

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH
BUDĚJOVICÍCH**

Přírodovědecká fakulta

Katedra genetiky

**Syndrom CCD jako důsledek zkracování
telomer a předčasného stárnutí organismu
u *Apis mellifera*.**

Bakalářská práce

Denisa Pánková

Vedoucí práce: RNDr. Radmila Čapková Frydrychová, Ph.D.

České Budějovice 2016

Pánková D., 2016: Syndrom CCD jako důsledek zkracování telomer a předčasného stárnutí organismu u *Apis mellifera*. [Syndrome CCD as a result of shortening telomeres and premature aging organism in *Apis mellifera*. Bc. Thesis, in Czech]- 34p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation

Colony collapse disorder (CCD) presents one of the biggest problem in the honey bee world in the last few years. This syndrome is about sudden enormous loss of honey bee colonies over the winter worldwide. There is no certain cause but there are many possible causes of this phenomen. In this thesis there are introduced some of the most likely causes which have been studied as a possible reason of this syndrome by many other scientists. Then here is presented another possible factor which could be the real cause - shortening of telomeres. It is assumed that a different life span of winter and summer honey bees affects length of telomeres.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala 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 bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou Univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 22.4.2016

.....

Denisa Pánková

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat své školitelce RNDr. Radmile Čapkové Frydrychové, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a cenné rady během vypracování této bakalářské práce. Dále mé poděkování patří všem členům laboratoře, obzvláště Mgr. Michale Korandové za její ochotu a pomoc při vypracování.

Chtěla bych také poděkovat celé své rodině a příteli za podporu během celé doby studia.

Obsah

1. Úvod.....	5
2. Cíl práce	7
3.	8
3.1. Biologie včely medonosné	8
3.1.1. Druhy včel	8
3.2. Včela jako superorganismus	8
3.3. Zdravotní problémy včely medonosné	10
3.3.1. Škůdci včel.....	10
3.3.2. Virózy včel.....	12
3.4. Úmrtnost včel	13
3.4.1. Evropa	13
3.4.2. USA.....	15
3.4.3. Austrálie.....	16
3.5. Co je syndrom CCD	16
3.5.1. Výskyt.....	16
3.5.2. Příčiny	17
3.6. Telomery	19
3.6.1. Telomerická sekvence a replikace DNA	20
3.6.2. Telomeráza	22
3.6.3. Vliv oxidativního stresu na zkracování telomer.....	22
4. Závěr	24
5. Použitá literatura	26

1. Úvod

Včela medonosná (*Apis mellifera*) patří mezi blanokřídlý společenský hmyz. Je významná nejen pro sběr a následné zpracování biologických a pro člověka prospěšných látek jako je včelí med, mateří kašička, vosk, pyl, propolis apod., ale především hraje obrovskou roli v zemědělství jako opylovač.

Už Albert Einstein řekl, že pokud včely zmizí z povrchu zemského, lidstvo nepřežije déle než čtyři roky života (Hamzelou, 2007). Tuto myšlenku nám nepřímou potvrzuje skutečnost, že včely se podílejí na opylování 84% všech evropských plodin. Podobně je tomu i ve světě, kde se podle FAO (Organizace pro výživu a zemědělství) odhaduje, že 90% ze 100 různých druhů plodin představuje celosvětově rozšířenou potravu, a 71 z nich je opylovávána právě včelami (Williams, 1994; Kluser *et al.*, 2010). Život bez včel by pro lidstvo znamenal nejen podstatně menší výběr z různých druhů potravin, ale i výrazně vyšší riziko zdravotních onemocnění.

Na základě dlouhodobého zkoumání byly zjištěny obrovské úhyny včelstev nejen v Evropě, kde se od roku 1985 snížil jejich počet o více než 25%, ale i v Severní Americe, v níž byly od roku 1947 zaznamenány rozsáhlé ztráty dosahující až 59% (Potts *et al.*, 2010). Nicméně je i několik zemí, jako např. Čína nebo Argentina, které od roku 1961 pozorují velké nárůsty včelích kolonií, jejichž počet se zvýšil přibližně o 45% (Goulson *et al.*, 2015).

Neobvykle velké ztráty včel v Evropě a Americe se staly předmětem mnoha studií. Mezi nejčastější možné a diskutované příčiny těchto úbytků patří špatná imunita a zdravotní stav včel, který může být způsoben řadou environmentálních vlivů, různými infekčními onemocněními (viróza, nosematóza, varroáza atd.), genetickými defekty či faktory vyvolanými aktivitou člověka, jako je např. aplikace pesticidů, používání mobilních telefonů nebo manipulace se včelstvem (Daníhlík a Petřivalský, 2015).

Dalším z diskutovaných a zároveň z mnoha ohledů záhadných důvodů ztráty včelích kolonií je tzv. syndrom zhroucení včelstev, v anglické literatuře známý jako Colony Collapse Disorder (CCD). Charakteristickým znakem napadených včelstev jsou náhlé velké úbytky dospělých včel v úle, které po sobě nezanechávají žádné stopy ani mrtvá těla (Ellis *et al.*, 2010). Ačkoliv tento fenomén zasáhl téměř celý svět a způsobil obrovské ztráty mnoha včelařům, vědcům se doposud nepodařilo objasnit jeho příčinu. Jednou z několika možných

teorií je, že tento syndrom může být spojen s nefyziologickým zkrácením telomer vlivem působení negativních environmentálních faktorů (Stindl a Stindl, 2010).

2. Cíl práce

Cílem mé rešeršní bakalářské práce je seznámit se blíže s problematikou syndromu Colony Collapse Disorder (CCD), a to především v souvislosti se zkracováním telomer včel jako jednou z možných příčin.

Nejprve se zaměřit na obecné informace o včele medonosné, na její význam v přírodě i užitečnost pro člověka. Následně zmínit nejčastější zdravotní problémy včel, které negativně ovlivňují jejich kondici a zdravotní stav a mohou způsobovat velké ztráty včelích kolonií. Tyto ztráty shrnout v další kapitole a tím upozornit na alarmující stav snižujícího se počtu včelích populací v některých částech světa, které mohou být zapříčiněny mimo jiné i syndromem CCD, jenž doposud nebyl zcela objasněn.

Vzhledem k velkému rozšíření syndromu CCD, poukázat na výskyt syndromu u nás i ve světě a představit možné příčiny jeho vzniku, přičemž hlavním cílem je zaměřit se na již zmíněné zkracování telomer. Předpokládá se, že délka telomer souvisí s výskytem zimních a letních včel v úlu.

3.

3.1. Biologie včely medonosné

Včela medonosná patří do třídy hmyzu (*Insecta*) a je zástupce řádu blanokřídlých (*Hymenoptera*). Včelovití (*Apidae*) zahrnují kromě včel, čmeláků a bezžihadlových včel ze skupiny Meliponini i řadu dalších skupin (Tautz, 2009).

3.1.1. Druhy včel

Ve světě existuje 16 000- 20 000 druhů včel, z toho společenských druhů je velmi málo (Readicker, 2009). V Asii se vyskytuje osm druhů společenských včel, v Evropě a v Africe pouze jeden jediný. Jde o druh *Apis mellifera* pocházející původně z oblasti Středoziemního moře, odkud se rozšířil do celé Evropy, Afriky i Asie. V době kolonizace se dostal i do Austrálie a Jižní a Severní Ameriky. V souvislosti s šířením *Apis mellifera* do různých klimatických podmínek došlo k rozdělení tohoto druhu na tzv. zeměpisná plemena, která se mezi sebou kříží a tvoří další nové taxonomické podjednotky. V Evropě dnes máme čtyři základní plemena – včelu kraňskou (*A.mellifera carnica*), vlašskou (*A.mellifera linguistica*), kavkazskou (*A.mellifera caucasica*) a černou (*A.mellifera mellifera*) (Tautz, 2009; Veselý, 1985).

3.2. Včela jako superorganismus

Včelstvo funguje jako superorganismus, který je tvořen královnou, dělnicemi a trubci. Každý z nich má svou funkci, díky čemuž dokáží existovat jako celek. Královna neboli matka představuje jediný zdroj zárodečných buněk a stará se o kladení vajíček. Neoplozená matka se během prvního týdne života vydává na snubní let, kde se páří s mnoha trubci, které vábí na mateří látku vycházející z její kusadlové žlázy. Působením stejné látky ve včelstvu potlačuje vývin vaječnicků u dělnic. Matka absolvuje snubní let opakovaně, dokud nemá semenný váček plný spermií. Ačkoliv se dožívá 3-5 let, spermie vydrží v semenném váčku bez porušení po celý jejich život. Jeden trubec dokáže vyprodukovat až 11 miliónů spermií, nicméně bezprostředně po páření mu praskne zadeček a umírá. Jeho kopulační orgán zůstává uvnitř královny a funguje jako zátka do chvíle než se objeví další trubec, který zátku odstraní a následně tam zanechá svou.

Jestliže se ve včelstvu zrodí nová mladá královna, stará opouští úl v tzv. prvoroji a společně s ní odchází přibližně 70% dělnic. Mladé matce zůstane asi jedna třetina dělnic, plástve plné medu a vyvíjející se larvy. Ačkoliv jsou všechny larvy stejné, larvy matek jsou umístěny v matečnicích a krmeny mateří kašičkou. Přeměna z larvy na dospělce trvá nejdéle trubcům (10 dní), středně dlouho dělnicím (9 dní) a nejméně matkám (6 dní) (Tautz, 2009).

Trubci se ve včelstvu vyskytují pouze v období snůšky, to znamená od jara do podzimu. V normálně silném včelstvu je 500-3000 trubců, ale jenom několik desítek z nich prožije akt páření. Dožívají se 2-4 týdnů, přičemž říjné období u trubců nastává mezi 12-15. dnem života. V této době jsou trubci pod maximální péčí dělnic, naopak na podzim, když končí období snůšky, jsou dělnicemi vyhnáni z hnízda ven (Přidal, 2004).

Dělnice se nacházejí ve včelstvu po celý rok. Dělíme je však na včely letní, které se dožívají přibližně pět týdnů, a včely zimní neboli dlouhověké, které se začínají rodit již v druhé polovině léta a žijí zhruba pětkrát déle než včely letní (Daníhlík *et al.*, 2014). V létě se ve včelstvu nachází 50-60 000 dělnic a v zimě jejich počet klesá na 10-20 000 jedinců (Přidal, 2004). Dělnice ve svém životě zastávají mnoho různých rolí (viz Tab. I), jež získávají v průběhu života. Veškeré jejich činnosti jsou závislé na vývinu žláz, např. žláza hltanová produkuje krmnou kašičku vhodnou ke krmení nejmenšího plodu a její funkce je největší 6-12. den života. Po hltanové žláze začíná významně fungovat žláza vosková a následně kolem 20. dne života žláza jedová. Kromě rozvoje žláz působí na činnost včel hladina juvenilního hormonu, kterou produkuje nervový systém. Většinou je hladina tohoto hormonu největší u mladých organismů a v dospělosti klesá, nicméně u včel s věkem roste (Přidal, 2004; Tautz, 2009).

Ve včelstvu se dělnice rozlišují na úlové včely neboli mladušky, kterých je v úle 2/3, a létavky. Mladušky pracují uvnitř úlu a následně pokračují venku jako létavky. Nejmladší včely získávají 2-3 hodiny po vylíhnutí funkci čističky starající se o přípravu buněk pro klazení vajíček. Mezi 3-5. dnem života v roli krmičky zásobují starší larvy potravou. Poté se z nich 6. den stávají kojičky pečující o larvy matek a krmící je mateří kašičkou. V této době začínají podnikat orientační lety a učí se poznávat okolí. V dalším stupni vývoje fungují jako stavitelky, jež produkují vosk a stavějí včelí dílo. V roli strážkyně střeží vchod do úlu a přebírají od létavek potravu (Winston, 1987). V druhé polovině života, tj. asi 21. den života, se z nich stávají létavky, které mají rozdělené funkce. Některé létavky sbírají

pyl, jiné nektar. Po dobu následujících 10-20 dnů absolvují denně 3-10 výtů. Jedno průměrné včelstvo nasbírá 20-30 kg pylu za rok (Tautz, 2009).

Tab.I: Činnosti a funkce dělnic v průběhu jejich života.

Den	Funkce	Činnost
po 2-3 hod.	čistička	čištění a příprava buněk pro kladení vajíček
3-5. den	krmička	krmení starších larev potravou (med,pyl)
6-11. den	kojička	krmení larev matek i dospělé matky mateří kašičkou
12-17. den	stavitelka	produkce vosku, stavění včelího díla
18-20. den	strážkyně	střežení česna, ochrana před nepřáteli
21. den	létavka	sběr potravy a zásobení včelstva

Zimní včely se rodí v druhé polovině léta , kdy je ve včelstvu málo práce a zásoby na zimu jsou již zpracovány. Chladné období přečkávají v chomáči a jedinou jejich starostí je udržování tepla. Funkce získávají dělnice až na jaře (**specifikujte měsíc**), když se jim začnou rozvíjet hltanové žlázy a ve včelstvu se rodí nové včely (Daníhlík *et al.*, 2014); Přidal, 2004).

3.3. Zdravotní problémy včely medonosné

Klíčovou roli v životě včel hrají roztoči, viry a houbová onemocnění, neboť patří do skupiny, která negativně ovlivňuje kvalitu jejich života a často způsobuje smrtelná onemocnění, jež vedou k záhubě včelích kolonií.

3.3.1. Škůdci včel

3.3.1.1. Kleštík včelí (*Varroa destructor*)

Nejnámějším ektoparazitem napadajícím *Apis mellifera* a *Apis cerana* je **kleštík včelí** neboli *Varroa destructor*. Nebezpečný je především proto, že se šíří neobvyklou

rychlostí a napadá obrovské množství včelstev. Ačkoliv pochází z jihovýchodní Asie, v současné době je rozšířen téměř po celém světě (Rosenkranz *et al.*, 2010). Až do roku 2000 byl zaměňován za svého příbuzného *Varroa jacobsoni*, který parazituje pouze u *Apis cerana* (Auderson *et al.*, 2000). Oplozená samička *Varroa destructor* nejprve parazituje na dospělé dělnici, ze které se přesune na včelí plod, a to ještě před jeho zavíčkováním. Po zavíčkování se přisaje na včelí larvu a živí se její hemolymfou. Napadené včely jsou malátné a následně umírají (Rosenkranz *et al.*, 2010).

Největší ztráty včelích kolonií těmito roztoči tvořily v USA 30% (vanEngelsdorp *et al.*, 2010), v Evropě 1,8-53% (Crailsheim *et al.*, 2009), na středním východě 10-85% (Haddad *et al.*, 2009; Soroker *et al.*, 2009) a v Japonsku 25% (Gutierrez, 2009). Včelaři z Ameriky, Evropy a Asie eliminují šíření tohoto roztoče tím, že provádějí pravidelné kontroly, které jsou v těchto lokalitách nutností (Rosenkranz *et al.*, 2010). V Evropě se tento druh objevil teprve v 70. letech 20. století a na základě opakovaných kontrol se podařilo jeho šíření po nějaký čas regulovat. K jeho redukci se používali různé látky, jako např. bromopropyláty, fluvalináty, amitraz či coumaphoz, nicméně později se ukázalo, že tento roztoč si vytvořil rezistenci vůči některým z těchto akaracidů (Milani, 1995). V současné době se v České Republice nejčastěji používá formidol nebo varidol (Veselý, 2005). Bylo zjištěno, že *Varroa destructor* dokáže žít společně s mnoha různými viry, ba dokonce funguje jako jejich přenašeč. Roztoči rodu *Varroa* šíří viry nejen mezi zdravé včely, ale i vzájemně mezi sebou (Chen *et al.*, 2004).

3.3.1.2. Roztočik včelí (*Acarapis woodi*)

Roztočik včelí je endoparazit včel, který napadá průdušnice dospělé včely medonosné. Saje jejich hemolymfu a způsobuje onemocnění akarínózu. Při jeho přemnožení dochází k dušení a oslabení jedince nebo úhynu (Watanabe, 2008; Denmark, 2000).

3.3.1.3. Hmyzomorka včelí (*Nosema apis* a *Nosema ceranae*)

Tyto parazitické houby způsobují tzv. nose mózu - jedno z nejznámějších houbových onemocnění způsobující problémy zažívacího traktu. To je zapříčiněno množением parazitických hub v žaludku včely medonosné, jež vyvolává střevní potíže. Ve výkalech se nacházejí zbytky nestráveného jídla, což přitahuje ostatní včely a tím se šíří dál (Fries, 2010). *Nosema ceranae* pochází původně z Číny od asijské včely *Apis cerana* (Fries *et al.*,

1996) a nákaza touto houbou se vyznačuje rychlejším průběhem a odolnějšími spory (Fries, 2010).

3.3.1.4. Zavíječ voskový (*Galleria mellonella*)

Tento nepatogenní parazit napadá včelí úly a ničí včelí vosk. Díky enzymům, které produkuje jeho trávicí soustava, dokáže strávit vosk, jenž je za normálních podmínek složitě odbouratelný (Kodřík, 2007),

3.3.1.5. Včelomorka obecná (*Braula coeca*)

Včelomorka obecná je bezkřídlá moucha spadající do skupiny potravních parazitů. Živí se nejen pylem a medem, ale i krmnou šťávou, kterou potřebuje matka k zajištění tvorby vajíček. Pokud včelomorka parazituje v úle dlouhodobě a matka nedostává dostatečné množství šťávy, strádá a může uhynout (Jurášek a Dubinský, 1993).

3.3.2. Virózy včel

3.3.2.1. Deformed wing virus (DWV)

Deformed wing virus (virus deformovaných křídel) byl poprvé pozorován v 80. letech u *Apis mellifera* v Japonsku a nyní je již celosvětově rozšířen (Allen *et al.*, 1995). Za přítomnosti *Varroa destructor* dochází k rychlému šíření viru DWV, který se projevuje nedostatečným vývojem plodu, vývojovými vadami jako jsou především zakrnělá a deformovaná křídla (Joachim *et al.*, 2010).

3.3.2.2. Sacbrood virus (SBV)

Sacbrood Virus (virus pytlíčkovitého plodu) byl poprvé zaznamenán v roce 1913 (White, 1917) a popsán později roku 1964 (Bailey *et al.*, 1964). Ačkoliv nepadá plody i dospělé včel, příznaky jsou viditelné pouze u embryí. Napadené larvy se projevují změnou barvy z bílé na žlutou a později hnědou. Povrch jejich pokožky se mění z jemné na hrubou a vyplňuje se tekutinou obsahující velké množství virových částic. Za pomoci této tekutiny dochází k šíření viru, který je velmi často přenášen dospělými včelami na ostatní larvy během krmení. V konečné fázi vývoje napadený plod umírá a vysychá (Bailey *et al.*, 1975).

3.3.2.3. Kashmir bee virus (KBV)

Kashmir bee virus byl nejprve pozorován u asijské včely *Apis cerana* (Bailey *et al.*, 1977). Později byl však objeven i u *Apis mellifera* v Evropě, Indii, Austrálii, na Novém Zélandě, v Kanadě (Allen *et al.*, 1995) i v USA (Bruce *et al.*, 1995). Přestože včely napadené KBV virem nemají viditelné příznaky, umírají během šesti dnů od nakažení (Bailey *et al.*, 1975).

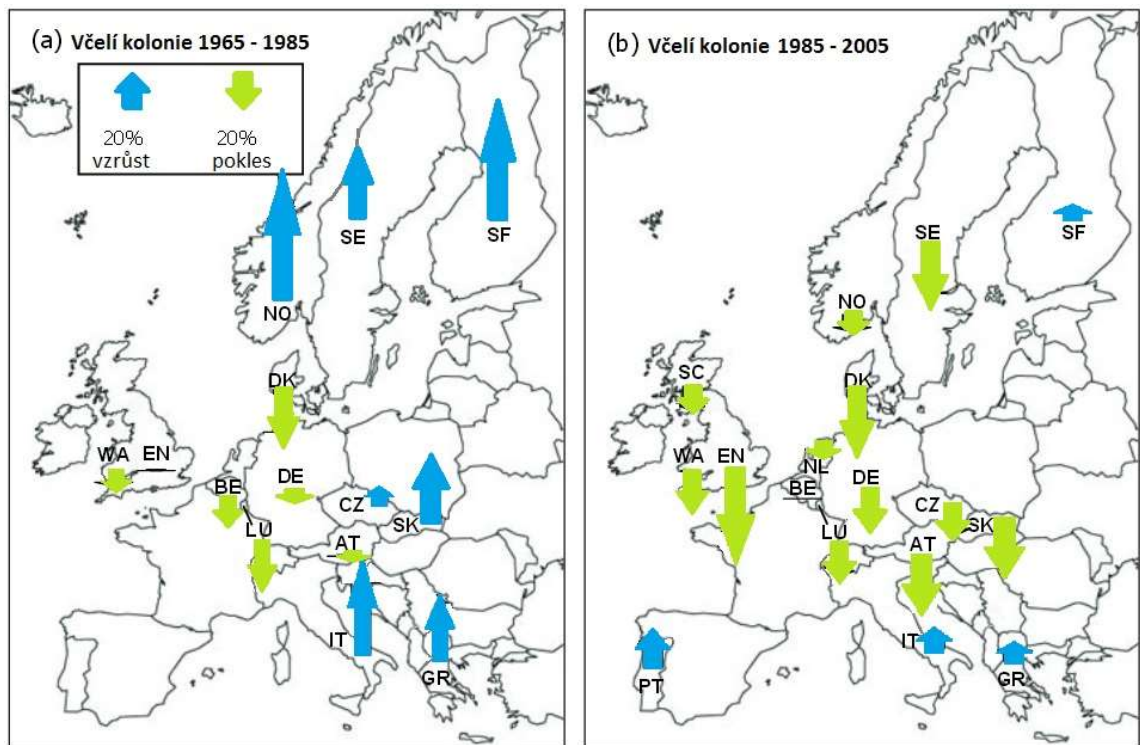
3.3.2.4. Acute bee paralysis virus (ABPV)

Včely infikované ABPV jsou velmi oslabené, třesou se, mají problémy s pohybem a během několika následujících dní umírají (Bailey *et al.*, 1964).

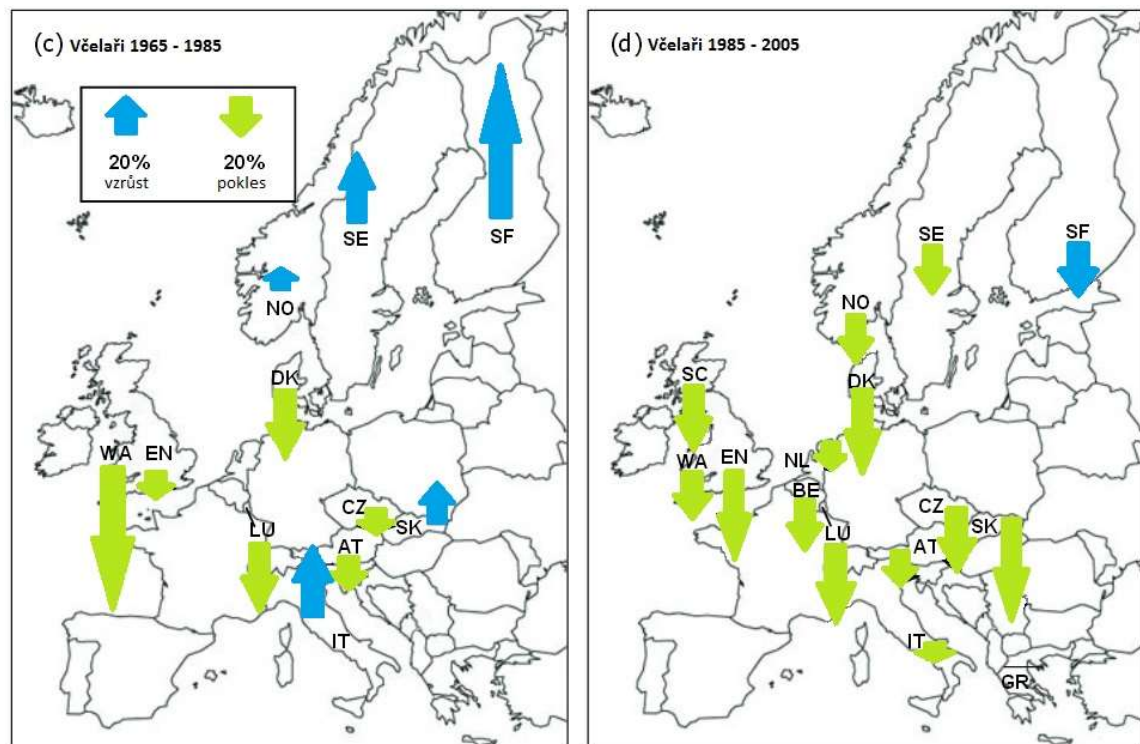
3.4. Úmrtnost včel

3.4.1. Evropa

V Evropě je pozorován pokles včelích kolonií od r. 1965. V roce 2010 vyšla studie zaměřující se na změny v počtu včelstev a včelařů v letech 1965 -1985 a 1985 – 2005. Na základě všech dostupných informací bylo porovnáváno 18 evropských zemí, včetně České Republiky. Jak lze vidět na Obr. 1, ukázalo se, že v letech 1965-1985 docházelo k největším ztrátám ve střední Evropě, kde se snížil počet včelstev o 25%. Finsko, Norsko, Švédsko a několik jižních států zažívalo do roku 1985 určitý nárůst, který vystřídal náhlý pokles. V letech 1985-2005 došlo v Evropě k obrovským úbytkům včelích populací, které mohou být alespoň z části způsobené snižujícím se počtem včelařů, viz Obr. 2 (Potts *et al.*, 2010).



Obr. I: Znáznornění poklesu a vzrůstu včelích kolonií v Evropě v letech 1965-1985 (vlevo) a 1985-2005 (vpravo).



Obr. 2: Znáznornění poklesu a vzrůstu počtu včelařů v Evropě v letech 1965-1985 (vlevo) a 1985-2005 (vpravo) (převzato z: Potts *et al.*, 2010)

3.4.2. USA

V minulosti v USA vyšla řada informací o neobvyklých úbytcích včel, ale většina z nich byla nepřesně zaznamenána nebo chyběly důležité informace podstatné pro zjištění příčiny, proto o nich dnes můžeme pouze diskutovat. Víme tedy, že i v minulosti docházelo k velkým ztrátám včelích kolonií, ale nemůžeme s určitostí říci, co bylo jejich příčinou.

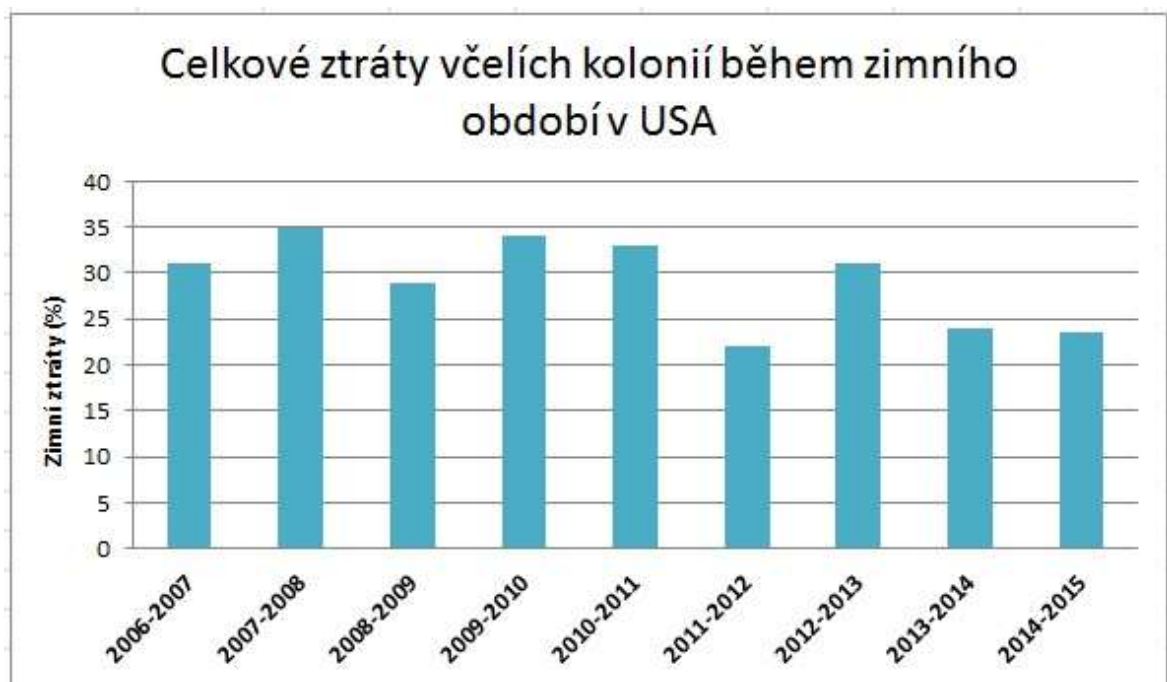
V roce 1897 byly zaznamenány obrovské ztráty v Kalifornii, kde k nim opakovaně docházelo i později, a to v 60. a 70. letech 20. století v době, kdy zde ještě nebyla známá existence roztočů (Stokstad, 2007).

V roce 1915 se objevily velké úhyny v Oregonu, na Floridě a opět v Kalifornii (Root *et al.*, 1923; Tew, 2002).

V roce 1917 přišly zprávy o neobvyklých ztrátách z New Jersey, New Yorku, Ohia a Kanady, kdy byla mrtvá těla nalezena před úlem (Carr 1918).

V 70. letech 20. století došlo znovu k obrovským úbytkům na Floridě, a to především v období během zimy a jara (Kulinčević *et al.*, 1982).

Ve Spojených Státech se počet včelstev snížil od roku 1940 do roku 1989 z pěti miliónů na dva milióny (Stokstad, 2007).



Obr. 3: Shrnutí celkové zimní úmrtnosti včelstev za posledních devět let v USA. Zimní ztráty byly měřené vždy od října do dubna (převzato z: Steinhauer *et al.*, 2015)

3.4.3. Austrálie

Až 59% včelích kolonií zasáhl tento fenomén roku 1910 ve Stawell v Austrálii. Příčina je neznámá, avšak autor se domnívá, že tento pokles mohl být způsoben sběrem potravy v pozdním létě, kdy je příroda chudší, a včela mnohem častěji opylovává *Eucalyptus leucoxylon*, jehož látky jsou pro její konzumaci nevhodné. Autor také tvrdí, že od roku 1872 se zde objevují případy ztracených včelstev, a to opakovaně v rozmezí několika let (Beuhne, 1910).

Výjimkou nejsou ani náhlé ztráty, které zaznamenal včelař Olley u svých včelstev v Austrálii v roce 1975. Tehdy byl tento jev nazýván jako „disappearing syndrome“. Olley byl přesvědčen, že syndrom je způsobován viry, které mohou být přenášeny z ostatních včelstev během napadání a loupení zásob v cizích úlech (Olley, 1976). Ve stejné době se syndrom objevil i v Mexiku, kde byl označován jako „disappearing disease“ (Kulinčević *et al.*, 1984).

3.5. Co je syndrom CCD

V posledních několika letech se objevují znepokojující zprávy o záhadných úbytcích včel v Americe, Evropě a dalších částech světa. Tento jev je označován jako Colony Collapse Disorder (CCD), syndrom zhroucení včelstev. Jedná se o náhlé nevysvětlitelné ztráty dospělých včel z úlu, kde zůstává pouze královna, larvy a několik mladých včel, které trpí nechutenstvím. Zároveň se postiženému včelstvu vyhýbají různí škůdci a predátoři, kteří běžně za podobných okolností, kdy je včelstvo takto oslabené, napadají úl a vykrádají zásoby jídla (Ellis *et al.*, 2010)

3.5.1. Výskyt

Poprvé byl výskyt syndromu CCD podrobněji popsán v letech 2006-2007, když včelaři ve Spojených Státech zaznamenali velké a neobvyklé ztráty včelích kolonií (vanEngelsdorp *et al.*, 2007). První obrovské úbytky způsobené syndromem CCD objevil na podzim roku 2006 David Hackenberg, který přišel o 85% z jeho 3000 včelstev a získal více

než 450 tisíc dolarů. V současné době působí David Hackenberg jako předseda rady zdravotního poradenství včel ve Spojených Státech a stará se o 2400 včelstev (vanEnglesdorp *et al.*, 2007; Hackenberg Apiaries, 2016). Na jaře 2007 bylo v ostatních státech Severní Ameriky zaznamenáno několik dalších případů se stejnými příznaky. Ztráty včel byly znatelné a tvořily 30 – 90% všech včelstev (vanEnglesdorp *et al.*, 2007).

Náhlé velké úhyny včel byly zaznamenány již mnohem dříve, nicméně popsány pod různými názvy, jako např. spring dwindle disease (nemoc jarního mizení), fall dwindle disease (nemoc podzimního mizení), disappearing disease (choroba mizení), autumn collapse (podzimní zhroucení včelstev) nebo May disease (květnová nemoc). První rekordní ztráty „May disease“ se objevily v Koloradu v letech 1891 a 1896 (Schacker, 2008), nicméně po delším zkoumání se ukázalo, že za příčinu těchto ztrát může s největší pravděpodobností houba *Aspergillus flavus* (Underwood, 2010). Rozsáhlé úhyny včelstev, které nebyly dosud objasněny, byly zaznamenány v letech 1905 - 1919, Island of Wight ve Spojeném Království, kde uhynulo 90% včelstev (Neumann, 2010).

3.5.2. Příčiny

3.5.2.1. Nemoci a škůdci

Ačkoliv není syndrom CCD zcela objasněn, nevylučuje se, že by příčinou tohoto jevu mohla být některá z nemocí způsobená parazitem. Je možné, že jde o zcela nový druh parazita nebo o souhru různých faktorů, jenž tento syndrom spouštějí.

V roce 2007/2008 proběhla v Ontariu v Kanadě studie o možné souvislosti výskytu parazitů ve včelstvu a vzniku syndromu CCD. Výsledky této studie prokázaly, že působení *Varroa destructor* může za vysokou úmrtnost včelích kolonií, a to především během zimního období v severních klimatických podmínkách (Guzmán-Novoa *et al.*, 2010). Zjistilo se, že na podzim se v úlech vyskytovalo velké zastoupení roztočů *Varroa destructor* (75,7%), v menším počtu potom parazitické houby *Nosema disease* (27,9%) a nejméně bylo nalezeno tracheálních roztočů (6,1%). Během zimního období zahynulo 27,2% všech zkoumaných včelstev. Po důkladnějším šetření bylo zjištěno, že 85% z nich bylo způsobeno právě roztočem *Varroa destructor*. Na jaře došlo k dalším velkým ztrátám v důsledku

napadení včelstev *Varroa destructor* a *Nosema disease* zapříčiněno oslabením podzimních včelstev a nedostatečnými zásobami potravy.

Na podzim roku 2007 vydala Cox-Foster studii, ve které zkoumala souvislost různých parazitických druhů a CCD. V postižených včelstvech objevila sedm druhů virů, nejčastěji se však jednalo o virus IAPV. V jednom z napadených úlů syndromem CCD našla Cox-Foster se svým týmem šváby nakažené právě virem IAPV. Rozhodla se tedy použít švába jako model pro zkoumání včelích onemocnění. Šváby naočkovala směsí infekčních materiálů ze včely a ti čtyři dny po aplikaci zemřeli. Potvrdilo se, že tento virus způsobuje onemocnění u hmyzu a podle Cox-Foster může mít souvislost se syndromem CCD, ale nemusí jít nutně o jeho příčinu (Cox-Foster *et al.*, 2007).

3.5.2.2. Faktory způsobené člověkem

Vůči parazitům a patogenům ve včelstvu jsou včely mnohem citlivější, pokud mají oslabený imunitní systém. K narušení imunitního systému výrazně přispívají vnější faktory, jako **působení pesticidů** (insekticidy a herbicidy) a umělá hnojiva, která se začala používat především po 2. světové válce. Používání pesticidů je pro *Apis mellifera* velmi nebezpečné, neboť tyto látky působí toxicky na fyziologické markery u včel a jejich zdravotní zdrav (Desneux *et al.*, 2007).

Mnoho včelařů je přesvědčeno, že syndrom CCD je zapříčiněn působením novým druhů pesticidů na včely. Hackenberg studoval souvislost pesticidů se vznikem CCD a domnívá se, že létavky přinášejí otrávený pyl a nektar do úlu, kde si ho uschovávají na horší časy. Trvá několik měsíců, než spotřebují čerstvé zásoby a dostanou se k zásobám intoxikovaným. Chemické látky obsažené v pesticidech způsobují též oslabení imunitního systému a dezorientaci organismu. Otrávená a oslabená včela vylétá z úlu ven, aby sehnala novou potravu, avšak záhy umírá, neboť není schopná vrátit se zpět do úlu (Berenbaum, 2007).

Ani **elektromagnetické záření z mobilních telefonů** nemá pozitivní vliv na život včel. Do CCD: Dokonce je pravděpodobné, že za syndromem CCD stojí právě používání mobilních telefonů, které působením radiace ovlivňuje orientaci včel v přírodě a schopnost vrátit se zpět do úlu. V takových situacích se do včelstva dostává méně potravy a dochází k velkým poklesům včelích kolonií (Sainudeen, 2011). Vědci z německé univerzity

v Landau provedli experiment pozorující souvislost mizejících včel s elektromagnetickým zářením z mobilních telefonů. Sledovali 8 menších úlů, přičemž čtyřem z nich namontovali zařízení DECT (Digital Enhanced Cordless Telecommunication). Na každý úl připevnili ke vstupu přístroj, který zaznamenával přílety a odlety včel, počítal je a měřil jim dobu výletu. Ukázalo se, že do úlu bez zařízení DECT se vrátilo 16 z 25 včel. Naopak do úlu s DECT se nevrátila ani jedna včela a šest se jich vrátilo do jiných včelstev. Během zkoumání probíhala kontrolní měření váhy včelstev a bylo zjištěno, že ty úly, které byly vystaveny záření, vážily o 21% méně než úly ostatní. Tento jednoduchý experiment potvrzuje, že záření z mobilních telefonů významně ovlivňuje chování včel (Harst *et al.*, 2006).

3.5.2.3. Zkracování telomer jako příčina CCD

Předpokládá se, že rozdílná délka života zimních a letních včel má vliv na délku telomer. Letní včely žijí přibližně pětkrát kratší dobu než včely zimní (Omholt & Amdam, 2004).

Zkracování telomer by mohlo být zdrojem omezené proliferační fáze v životě somatické buňky (Shay *et al.*, 2000). Předpokládá se, že u letních včel je dán přechod z mladušek do létavek délkou telomer, přičemž telomerická délka udává, kdy včela vylétne z úlu. U zimních včel může dojít v souvislosti s dlouhověkostí k narušení telomer a kritickému zkrácení jejich délky. Vzhledem ke svému biologickému věku včela nedokáže přemoci svůj vnitřní pud stát se létavkou, proto předčasně vylétá z úlu a umírá v důsledku nepříznivého počasí. Tento jev je nazýván jako syndrom předčasného stárnutí telomer (TPAS – telomere premature aging syndrome) (Omholt & Amdam, 2004). Je známo, že syndrom předčasného stárnutí u lidí je vázán na zkracující se telomery (Aubert & Lansdorp, 2008).

3.6. Telomery

První záznamy o objevení telomer pocházejí z roku 1938, když americký vědec Hermann J. Müller zkoumal chromozomy u *Drosophila melanogaster*. Zjistil, že se konce chromozomů nemohou obnovovat a jsou složeny ze zvláštních struktur – tzv. telomer (z řeckého *telos* – koncový a *meros* – část) (Müller, 1938). Ve stejné době byly telomery

popsány i Barbarou McClintock při studiu chromozomů kukuřice *Zea mays* (McClintock, 1941).

Z biochemického hlediska jsou telomery složeny z opakujících se sekvencí nukleotidů a specializovaných proteinů a tvoří ochranné nukleoproteinové struktury na koncích eukaryotických chromozomů a uvnitř buněčného jádra. Zastávají mnoho důležitých funkcí během buněčného procesu, jako například to, že se starají o zachování stability chromozomů a celistvost DNA (Blackburn, 1991).

Během replikace DNA dochází k nahrazení zkrácených chromozomů, jenž vznikají tím, že DNA-polymeráza neumí zreplikovat celou sekvenci DNA až do konce (Blackburn *et al.*, 2006). Teorii o zkracování telomer zveřejnil v roce 1971 ruský biolog Alexey Matveyevich Olovnikov, který objasnil její příčinu a připustil, že telomery mohou souviset se vznikem rakoviny (Olovnikov, 1996). Problém zkracování telomer řeší reverzní transkriptáza, tzv. telomeráza – zvláštní enzymový systém, který telomery naopak prodlužuje. Pokud tento enzym v buňce chybí, dochází u telomery k nadměrnému zkracování a tím buňka přichází o schopnost obnovovat se (Greider, 1996).

Délka telomer se mění podle druhů buněk i organismů, např. telomery lidských buněk měří 5-15 kilobází (kb), u myši je to 20-60 kb a u včel 3-4 kb (Kipling *et al.*, 1990; Robertson *et al.*, 2006). U většiny živočichů se délka telomer v průběhu života zkracuje. Nicméně existují výjimky, jako např. hrotnatka *Daphnia pulex*, u kterých je telomeráza aktivní po celý život a délka telomer se s věkem nezkracuje (Fajkus *et al.*, 2005; Schumpert *et al.*, 2015).

3.6.1. Telomerická sekvence a replikace DNA

U většiny eukaryotických buněk se vyskytuje krátká opakující se sekvence DNA, která se s každým buněčným dělením zkracuje. Jakmile se zkrátí do určité minimální délky, dochází k apoptóze a zániku buňky (Donate *et al.*, 2011). Dvoušroubovice telomerické DNA je složena ze dvou vláken. Vlákno, jež utváří 3' konce chromozomů se označuje jako G-vlákno a obsahuje velké množství guaninu, naopak komplementární vlákno je bohaté na cytosin a označuje se jako C-vlákno. Ve chvíli, kdy je konec G-vlákná prodloužen, vzniká jednořetězcový G-přesah a v DNA se vyskytuje převaha guaninu (Riha *et al.*, 2000).

Nejběžnější telomerickou sekvencí ve světě eukaryotických buněk je jednoduchý řetězec ve tvaru $(T_xA_yG_z)_n$ (Frydrychova a Mason, 2013). Krátké opakování se sekvence se v rámci různých druhů organismů odlišují, např. u obratlovců je tandemová repetice $(TTAGGG)_n$, u hmyzu $(TTAGG)_n$, u prvoka *Tetrahymena* $(TTGGGG)_n$ nebo u kvasnic $(TTTGGG)$ (Moyzis *et al.*, 1988; Frydrychova *et al.*, 2004; Prescott, 1994; Vega *et al.*, 2003).

3.6.1.1. Telomerická čepička a smyčka

Telomerická DNA je zakončena tzv. telomerickou čepičkou, která je složena z náležitých proteinů a tzv. t-smyčkou (T-loop). Jednořetězcový přesah 3' konce chromozomů se v této struktuře přetáčí a zasahuje zpět do dvouřetězce DNA, díky čemuž vzniká menší tzv. d-smyčka (D-loop). Již zmíněné proteiny se starají o správnou strukturu a délku telomer a o stabilitu t-smyčky (Griffith *et al.*, 1999). V telomerických sekvencích se vyskytují vazebná místa pro vazebné proteiny vážící se na jednořetězec DNA (např. protein POT1), na dvouřetězec DNA (např. proteiny TRF1 a TRF2) a proteiny, které se vážou na předchozí dvě skupiny (deLange, 2005). Složení proteinů u telomerických čepiček v rámci různých organismů liší, např. čepička u savců obsahuje maximálně šest proteinů (TRF1, TRF2, TIN2, TPP1, POT1, RAP1) (Griffith *et al.*, 1999).

Telomerická čepička dokáže rozeznat dvouřetězcové chromozomální zlomy od přirozených chromozomálních konců. Jakmile se čepička naruší, dochází k aktivaci buněčných reparačních mechanismů, jež způsobují chromozomální fúze, případně apoptózu buňky. Čepička se může poškodit například nedostatečnou telomerickou délkou nebo absencí některého z proteinů (Frydrychova *et al.*, 2008).

3.6.1.2. Replikace DNA

Pro replikaci DNA je nutná přítomnost DNA-polymerázy, deoxynukleotidů a tzv. primeru. Jakmile DNA zahájí její průběh, telomery se začnou krátit. Je to způsobeno tím, že ihned po syntéze odpadá na 5' DNA primer a DNA-polymeráza není schopna prázdné úseky zaplnit, neboť umí připsovat nukleotidy pouze ke 3' konci molekuly. Na základě toho je dceřinné vlákno na 5' konci po každé replikaci kratší (Blackburn *et al.*, 2006).

3.6.2. Telomeráza

Telomeráza je ribonukleový komplex, který má reverzně transkriptázovou aktivitu. Kopírováním krátké templátové sekvence RNA podjednotky telomeráza nahrazuje zkrácené konce telomer připojením nových nukleotidů (Sýkorová, 2006). Existují organismy s rozdílnou ochranou chromozomových konců, kdy zkrácené telomerické úseky mohou být nahrazeny méně konzervativními sekvencemi, jako např. satelitní sekvence nebo transpozóny (Frydrychova a Mason, 2013).

Telomeráza je složitý enzymatický komplex. Obsahuje dvě podjednotky, tzv. proteinovou podjednotku TERT (telomerase reverse transcriptase), která je významná svou katalytickou funkcí, a RNA komponent TR (telomerase RNA) využívaný jako templát pro syntézu sekvence telomer (Greider a Blackburn, 1987; Blasco *et al.*, 1997).

U dospělých jedinců a u většiny somatických buněk aktivita telomerázy buď není nebo je velmi nízká, ale existují i výjimky, jako např. již zmíněná *Daphnia pulex* (Schumpert *et al.*, 2015). Naopak vysoká aktivita je přítomna u vysoce proliferačních buněk, jako jsou např. buňky zárodečné, kmenové, endoteliální apod. (Shay a Bacchetti, 1997; Yasumoto *et al.*, 1996). Zvýšená aktivita telomerázy je rovněž pozorována u více než 85% nádorových buněk, což pomáhá při diagnostice nádorových onemocnění. Vyšší aktivita telomerázy u těchto buněk přispívá k jejich nekonečnému dělení (Kim *et al.*, 1994).

Na základě nedávné studie (Korandova a Frydrychova, 2015) se ukázalo, že délka telomer a aktivita telomerázy se u *Apis mellifera* může mezi různými jednotlivci lišit. Variabilita byla pozorována mezi tkáněmi, buňkami nebo chromozomy uvnitř jedné buňky. Ve včelstvu vykazuje nejvyšší stupeň aktivity telomerázy královna, u které byla zaznamenána vysoká aktivity telomerázy u larev a dospělců, nejnižší v ováriích. Studie též odhalila, že činnost telomerázy v mozku královny je až 70krát vyšší než aktivita v mozku dospělé dělnice (Korandova a Frydrychova, 2015).

3.6.3. Vliv oxidativního stresu na zkracování telomer

Působení oxidativního stresu na organismus má velmi negativní vliv na délku telomer, často větší než telomerické ztráty způsobené neúplnou replikací DNA. Kvůli přítomnosti značného množství guaninu, jsou telomery velice vnímavé vůči oxidativnímu stresu (Zglinicky, 2002). Je to způsobeno tím, že guanin má ze všech bází nejnižší oxidační

potenciál, a proto u něj dochází k oxidaci nejčastěji (Nasir *et al.*, 2014). Guanin je náchylný ke vzniku oxidativních modifikací, jako např. 8-oxo-deoxyguanosin (Oikawa a Kawanishi, 1999).

Vysoká hladina oxidativního stresu může způsobit zlomy na DNA, které vznikají přímo nebo jako mezičlánek během opravování oxidovaných bází. Mohou také vznikat za přítomnosti reaktivních forem kyslíku, jako jsou hydroxylové radikály vytvářející jednořetězcové zlomy (Houben *et al.*, 2008). Při vzniku replikační vidličky, kdy se dvouřetězec DNA disociuje na jednořetězec, dochází v důsledku jednořetězcových zlomů k výraznému zkrácování telomer (Oikawa a Kawanishi, 1999).

4. Závěr

V této rešeršní práci jsem se snažila přiblížit problematiku neobvykle velkých poklesů včelích kolonií v souvislosti s různými možnými faktory, jenž by mohly být jejich příčinou. Ztráty včelstev jsou již několik desítek let pozorovány téměř po celém světě. Některé ztráty byly objasněny, jiné zůstaly záhadou. Je jisté, že největší roli hraje kondice a zdravotní stav včel, který je ovlivňován mnoha různými faktory, jež byly zmíněny v předešlých kapitolách.

V poslední době je mezi vědci jedním z nejvíce diskutovaných a zároveň stále záhadných jevů syndrom CCD. Snažila jsem se tedy seznámit s problematikou tohoto fenoménu a přitom zmínit všechny možné příčiny. Je možné, že syndrom CCD způsobuje některá z již zmíněných příčin, ale může jít i o nově objeveného parazita či souhru různých faktorů, ke které bych se sama přikláněla.

Nicméně jednou z mnoha teorií syndromu CCD je, že vzniká nefyziologickým zkrácením telomer vlivem působení negativních environmentálních faktorů. Předpokládá se, že rozdílná délka života zimních a letních včel má vliv na délku telomer. Myslím si, že tato teorie je méně pravděpodobná. Nicméně i tak by bylo zajímavé udělat experiment a porovnat délku telomer a aktivitu telomerázy u zimních a letních včel. Dále vyzkoušet zda může být délka telomer ovlivněna vytížeností včel v létě nebo naopak klidovým obdobím v zimě. Případně letní včely umístit do chladného prostředí a navodit jim klidové zimní období a výsledky poté porovnat s výsledky zimních včel.

5. Použitá literatura

ALLEN, MF., BALL, BV. (1995): Characterisation and serological relationship of strains of Kashmir bee virus. *Annals of Applied Biology*, 126; 471-484

AUBERT, G., LANSDORP, PM. (2008): Telomeres and aging. *Physiological Reviews*, 88(2): 557-579

AUDERSON, DL., TRUEMAN, JWH. (2000): *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*, 24; 165-189

BAILEY, L., GIBBS, AJ., WOODS, RD. (1964): Sacbrood virus of the larval honey bee (*Apis mellifera linnaeus*). *Virology*, 23(3); 425-429

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

BAILEY, L. (1975): Recent research on honey bee viruses. *Bee World*, 56; 55-64

BAILEY, L., WOODS, RD. (1977): Two more small RNA viruses from honey bees and further observations on sacbrood and acute bee – paralysis virus. *Journal of General Virology*, 37; 175-182

BERENBAUM, MR. (2007): Colony collapse disorder and pollinators decline. Statement to Congress of USA, 29

BEUHNE, R. (1910): Bee mortality. *Journal of Department of Agricultural of Victoria*, 7; 149-151

BLASCO, MA., LEE, HW., ROZEN, M., HANAHAN, D., dePINHO, R., GREIDER, CW. (1997): Mouse models for the study of telomerase. *Ciba Found Symp*, 211; 160-170

BRUCE, WA., ANDERSON, DL., CALDERONE, NW., SHIMANUKI, H. (1995): A survey for Kashmir bee virus in honeybee colonies in the United States. *American Bee Journal*, 135; 352-354

BLACKBURN, EH. (1991): Structure and function of telomeres. *Nature*, 350; 569-573

- BLACKBURN, EH., GREIDER, CW., SZOSTAK, JW. (2006): Telomeres and telomerase: the path from maize, tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Journal of Natural Medicines*, 3; 173-80
- CARR, EG. (1918): An unusual disease of honey bees. *Journal of Economic Entomology*, 11: 347-351
- CRAILSHEIM, K., BRODSCHNEIDER, R., NEUMANN, P. (2009): The COLOSS puzzle: filling in the gaps. *Proceedings of the 4th COLOSS Conference, Zagreb, Croatia*: 46-47
- CHEN, Y., PETTIS, JS., EVANS, JD., KRAMER, M., FELDLAUFER, MF. (2004): Molecular evidence for transmission of Kashmir bee viruses in honey bee colonies by ectoparasitic mite, *Varroa destructor*. *Apidologie*, 35; 441-448
- DANIHLÍK, J., KLÍMA, Z., KOBZA, R. (2014): COLOSS: Vyhodnocení prvního českého monitoringu zimních ztrát včelstev. *Moderní včelař*, 6; 8-13
- DANIHLÍK, J., PETŘIVALSKÝ, M. (2015): Aktuální vědecké poznatky o imunitě a zdraví včel. *Veterinářství*, 65; 434-431
- De LANGE, T. (2005): Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes & Development*, 19(18); 2100-2110
- DESNEUX N., DECOURTYE A., DELPEUCH JM. (2007): The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52: 81-106
- DENMARK, HA., CROMROY, HL., SANFORD, MT. (2000): Honey bee tracheal mite, *Acarapis woodi* (Rennie)(Arachnida: Acari: Tarsonemidae). *DPI Entomology Circular*; 267
- DONATE, LE., BLASCO, MA. (2011): Telomeres in cancer and ageing. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 366; 76-84
- ELLIS, JD., EVANS, JD., PETTIS, J. (2010): Colony losses, managed colony population decline, and Colony Collapse Disorder in the United States. *Journal of Agricultural Research*, 49(1); 134-136
- FAJKUS, J., SYKOROVA, E., LEITCH, AR. (2005): Telomeres in evolution and evolution of telomeres. *Chromosome Research*, 13; 469-479

FRIES, I., FENG, F., daSILVA, A., SIEMENDA, SB., PIENIAZEK, NJ. (1996): *Nosema ceranae* n.sp. (Microsporidia, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). European Journal of Protistol, 32; 356-365

FRIES, I. (2010): *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). Journal of Invertebrate Pathology, 103; S73-S79

FRYDRYCHOVA, CR, GROSSMANN, P., TRUBAC, P., VITKOVA, M., MAREC, F. (2004): Phylogenetic distribution of TTAGG telomeric repeats in insects. Genome, 47(1); 163-178

FRYDRYCHOVA, CR., BIESSMANN, H., MASON, JM. (2008): Regulation of telomere length in *Drosophila*. Cytogenetic and Genome Research, 122 (3-4); 356-364

FRYDRYCHOVA, CR., MASON, JM. (2013): Telomeres: Their structure and maintenance. InTech, Open Access Publisher; 423-443

GREIDER, CW., BLACKBURN, EH.(1987): The telomere terminal transferase of Tetrahymena is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity. Cell, 51; 887-98

GOULSON, D., NICHOLLS, E., BOTIAS, C., ROTHERAY, EL. (2015): Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. Science, 347(6229): 1255957

GREIDER, CW. (1996): Telomere length regulation. Annual Review of Biochemistry, 65; 337-365

GRIFFITH, JD., COMEAU, L., ROSENFELD, S., STANSEL, RM., BIANCHI, A., MOSS, H. *et al.* (1999): Telomere length regulation. Annual Review of Biochemistry, 65: 337-365

GUZMÁN-NOVOA, E., ECCLES, L., CALVETE, Y., MCGOWAN, J., KELLY, PG., CORREA-BENÍTEZ, A. (2010): *Varroa destructor* is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Ontario, Canada. Apidologie, 41: 443-450

- HADDAD, N., BATAENEH, A., ALBABA, I., OBEID, D., ABDULRAHMAN, S. (2009): Status of colony losses in the Middle East. Proceedings of the 41st Apimondia Congress, Mointpellier, France; 36
- HAMZELOU, J. (2007): Where have all the bees gone? The Lancet, 370; 639
- HARST, W., KUHN, J., STEVER, H. (2006): Can electromagnetic exposure cause a change in behaviour? Studying possible non-thermal influence on honey bees – an approach within the framework of education informatics. Acta systematica, 6: 1-6
- HOUBEN, JMJ., MOONEN, HJJ., vanSCHOOTEN, FJ., HOGEMAN, GJ. (2008): Telomere lenght assessment: biomarker of chronic oxidative stress? Free Radical Biology and Medicine, 44(3); 235-246
- KIM, NW., PIATYSTEK, MA., PROWSE, KR., HARLEY, CB., WEST, MD., HO, PL. *et al.* (1994): Specific association of human body telomerase activity with imortal cells and cancer. Science, 266; 2011-2015
- KIPLING, D., COOKE, HJ. (1990): Hypervariable ultra-long telomeres in mice. Nature, 347; 400-402
- KORANDOVA, M., FRYDRYCHOVA, CR. (2015): Activity of telomerase and telomeric lenght in Apis mellifera. Chromosoma; 1-7
- McCLINTOCK, B. (1941): The stability of broken ends of chromosomes in Zea mays. Genetics, 26(2); 234-282
- MILANI, N. (1995): The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud to pyrethroids: a laboratory assay. Apidologie, 26; 415-415
- MOYZIS, RK., BUCKINGHAM, JM., CRAM, LS., DANI, M., DEAVEN, LL., JONES, MD., MEYNE, J., RATLIFF, RL., WU, JR. (1988): A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. Proceedings of the National Academy of Science, 85(18); 6622-6626
- MÜLLER, HJ. (1938): The remaking of chromosomes. Collecting Net, 13; 181-189

- NEUMANN, P., CARRACK, NL. (2010): „Honey Bee Colony Losses“. Journal of Apicultural Research 49(1); 1-6
- OLOVNIKOV, MA. (1996): Telomeres, telomerase and aging: Origin of the theory. Experimental Gerontology, 31(4); 443-448
- POTTS, SG., ROBERTS, SPM., DEAN, R., MARRIS, G., BROWN, MA., JONES, R., NEUMANN, P., SETTELE, J. (2010): Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. Journal of Apicultural Research, 49(1); 15-22
- PRESCOTT, DM. (1994): The DNA of ciliated protozoa. Microbiological Reviews, 58(2); 233-267
- PŘIDAL, A. (2004): Ekologie opylovatelů, MZLU – Ústav zoologie a včelařství, Brno; 53
- READICKER, H. (2009): A short history of the honey bee: humans, flowers, and bees in the eternal chase for honey. Timber Press; 23
- ROBERTSON, HM., GORDON, KHJ. (2006): Canonical TTAGG- repeat telomeres and telomerase in the honey bee, *Apis mellifera*. Genome Research, 16(11); 1345-1351
- ROSENKRANZ, P., AUMEIER, P., ZIEGLEMANN, B. (2010): Biology and control of *Varroa destructor*. Journal of Invertebrate Pathology, 103; S96-S119
- RIHA, K., McKNIGHT, T., FAJKUS, J., VYSKOT, B., SHIPPEN, DE. (2000): Analysis of the G-overhang structures on plant telomeres: evidence for two distinct telomere architectures. The Plant Journal, 23; 633-641
- SCHACKER, M. (2008): A spring without bees: How Colony Collapse Disorder has endangered our food supply, Guilford, Connecticut: The Lyons Press
- SCHUMPERT, CH., NELSON, J., KIM, E., DUDYCHA, JL., PATEL, RC. (2015): Telomerase activity and telomere length in *Daphnia*. PloS one, 10(5); e0127196
- STINDL, R., STINDL, W. (2010): Vanishing honey bees: Is the dying of adult worker bees a consequence of short telomeres and premature aging? Medical hypotheses, 75(4); 387-390

- SOROKER, V., HETZRONI, A., YACOBSON, B., VOET, H., SLABEZKI, S., EFRAT, H., CHEJANOVSKY, N. (2009): Colony losses in Israel: incidence of viral infection and beehive populations. Proceedings of the 41st Apimondia Congress, Mointpellier, France; 38
- TAUTZ, J. (2009): Biologie včelstva jako superorganismu. Fenomenální včely, Praha; 101-147
- UNDERWOOD, R., vanENGELSDORP, D. (2007): „Colony Collapse Disorder: Have we seen this before?“ Bee Culture, 35; 13-8
- vanENGELSDORP, D., HAYES, Jr., UNDERWOOD, RM., PETTIS, JS. (2007): An estimate of managed colony losses in the winter of 2006-2007: a report commissioned by the Apiary Inspectors of America. American Bee Journal, USA; 147, 599
- vanENGELSDORP, D., MEIXNER, MD. (2010): A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. Journal of Invertebrate Pathology, 103: 80-95
- VEGA, LR., MATEYAK, MK., ZAKIAN, VA. (2003): Getting to the end: telomerase access in yeast and humans. Nature Review: Molecular cell biology, 4(12); 948-959
- VESELÝ, V. (2005): Varroasis in bees in the Czech Republic. Veterinářství, 55(7); 452-453
- WINSTON, ML. (1987): Age-related activities of worker bees. The Biology of the Honey Bee, US; 99-102
- SÝKOROVÁ, E. (2006): Obvyklé a neobvyklé telomery. Informační listy, Brno: Genetická společnost Gregora Mendela, 30; 6-12
- SHAY, JW., BACCHETTI, S. (1997): A survey of telomerase activity in human cancer. European Journal of Cancer, 33(5); 787-791
- YASUMOTO, S., KUNIMURA, C., KIKUCHI, K., TAHARA, H., OHJI, H., YAMAMOTO, H. *et al.* (1996): Telomerase activity in normal human epithelial cells. Oncogene, 13(2); 433-439
- ZGLINICKY, T. (2002): Oxidative stress shortens telomeres. Trends in Biochemical Sciences, 27(7); 339-334

- NASIR, NFM., KANNAN, TP., SULAIMANN, SA., SHAMSUDOIN, S., AHMAD, A., STANGASIU, S. (2014): Telomeres and oxidative stress. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 4; 57-67
- OIKAWA, S., KAWANISHI, S. (1999): Site-specific DNA at GGG sequence by oxidative stress may accelerate telomere shortening. *FEBS Letters*, 453(3); 365-368
- WATANABE, ME. (2008): Colony Collapse Disorder: Many Suspects, No Smoking Gun. *BioScience*; 384-388
- WILLIAMS, IH. (1994): The dependence of crop production within the European Union on pollination by honey bees. *Agricultural Zoological Reviews*, 6; 229-257
- KODRÍK, D. (2007): Je zavíječ voskový pouze nepříjemných škůdcem včel? *Moderní včelař*, 4(5); 28-29
- JURÁŠEK, V., DUBINSKÝ, P. (1993): *Veterinární parazitologie. Příroda*, Bratislava; 382
- TAUTZ, J. (2009): *Biologie včelstva jako superorganismu. Fenomenální včely*, Praha; 101-147
- POTTS, SG., ROBERTS, SPM., DEAN, R., MARRIS, G., BROWN, MA., JONES, R., NEUMANN, P., SETTELE, J. (2010): Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. *Journal of Apicultural Research*, 49(1); 15-22
- STOKSTAD, E. (2007): The case of the empty hives. *Newfocus*, 316; 970-972
- ROOT, AL., ROOT, ER. (1923): *The ABC and XYZ of bee culture*. The A.I.Root Company, Ohio; 959
- JOACHIM, RM., GENERSCH, E. (2010): Deformed wing virus. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103; S48-S61
- VESELÝ, V.(1985): *Včelařství*, SNZ Praha; 368
- WHITE, GF. (1917): *Sacbrood*. US Department of Agriculture, 431; 1-55

- KULINČEVIĆ, JM., ROTHENBUHLER, WC., RINDERER, TE. (1982): Disappearing disease. II. Effects of certain protein sources given to honey-bee colonies in Florida. American Bee Journal, 122; 189-191
- KULINČEVIĆ, JM., ROTHENBUHLER, WC., RINDERER, TE. (1984): Disappearing disease: III.A comparison of seven different stocks of the honey bee (*Apis mellifera*). Research Bulletin - Ohio Agricultural Research and Development Center (USA), 1160: 21
- OLLEY, K. (1976): Those disappearing bees. American Bee Journal, 116: 520-521
- OMHOLT SW., AMDAM GV. (2004): Epigenetic regulation of aging in honey bee workers. Sci Aging Knowledge Environ 2004, 26: 28
- TEW, JR. (2002): Bee Culture's beeyard: Disappearing disease – An urban myth? Is this a disease? How can you tell? Bee Culture, 36
- SHAY JW., WRIGHT WE. (2000): Hayflick, his limit, and cellular ageing. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 1: 72-6
- SAINUDEEN, SS. (2011): Impact of mobile phones on the density of honeybees. Journal of Public Administration and Policy Research, 3(4): 117-131

Internetové zdroje:

- STEINHAUER, NA., RENNICH, K., LEE, K., PETTIS, J., TARPY, DR., RANGEL, J. *et al.* (2015): Colony loss 2014-2015: preliminary results (dostupné z: <https://beeinformed.org/results/colony-loss-2014-2015-preliminary-results/> , Accessed, 26), 15.5.2016
- KLUSER, S., NEUMANN, P., CHAUZAT, MP., PETTIS, JS., PEDUZZI, P., WITT, R., FERNANDEZ, N., THEURI, M. (2010): Global honey bee colony disorder and other threats to insect pollinators. united nations environment programme. (dostupné z: <http://archive-ouverte.unige.ch/unige:32251>)
- GUTIERREZ, D. (2009): Honey bee collapse strikes Japan, up to fifty percent of honey bees gone. Natural News, (dostupné z: http://www.naturalnews.com/026151_Japan_honeybees_honey.html), 11.3.2016

HACKENBERG APIARIES (2016): About Hackenberg Apiaries (dostupné z: <http://hackenbergapiaries.org/index.php?page=hackenberg-apiaries-about-us>), 15.4.2016