u žádných ze sledovaných včelstev. Nulová přítomnost virů a hmyzomorky včelí je pravděpodobně způsobena nízkým napadením kleštíkem včelím. Pro objektivnější výsledek, by bylo zapotřebí sledovat více včelstev v období několika let. Výsledky analýz prováděných v rámci této práce však naznačují, že mnou prováděná preventivní opatření jsou velmi účinná v boji proti včelím chorobám.

## 8 Použitá literatura

ALBERTI H., HANEL G. (1986). Fine structure of the genital system in the bee parasite, *Varroa jacobsoni* (Gamasida: Dermanyssina) with remarks on spermiogenesis, spermatozoa and capacitation. *Experimental & Applied Acarology*, 2 (1): 63-104.

ANDERSON D. L., TRUEMAN J. W. H. (2000) *Varroa Jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental & Applied Acarology*, 24 (3): 65-189.

AUBERT M., BALL B., FRIES I., MORITZ R., MILANI N., BERNARDINELLI I. (2008). Virology and the honey bee. Brussels, European commission, Directorate-generale for research, 460 s.

BAILEY L., BALL B., PERRY J. (1983) Association of viruses with two protozoal pathogens of the honey bee. *Annals of Applied Biology*, 103 (1): 13-20.

BAILEY L., BALL B., WOODS R. (1976). An Iridovirus from bees. *Journal of General Virology*, 31 (3): 459-461.

BAILEY L., FERNANDO E.F.W. (1972). Effects of Sacbrood virus on adult honeybees. *Annals of Applied Biology*, 72 (1): 27-35.

BAILEY L., GIBBS A.J. (1964). Acute infection of bees with paralysis virus, *Journal of Insect Pathology*, 6 (4): 395-407.

BAILEY L., WOODS R. (1977.) Two more small RNA viruses from honey bees and further observations on Sacbrood and Acute bee paralysis viruses. *Journal of General Virology*, 37 (1): 61-108.

BALL B. V., ALLEN M. F. (1988). The prevalence of pathogens in honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Annals of Applied Biology*, 113: 237-244.

BALL B., BAILEY L. (1997). Viruses. In: MORSE R.A., FLOTTUM K.(Eds.) Honey bee pests, predators & diseases. Medina, A.I. Root Company, s. 11-32.

BEDNÁŘ M., FRAŇKOVÁ V., SCHINDLER J., SOUČEK A., VÁVRA J. (1996). Lékařská mikrobiologie. Praha, Marvil, 558 s.

BENTZIEN, C. (2008). Ekologický chov včel. Líbeznice, Víkend, 120 s.

BERENYI O., BAKONYI T., DERAKHSHIFAR I., KOGLBERGER H., TOPOLSKA G., RITTER W., PECHHACKER H., NOWOTNY N. (2007). Phylogenetic Analysis of Deformed Wing Virus Genotypes from Diverse Geographic Origins Indicates Recent Global Distribution of the Virus. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (11): 3605-3611.

BIČÍK V., VAGERA J., SÁDOVSKÁ H. (2016): The effectiveness of thermotherapy in the elimination of *Varroa destructor*. *Acta Musei Silesiae, Scientiae Naturales*, 65: 263-269.

BIENKOWSKA M., (2006). Přípravky používané při likvidaci roztoče *Varroa destructor* v letech 1996-2005. *Pasieka*, (6): 36-39.

BOECKING O; GENERSCH E. (2008). Varroosis—the ongoing crisis in bee keeping. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 3 (2): 221-228.

BOGDANOV S. (2006). Contaminants of bee products1. *Apidologie*, 37 (1): 1-18.

BOHÁČEK F. (1990). ABC odchovu včelích matek. Praha, Státní zemědělské nakladatelství, 55s.

BOOT W. J., CALIS, J.N.M., BEETSMA J. (1992). Differential periods of *Varroa* mite invasion into worker and drone cells of honey bees. *Experimental & Applied Acarology*, 16 (4): 295-301.

BOWEN-WALKER P. L., MARTIN S. J., GUNN A. (1999). The Transmission of Deformed Wing Virus between Honeybees (*Apis mellifera* L.) by the Ectoparasitic Mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Journal of Invertebrate Pathology*, 73 (1): 101-106.

CANN A. (2005). Principles of molecular virology. 4th ed. Boston, Elsevier Academic Press, 352 s.

CARTER J. B., SAUNDERS A. V. (2007). Virology: principles and applications. Hoboken, John Wiley & Sons Ltd, 364 s.

COX-FOSTER D. L., CONLAN S., HOLMES E. C., PALACIOS G., EVANS J. D., MORAN N. A., QUAN P. L., BRIESE T., HORNIG M. (2007). A Metagenomic Survey of Microbes in Honey Bee Colony Collapse Disorder. *Science*, 318 (5848): 283-287.

DANIHLÍK J. (2016). Konference Beecome. *Moderní včelař*, 2: 7.

DE MIRANDA J. R., GAUTHIER L., RIBIERE M., CHEN Y. P. (2012): Honey bee viruses and their effect on bee and colony health. In SAMMATARO D., YODER J. (Eds.) Honey bee colony health: challenges and sustainable solutions. Boca Raton , CRC Press, s. 71-102.

DELFINADO-BAKER M. D. (1984). The nymphal stages and male of *Varroa jacobsoni* a parasite of the honey bee. *International Journal of Acarology*, 10(2): 75-80.

DI PRISCO G., PENNACCHIO F., CAPRIO E., BONCRISTIANI H.F. JR., EVANS J.D., CHEN Y. (2011). *Varroa destructor* is an ineffective vector of Israeli acute paralysis virus in the honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of General Virology*, 92 (1): 151–155.

DIEMER I. (1997). Včelaření jako hobby. Praha, Granit, 96 s.

DONZÉ G., GUERIN P.M. (1994). Behavioral attributes and parental care of *Varroa mites* parasitizing honeybee brood. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 34 (5): 305-319.

DONZÉ G., HERMANN M., BACHOFEN, B., GUÉRIN, P. M. (1996). Effect of mating frequency and brood cell infestation rate on the reproductive success of the honeybee parasite *Varroa jacobsoni*. *Ecological Entomology*, 21 (1): 17-26.

EYER M., CHEN Y., SCHÄFER M., PETTIS J., NEUMANN P. (2009). Small hive beetle, *Aethina tumida*, as a potential biological vector of honeybee viruses. *Apidologie*, 40 (4): 419-428.

FRIES I. (1991). Treatment of sealed honey bee brood with formic acid for control of *Varroa jacobsoni*. *American bee journal*, 131(5): 313-314.

- GENERSCH E., AUBERT M. (2010). Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Veterinary research*, 41(6): 54.
- GENERSCH E., YUE C., FRIES I., DE MIRANDA, J. R., (2005). Detection of *Deformed wing virus*, a honey bee viral pathogen, in bumble bees (*Bombus terrestris* and *Bombus pascorum*) with wing deformities. *Journal of Invertebrate Pathology*, 91: 61-63.
- GISDER S., AUMEIER P., GENERSCH E. (2009). Deformed wing virus. *Journal of General Virology*, 90 (2): 463-467.
- GRABENSTEINER E., RITTER W., CARTER M., DAVISON S., PECHHACKER H., KOLODZIEJEK J., BOECKING O., DERAKHSHIFAR I., MOOSBECKHOFFER R., LICEK E., NOWOTNY N. (2001). Sacbrood virus of the honeybee (*Apis mellifera*). *Clinical and Vaccine Immunology*, 8 (1): 93-104.
- HIGES M., MARTÍN-HERNÁNDEZ R., MARTÍNEZ-SALVADOR A., GARRIDO-BAILÓN E., GONZÁLEZ-PORTO A. V., MEANA A., BERNAL J. L., DEL NOZAL M. J., BERNAL J. (2010). A preliminary study of the epidemiological factors related to honey bee colony loss in Spain. *Environmental Microbiology Reports*, 2 (2): 243-250.
- HOLUB P. (2010). Varroatolerance včelstev, její vyhodnocování a možnosti šlechtění. *Moderní včelař*, 7 (2): 10.
- HRABÁK J. (2007). *Nosema apis*, původce nose mózy, je nyní houbou. *Včelařství*, 60 (4): 100.
- HUNG A. (2000). PCR detection of Kashmir bee virus in honey bee excreta. *Journal of Apicultural Research*, 39 (3): 103-106.
- CHEN Y. P., PETTIS J. S., CORONA M., CHEN W. P., LI C. J., SPIVAK M., VISSCHER P. K., DEGRANDI-HOFFMAN G., BONCRISTIANI H. (2014). Israeli Acute Paralysis Virus: Epidemiology, Pathogenesis and Implications for Honey Bee Health. *PLoS Pathogenes*, 10 (7): e1004261.
- CHEN Y. P., SIEDE R. (2007). Honey bee viruses. *Advances in Virus Research*, 70: 33-80.

CHEN Y., EVANS J., FELDLAUFER M. (2006b). Horizontal and vertical transmission of viruses in the honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92 (3): 152-159.

CHEN Y., PETTIS J., COLLINS A., FELDLAUFER M. (2006a). Prevalence and transmission of honeybee viruses. *Applied and Environmental Microbiology*, 72 (1): 606-611.

CHEN Y., PETTIS J.S., EVANS J.D., KRAMER M., FELDLAUFER M.F. (2004a). Transmission of Kashmir bee virus by the ectoparasite mite *Varroa destructor*. *Apidologie*, 35 (4): 441-448.

IFANTIDIS M. D. (1988). Some aspects of the proces sof *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells. *Apidologie*, 19 (4): 387-396.

KAMLER F. (2015). Dvouleté zkušenosti s letním monitoringem na okrese Mělník. *Včelařství*, 68 (150): 16- 17.

KAMLER F. (2015). Jak na jaře v boji s varroázou. *Včelařství*, 68 (150): 417.

KAMLER F. (2016). V boji s varroázou je nejdůležitějším obdobím léto a podletí. *Včelařství*, 69 (151): 228-229.

KAMLER F., TITĚRA D., KAMLER M. (2011). Závěrečná zpráva za rok 2011. Rozšíření, patogeneze a návrh opatření v chovech včel ohrožených mikrosporidií *Nosema ceranae*. Dol, Výzkumný ústav včelařský, s.r.o, 25 s.

KAMLER F., VESELÝ V., TITĚRA D. (2008). Celý rok proti varroáze. Dol, Výzkumný ústav včelařský Dol, 28 s.

KING A., ADAMS M.J., CARSTENS E.B., LEFKOWITZ E. J.(2012). Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: ninth report of the International committee on Taxonomy of Viruses. Waltham, MA: Academic Press, 1327 s.

KRABEC J. (2015). O registrovaných přípravcích k léčení Varroázy. Dostupné na: [http://www.vcelarstvi.cz/files/pdf\\_2015/pripravky-varroaza.pdf](http://www.vcelarstvi.cz/files/pdf_2015/pripravky-varroaza.pdf)



- KRAUS B., BERG S. (1994). Effect of a lactic acid treatment during winter in temperate climate upon *Varroa jacobsoni* Oud. and the bee (*Apis mellifera* L.) colony. *Experimental & Applied Acarology*, 18 (8): 459-468.
- KRUŽÍK V. (2015). Boj s varroázou pomocí izolátorů matek. *Včelařství*, 68(150): 262.
- KUENEN L. P. S., CALDERONE N. W., (1997). Transfers of *Varroa* Mites from Newly Emerged Bees: Preferences for Age- and Function-Specific Adult Bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Behavior*, 10 (2): 213-228.
- LAMPEITL F.(1996). Chováme včely: úvod do včelaření. Ostrava, Blesk, 173 s.
- LE CONTE Y., ARNOLD G., DESENFANT P. (1990). Influence of brood temperature and hygrometry variations on the development of the honey bee ectoparasite *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *Environmental Entomology*, 19(6): 1780-1785.
- LE CONTE Y., ARNOLD G., TROUILLER J., MASSON C., CHAPPE B., OURISSON G. (1989). Attraction of the parasitic mite *Varroa* to the drone larvae of honeybees by simple aliphatic esters. *Science*, 245 (4918): 638-639.
- LUCKÝ Z. (1984). Nemoci včel. Praha, Státní pedagogické nakladatelství, 187 s.
- LUCKÝ Z. (1984). Nemoci včel: určeno pro posluchače Vysoké školy veterinární v Brně. Praha, Státní pedagogické nakladatelství, 187 s.
- MACEK J., STRAKA J., BOGUSCH P., DVOŘÁK L., BEZDĚČKA P., TYRNER P. (2010). Blanokřídílí České republiky I. - žahadloví. Praha, Academia, 524 s.
- MAORI E., LAVI S., MOZES-KOCH R., GANTMAN Y., PERETZ Y., EDELBAUM O., TANNE E. SELA I. (2007). Isolation and characterization of Israeli acute paralysis virus, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel. *Journal of General Virology*, 88 (12): 3428-3438.
- MORSE R.A., FLOTTUM K. (1997). In: Honey Bee Pests, Predators, and Diseases. Ohio, A.I. Root Co, Medina, 718 s.
- OLDROYD BP. (2007). What's killing American honey bees? *PLoS Biology*, 5 (6), e168.

- PAGE P., LIN Z., BUAWANQPONQ N., ZHENQ H., HU F., NEUMANN P., CHANTAWANNAKUL P., DIETEMANN V. (2016). Social apoptosis in honey bee superorganisms. *Scientific Reports*, 6, 27210.
- PEROUTKA M. (1981). Varroáza včel. Praha, Státní veterinární správa v Dole. 10 s.
- PETR J. (2016). Virus deformovaných křídel. *Moderní včelař*, 2: 32-33.
- POHL F. (2008). Varroáza: jak ji poznat a úspěšně potírat. Líbeznice, Víkend, 80 s.
- PRODĚLALOVÁ J., KAMLER M., TITĚRA D. (2015). Viry- skryté ohrožení včel. *Včelařství*, 68 (150): 261.
- PŘIDAL A., Varroáza – výklad správného psaní. Dostupné z : <http://mendelu.apridal.cz/varrooza.pdf>
- RADEMACHER E., HARZ M. (2006). Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies-a review. *Apidologie*, 37 (1): 98-120.
- READ S. (2000). Molecular techniques for clinical diagnostic virology. *Journal of Clinical Pathology*, 53 (7): 502-506.
- REJNÍČ J. (1990): Včelářstvo. Bratislava, Vydavatelstvo Príroda, 216 s.
- REJNÍČ J., HARAGSIM O., REKOŠ J. (1987). Včelařství. Praha, Institut výchovy a vzdělání MZVĚ ČSR, 364 s.
- RHEM S.M., RITTER W. (1989). Sequence of the sexes in the offspring of varroa jacobsoni and resulting consequences for the calculation of the developmental period. *Apidologie*, 20: 339-343.
- RIBIÈRE M., OLIVIER V., BLANCHARD P. (2010). Chronic bee paralysis: A disease and a virus like no other? *Journal of Invertebrate Pathology*, 103 (1): 120 - 131.
- ROSENKRANZ P., AUMEIER P., ZIEGELMANN B.(2010). Biology and control of Varroa destructor. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103 (1): 96-119.

RUNCKEL C., FLENNIKEN M.L., ENGEL J.C., RUBY J.G., GANEM D., ANDINO R., DERISI J.L. (2011). Temporal analysis of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, Nosema, and Crithidia. *PLoS ONE*, 6 (6): e 20656.

RŮŽEK D. (2010). Lékařská virologie – učební text 1. část. České Budějovice, 47s.

RYABOV F. V., WOOD G. R., FANNON J. M., MOORE J. D., BULL J. C., CHANDLER D., MEAD A., BURROUGHS N., EVANS D. J. (2014). A Virulent Strain of Deformed Wing Virus (DWV) of Honeybees (*Apis mellifera*) Prevails after *Varroa destructor*-Mediated, or In Vitro, Transmission. *Plos patogen*, 10 (6): 1- 21.

SCISKALA V. (2015). Na varroázu podle našich sousedů. *Včelařství*, 68 (150): 227.

SELDÁČEK M. (2016). Dnes však už půjdeme včelařit. *Včelařství*, 69 (151): 76-78.

SEMERÁD J. (2017). Doporučení státní veterinární zprávy a mimořádná veterinární opatření. Dostupné na: <https://www.svscr.cz/zdravi-zvirat/varroaza-vcel/>.

SHEN M. L. W., CUI N., OSTIGUY D., COX-FOSTER D. (2005a). Intricate transmission routes and interactions between picorna-like viruses (Kashmir bee virus and Sacbrood virus) with the honeybee host and the parasitic varroa mite. *Journal of General Virology*, 86 (8): 2281-2289.

SHEN M., YANG X., COX-FOSTER D., CUI L. (2005). The role of varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees. *Virology*, 342 (1): 141–149.

SOLČANSKÝ M. (2016). Přemetání na mezistěny, *Moderní včelař*, 2: 36- 37.

SPŮRGIN A. (2013). Zázračné včely. Praha, Víkend, 120 s.

SVS (2017). Preventivní opatření k tlumení a k zamezení šíření varroázy včel. Převzato: <https://www.svscr.cz/zdravi-zvirat/varroaza-vcel/>

TAUTZ J. (2016). Fenomenální včely: biologie včelstva jako superorganismu. Praha, Brázda, 270 s.

TENTCHEVA D., GAUTHIER L., ZAPPULLA N., DAINAT B., COUSSERANS F., COLIN M. E. (2004). Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (12): 7185-7191.

THAKUR R.K., BIENEFELD K., KELLER R. (1997). *Varroa* defense behavior in *A. mellifera carnica*. *American Bee Journal*, 137 (2): 143-148.

TITĚRA D. (2009). Nepodceňujme nebezpečí varroázy, začínáme již v létě a podletí, *Včelařství*, 62 (143): 198 – 199.

TITĚRA D., VOŘECHOVSKÁ M. (2015). Měl jako zrcadlo zdravotního stavu včel. *Včelařství*, 68 (150): 38- 39.

TYL J. (2016). Aktuality z dění v úlu se dočteme na podložce. *Včelařství*, 69 (151): 372- 373.

VESELÝ V. (2010): *Včelařství*. Praha, Nakladatelství Brázda, 270 s.

WEIB K. (2010). Víkendový včelař: škola včelaření s nástavkovými úly. Líbeznice, Víkend, 248 s.

WIEGERS F. P. (1986). Transmission of honeybee viruses by *Varroa jacobsoni* Oud. In: Cavaloro R. (Ed.), European research of varroa control. Commission of the European Communities. Rotterdam, CRC Press, 99-104.

YANG X., COX-FOSTER D. (2005). Impact of the ectoparasite on the immunity and pathology of the invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (21): 7470-7475.

ŽÁK Z. (2001). Grooming – naděje pro včely i včelaře. *Včelařství*, 54 (5): 104.