

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PEDAGOGICKÁ FAKULTA

Katedra biologie



**Pedagogická
fakulta**

Bakalářská práce

David Kovář

**Vývoj populace parazitického roztoče kleštíka včelího (*Varroa destructor*)
ve včelstvech včely medonosné (*Apis mellifera*)**

Olomouc 2015

Vedoucí práce: RNDr. Martin Jáč, Ph.D.

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně pod vedením RNDr. Martina Jáče, Ph.D., s využitím podkladů (použitá literatura, internetové zdroje, vlastní empirická data) citovaných v práci uvedených v příloženém seznamu literatury. Diplomová práce byla zpracována v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o autorském právu, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

Dále prohlašuji, že tištěná a elektronická verze diplomové práce jsou shodné.

Nemám závažný důvod proti zpřístupnění práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

V Olomouci 2015

.....

David Kovář

Poděkování

Chtěl bych poděkovat vedoucímu práce RNDr Martinu Jáčovi, Ph.D. za vstřícnost a odborné vedení práce, dále bych rád poděkoval Mgr. Jiřímu Danihlíkovi za vstřícnost a čas, jenž mi věnoval při konzultacích. Velké poděkování patří také mé rodině, která mi byla velkou oporou.

Abstrakt

Kleštík včelí (*Varroa destructor*) je parazitický roztoč, který se z původního hostitele včely východní (*Apis cerana*) rozšířil i na včelu medonosnou (*Apis mellifera*). Tento roztoč se stal nejčastější příčinou úhynů včelstev, především v Evropě a USA působí značné ekonomické a ekologické škody. Včelaři však mají možnost populaci roztoče ve svých včelstvech kontrolovat vhodnými metodami, následně pak mají k dispozici přípravky či postupy ke snižování populace roztočů v jednotlivých včelstvech.

Teoretická část se zaměřuje na seznámení s biologii včely medonosné a vývoje včelařské sezóny během roku. V této části je popsána i biologie a nebezpečnost kleštíka včelího. Dále jsou popsány metody sledování populace roztočů a následné tlumení varroózy chemickými nebo biotechnologickými postupy. Obecnou snahou je selekce včelstev odolných k varroóze, tato včelstva jsou vyhledávána na základě sledování růstu populace kleštíků v jednotlivých včelstvech. V praktické části byl tedy monitorován vývoj populace kleštíka v pokusných včelstvech pomocí metody SMYV, která určuje velikost populace foretických roztočů. Pro zjištění míry napadení včelího plodu byla použita metoda preparace usmrceného plodu. Množství přirozeně uhynulých a včelami usmrcených roztočů bylo sledováno pomocí spadu na úlové podložky. Hygienickým testem byl také měřen čistící pud včelstev.

Sledováním včelstev bylo zjištěno, že jako kritické období z hlediska vývoje populace kleštíka včelího pro včelstvo je červenec. V tomto období již bylo u včelstev zjištěno napadení dospělých včel vyšší než 10 %. V tomto období musela být zahájena léčba, při níž se přípravek obsahující účinnou látku tau-fluvalinát projevil jako méně účinný než přípravek na bázi acrinathrinu. Po ukončení léčby však začala populace roztočů opět růst. Porovnáním hodnot denního spadu a SMYVu bylo zjištěno, že metoda odečítání denního spadu není spolehlivá, a proto ji nelze doporučit jako jedinou metodu pro stanovení velikosti populace roztočů ve včelstvu. Ačkoliv nebyla nalezena včelstva s náznaky varroatolerance, pomocí hygienického testu byl u sledovaných včelstev zjištěn velice dobrý hygienický pud, a proto mohou být odolná k jiným nemocem, např. moru včelího plodu.

Abstract

Varroa mite (*Varroa destructor*) is a parasitic mite originally from Asian bees (*Apis cerana*). Nowadays, it is spread onto western honey bee (*Apis mellifera*). The Varroa mites cause honey bee colony losses, which generate economic and ecological problems mainly in Europe and in the USA. Beekeepers have several methods for controlling Varroa population in their hives. There are also several products and treatment strategies for protection of highly infested colonies.

The theoretical part of this thesis is focused onto honey bee biology, description of beekeeping season and bee pathology regarding the varroa mite. This part also includes methods for varroa control and integrated pest management. Indeed, varroa-tolerant or resistant honey bee colonies are required, these colonies are being searched based on the monitoring of varroa population within seasons. The WASH method was applied for monitoring of varroa population in experimental colonies. Bee brood was dissected and the varroa infestation level was observed. Natural mite fall was recorded through the season. Hygienic tests were performed for ascertaining the hygienic behaviour of experimental colonies.

The critical part of the beekeeping season is the July when varroa infestation level of adult bees was higher than 10 %. Treatment was applied for protection of so highly infested colonies. It was found that tau-fluvalinate could be less effective compared to treatment based on acrinathrine. The mite population was increasing again after the treatment was finished. Counting of natural mite fall is not trustworthy enough and thus it should be not recommended as a single method for monitoring of varroa population. However, varroa-tolerant colonies were not found, hygienic tests showed good quality of hygienic behaviour and thus these colonies could be highly resistant to other bee diseases, e.g. American foulbrood.

Obsah

1 Úvod a cíle práce	- 8 -
2 Úvod do biologie včelstva	- 9 -
2.1 Anatomie včely medonosné.....	- 10 -
2.2 Vývoj včelařské sezóny	- 11 -
3 Biologie kleštíka včelího	- 13 -
3.1. Rozmnožování	- 14 -
3.2 Morfologie	- 15 -
3.3 Historie šíření	- 16 -
3.4. Virové infekce spojené s varroózou.....	- 16 -
4 Zvládání varroózy během roku.....	- 18 -
4.1 Biotechnologické metody boje s varroózou	- 18 -
4.1.1 Odstranění zavíčkovaného plodu.....	- 18 -
4.2 Léčení včel podle vyhlášky č. 299/2003 Sb.	- 19 -
4.3 Jiné směry v boji s varroózou	- 20 -
4.4 Varroatolerance	- 21 -
4.5 Hygienické chování	- 21 -
4.6 Selektce odolné populace včel.....	- 23 -
4.7 Metody vyšetření intenzity varroózy	- 23 -
5 Metodika.....	- 25 -
5.1 Včelnice	- 25 -
5.2 SMYV.....	- 25 -
5.2.1 Odběr vzorků	- 25 -
5.2.2 Zpracování vzorků.....	- 26 -
5.3 Vyšetření plodu.....	- 26 -
5.4 Hygienický test.....	- 27 -

5.5 Spad	- 29 -
5.6 Aplikace léčiv	- 30 -
5.7 Vyhodnocení a statistické zpracování dat	- 30 -
6 Výsledky.....	- 31 -
6.1 SMYV.....	- 31 -
6.2 Korelace přirozených denních spadů a napadení dospělých včel (SMYV)	- 37 -
6.3. Vyšetření včelího plodu.....	- 37 -
6.4. Hygienický test.....	- 40 -
7 Diskuse	- 42 -
8 Závěr.....	- 45 -
Seznam použité literatury	- 46 -
Seznam obrázků.....	- 53 -
Seznam grafů	- 54 -
Seznam tabulek.....	- 55 -

1 Úvod a cíle práce

Parazitický roztoč kleštík včelí způsobující varroózu se od 2. poloviny 20 století rozšířil ze svého původního hostitele včely východní do včelstev včely medonosné téměř na celém světě. Varroóza se stala nejčastější příčinou úhynu včelstev, působí značné ekonomické a ekologické škody, především v Evropě a USA.

V roce 2014 bylo v ČR chováno 603 392 včelstev (Včelařství.cz, 2015). Zimu 2014/2015 nepřežilo přibližně 116 400 včelstev (Žurnál online, 2015). Tyto ztráty byly způsobeny především varroózou, která tak působí finanční škody nejen samotným chovatelům včel, ale také zemědělcům, jejichž výnosy z pěstovaných plodin jsou závislé na opylovací službě včel. Vysoké ztráty jsou způsobeny neznalostí biologie kleštíka včelího, ze strany včelařů a zejména nedostatečným sledováním vývoje populace roztoče ve včelstvech v průběhu včelařské sezóny. Je potřeba také hledat nové metody k tlumení varroózy, současný model léčení za použití syntetických akaricidů není dlouhodobě udržitelný, jelikož se u kleštíka objevuje rezistence vůči těmto léčivům (Elzen at al., 1998).

Hlavním cílem práce je za použití různých metod sledovat vývoj populace kleštíka včelího ve včelstvech včely medonosné.

Další cíle práce jsou:

- a) zpracování literární rešerše zaměřené na biologii včely medonosné, kleštíka včelího a možnosti tlumení varroózy
- b) popsání a korelace metod vyšetření intenzity varroózy
- c) srovnání míry napadení dospělých včel a včelího plodu
- d) porovnání použitých léčivých přípravků pro léčbu varroózy

2 Úvod do biologie včelstva

Včela žije v koloniích - včelstvech (Veselý et al., 2009). Tyto kolonie bývají často nazývány „superorganismus“ (Seelay, 1989). Tautz (2009) dokonce tvrdí, že včelstvo má některé vlastnosti společné se savci, a to například: způsob výživy potomků a velmi dobrá schopnost učit se novým věcem.

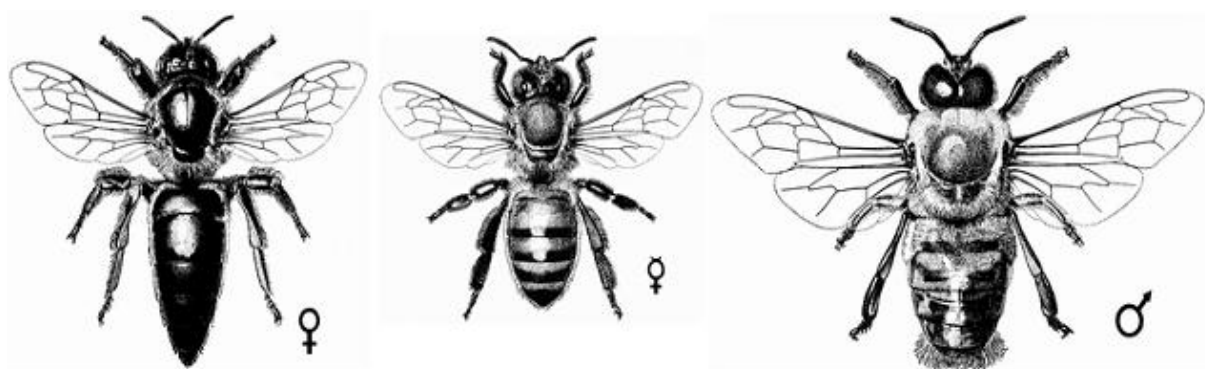
Na vrcholu svého rozvoje tvoří včelstvo 1 oplozená matka, 50 000 až 60 000 dělnic a přibližně 300 až 600 trubců (Veselý et al., 2009).

Matka se od ostatních včel liší především protáhlým tvarem těla a svou velikostí. Měří 20-25 mm a její hmotnost se pohybuje mezi 180 – 260 mg (Veselý et al., 2009). Líhne se 16. den od naklazení vajíčka (Boháček, 1990). Ve včelstvu se zpravidla vyskytuje pouze jedna, její úloha je nezastupitelná, denně je schopna naklást až 1500 vajíček a tím zajistit rychlý růst včelstva (Veselý et al., 2009). Včelí matka vylučuje ze své kusadlové žlázy tzv. mateří látku, jedná se o feromon, který zajišťuje soudržnost celé včelí kolonie (Weiss, 2010). Včelí dělnice tvoří kolem matky 8-26 členný doprovod, tzv. svitu. Tento doprovod matku krmí a také čistí její tělo olizováním, přičemž od ní získávají mateří feromon (Veselý et al., 2009). Pomocí trofolaxe, tj. kontaktu včel při vzájemném krmení se tento feromon šíří po celém včelstvu. Matka se dožívá 3 – 5 let (Tautz, 2009).

Dělnice je dlouhá 12 – 14 mm a její hmotnost je přibližně 100 mg (Veselý et al., 2009). Dělnice se líhnou z oplozených vajíček po 21 dnech vývoje od vajíčka po imago. O tom zda se z oplozeného vajíčka vylíhne matka nebo dělnice rozhodne podávaná potrava. Budoucí matka je krmena krmnou šťávou, tzv. mateří kašičkou, po celou dobu svého larválního vývoje, zatímco larvy dělnic dostávají mateří kašičku nejdéle do 3. dne vývoje (Boháček, 1990). Dělnice vykonávají ve včelstvu veškerou pracovní činnost. Podle stáří je můžeme rozdělit do dvou kategorií. Do dvacátého dne stáří se jedná o úlové včely, starší včely jsou potom létavky. Po vylíhnutí mladušky čistí jednotlivé buňky plástu, aby byly vhodné pro kladení vajíček. Mezi 3. a 10. dnem se z nich stávají kojičky, které krmí larvy, trubce a matku. Od 10. dne se u mladušek objevují voskové žlázy, které produkují voskové šupiny, ze kterých staví plásty. Mezi další činnosti těchto včel patří udržování čistoty v úle a kontrola včel přilétajících do úlu, tzv. strážkyně. Včely mateřské včelstvo poznají podle specifické vůně. K cizím včelám se chovají agresivně. Úlové včely také přebírají nektar od létavek, který postupně zpracovávají na med a ukládají ho do plástů (Weiss, 2010). Létavky mají za úkol zásobování včelstva surovinami. Jedná se především o vodu, pyl, nektar a propolis

(Veselý et al., 2009). Poměrně málo létavek je zároveň i pátračkami, které vyhledávají zdroje potravy a informace o nich předávají ostatním létavkám pomocí složitého včelího tance. Tancem je pátračka létavkám schopna sdělit přesnou polohu zdroje potravy, jeho vydatnost, vůni a koncentraci nektaru. Využívá při tom polohu Slunce vůči úlu, zemskou gravitaci a vůni zdroje potravy, který létavky od pátračky získávají olizováním jejího těla (Tautz, 2009). Ve včelstvech se střídají dvě generace včel: zimní a letní. Letní generace se dožívá přibližně 6–8 týdnů, zatímco zimní generace žije ve včelstvu přibližně od srpna po duben dalšího roku (Veselý et al., 2009).

Trubec je dlouhý 20 – 25 mm a jeho hmotnost se pohybuje mezi 200 až 260 mg (Veselý et al., 2009). Trubec je včelí samec, vyvíjí se partenogeneticky, tedy z neoplozeného vajíčka (Weiss, 2010). Jeho vývoj trvá 24 dní (Boháček, 1990). Trubci oplozují mladé matky při snubních proletech, podílí se také na zahřívání plodu (Weiss, 2010). Ve včelstvech se objevují začátkem května a žijí v něm přibližně do konce července, kdy je včely vytlačují ven z úlu (Veselý et al., 2009).



Obr. 1: Včelí kasty. Zleva: matka, dělnice, trubec (Přidal, 2001)

2.1 Anatomie včely medonosné

Včela medonosná (*Apis mellifera*) je hmyz řádu blanokřídlí. Tělo včely se skládá ze tří hlavních článků: hlavy, hrudi a zadečku, všechny tyto články jsou kryté tenkou vrstvou velmi tvrdé, ale přesto pružné chitinové kutikuly. Chitinová vrstva není jednolitá, ale je rozdělená na malé destičky zvané sklerity (Snodgrass, 1985). Pod kutikulou se nachází epidermis a podstavná blána (Veselý et al., 2009).

Hlava je trojúhelníkového tvaru s velkýma složenýma očima na stranách. Na vrcholku hlavy se mezi složenýma očima nachází tři malá jednoduchá očka (Snodgrass, 1985). U trubců jsou složené oči podstatně větší, než u dělnic a matky. Zabírají tedy mnohem větší

část hlavy, díky tomu jsou jejich jednoduchá očka umístěna níže. Dvě dutá tykadla jsou umístěna přibližně uprostřed hlavy mezi očima (Veselý et al., 2009). Na tykadlech jsou umístěny receptory mnoha smyslů, s jejich pomocí včely vnímají jak pachy (Snodgrass, 1985), tak i teplotu, hmat a vlhkost vzduchu (Tautz, 2009). Dále se na hlavě nachází lízavě-savé ústní ústrojí, složené z horního pysku, kusadel a sosáku (Veselý et al., 2009).

Hrud' je tvořena třemi články: předohrudí, středohrudí, zadohrudí a prvním článkem zadečkovým nazývaným bedra. Na hrudi se nacházejí hlavní lokomoční orgány včely, jimiž jsou 2 páry blanitých křídel a 3 páry nohou (Veselý et al., 2009). Křídla umožňují včele let. Jsou vyztužena a vyživována vzdušnicemi. Pohyb křídel je zajištěn přímými a nepřímými hrudními létacími svaly. Při letu jsou zadní křídla pomocí háčků vyrůstajících z jejich předního okraje pevně spojena s předními křídly (Snodgrass, 1985). Takto spojená fungují efektivněji, než kdyby pracovala samostatně (Veselý et al., 2009). Nohy slouží včele především k pohybu. Především dělnice je ale využívají i k mnoha ostatním činnostem (Veselý et al., 2009). Na předních nohách se nachází čistící aparát tykadel, s jehož pomocí je včela schopna zbavit tykadla jakýchkoli nečistot a zajistit tak jejich správnou funkci (Snodgrass, 1985). Střední pár nohou slouží k sundávání pylu ze třetího páru končetin. Na něm se nachází tzv. košíček tvořený velkým trnem, kolem něhož vyrůstají tuhé chloupky. V tomto košíčku včela přenáší nasbíraný pyl, který se hromadí na kartáčcích, nacházejících se na všech končetinách při návštěvě květů (Snodgrass, 1985).

Zadeček dělnice a matky je tvořen šesti články, trubec má článků sedm. Nachází se v něm většina orgánů včely. Pro jejich správnou funkci je nezbytné, aby byl abdomen dobře roztažitelný jak v podélném, tak příčném směru (Veselý et al., 2009). To je zajištěno volnými membránami, kterými jsou spojeny břišní a hřbetní části jednotlivých částí zadečku (Snodgrass, 1985).

2.2 Vývoj včelařské sezóny

Rytmus života včelstva je přímo závislý na přírodních podmínkách. Včelařskou sezónu můžeme tedy rozdělit na čtyři období, která korespondují s obdobími ročními. Jsou to období regenerační, období zimního klidu, období jarního růstu a období reprodukční (Veselý et al., 2009).

Období regenerační začíná přibližně v druhé polovině července a trvá až do počátku zimy. V tomto období se již v přírodě nevyskytují zdroje větší snůšky a včelstvo se připravuje na blížící se zimu (Veselý et al., 2009). Včelstvo již omezuje plodování a začínají se líhnout dlouhověké včely. Počet létavek se zmenšuje. Trubci jsou vyháněni z úlu, ponechávají si je pouze včelstva, která se chystají k výměně matky. Dochází také k přemísťování zásob a vytváření zimního sediska (Gritch, 2010).

Období zimního klidu přečkají silná včelstva v počtu 10 až 15 tisíc včel (Gritch, 2010). Při teplotách pod 10°C začínají včely vytvářet zimní chumáč, ke kterému se s klesající teplotou přidává více včel. Při teplotě 0 °C jsou v něm již všechny včely (Veselý et al., 2009). Uprostřed chomáče je teplota 25 °C a nachází se zde matka. Takto jsou včely schopny vydržet až do jara, přičemž nepotřebují opouštět úl. Potravu získávají z letních zásob, výkaly se shromažďují ve výkalovém váčku, který vyprazdňují při první příležitosti k proletu. Přibližně v únoru v závislosti na venkovní teplotě začíná matka klást první vajíčka (Gritch, 2010).

V období jarního růstu dochází k zvětšování plochy plodu a také ke generační obměně včel. Toto období bývá kritické a rozhoduje o tom, zda včely přezimují zdárně, či nikoliv. V přírodě se vyskytují stále více zdroje jarní snůšky (Gritch, 2010). Objevuje se také stavební pud a potřeba zvětšení úlového prostoru (Veselý et al., 2009).

V reprodukčním období přichází největší snůška a také matka dosahuje největších výkonů v kladení, včelstvo tak má přebytek potravy i samotných včel, proti dochází k rozmnožování včelstva rojením (Veselý et al., 2009), při kterém ze včelstva odlétá původní matka přibližně s polovinou včel. Asi po osmi dnech se ve včelstvu začínají líhnout nové matky a může tak dojít ještě k několika vyrojením, tzv. porojům (Weiss, 2010).

3 Biologie kleštíka včelího

Kleštík včelí (*Varroa destructor*) je ektoparazitem včely medonosné způsobující varroózu. Do roku 2000 byl v odborné literatuře zaměňován za *Varroa jacobsoni* (Anderson a Trueman, 2000).

Životní cyklus samičky kleštíka včelího můžeme rozdělit na dvě fáze. Fází foretickou, kdy se dospělé samičky nacházejí na dospělých včelách, na jejichž tělech se tak dostávají k plodovým buňkám, kde se množí. Roztoči využívají dospělé včely k šíření mezi včelstvy (Kuenen a Calderone, 1997). K šíření přispívají i trubci, kteří se obvykle po návratu z proletu nevracejí do původního úlu (Veselý et al., 2009). Při reprodukční fázi se samičky nacházejí na zavíčkovaném plodu včely, který je zároveň jediným místem, kde můžeme nalézt krátkověké samečky a nymfální stádia samiček kleštíka včelího (Kuenen a Calderone, 1997). V obou těchto životních fázích se živí hemolymfou, kterou sají ve značném množství ze svého hostitele (Donzé a Guerin, 1994).

Ačkoliv je kleštík včelí schopný vnímat také vibrace, světlo a teplo (Rosenkranz, 1988), řídí se při výběru hostitele především chemickými podněty (Rosenkranz et al., 2010). Jeho chemoreceptory jsou citlivé na methyl- a ethyl estery mastných kyselin, které vylučují včelí larvy v různém stádiu vývoje. Larvy trubiců produkují tyto látky ve větším množství po delší dobu a jsou tak pro samičky roztoče atraktivnější. Bývají napadeny více než larvy dělničí, a to více než 10× (Le Conte et al., 1989). Při výběru hostitelské buňky samičky zohledňují i šířku a výšku samotné buňky a také její stáří. Upřednostňují buňky s menší mezerou mezi larvou a stěnou buňky (Kuenen a Calderone, 2000), také staré buňky jsou napadány více než nové (Piccirillo a De Jong, 2004).

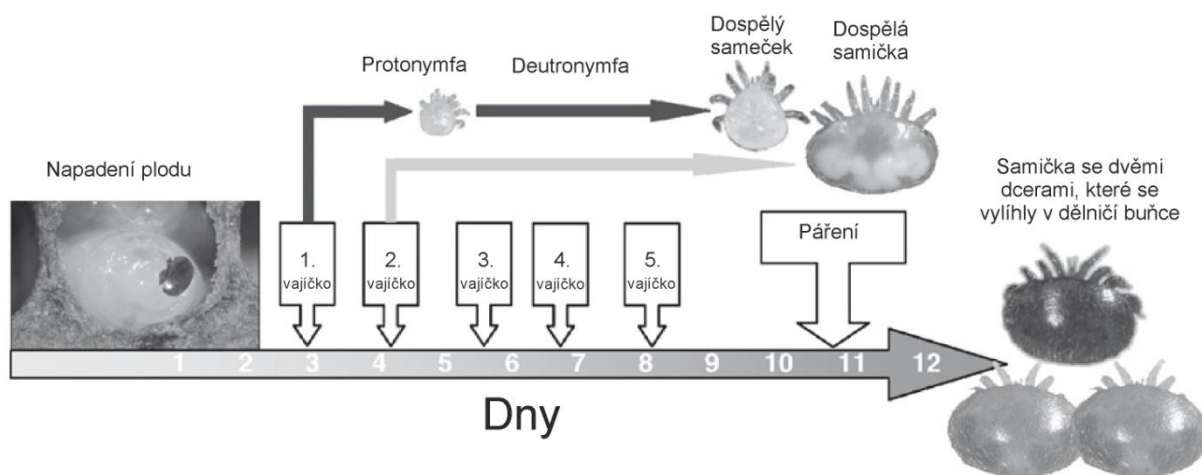


Obr. 2: Trubčí kukla napadená samičkami *Varroa destructor* (Zdroj: vlastní foto)

Při výběru dospělého hostitele se samička kleštíka řídí uhlovodíkovým složením kutikuly včel, čímž je schopna určit jejich stáří (Kraus, 1993). Z toho důvodu pro ni není příliš atraktivní právě vylíhnutá včela, ale vyhledává včely starší, které plní funkci kojiček, s jejichž pomocí se dostávají do dalších plodových buněk. Včely kojičky mají na sobě nejvíce roztočů v porovnání s ostatními včelami ve včelstvu (Steiner, 1993).

3.1. Rozmnožování

Rozmnožování kleštíka včelího probíhá v plodových buňkách včely medonosné. Do buňky trubčího plodu pronikají samičky kleštíka 40 – 50 hodin před zavíčováním, do buňky dělničího plodu 15-20 hodin před víčkováním (Boot et al., 1992). Po vniknutí do buňky sejde samička okolo larvy po stěně na její dno, kde se ukryje do krmné šťávy, čímž se brání odhalení včelami před zavíčováním buňky (Richard et al., 1990). Včelí larvě trvá spotřeba krmné šťávy přibližně 5 hodin od zavíčkování. Poté samička kleštíka přechází na larvu a začíná sát hemolymfu (Ifantidis, 1988). Přibližně po 70 hodinách pokládá první vajíčko, ze kterého se líhne sameček, z následujících, které jsou kladeny ve 30 hodinových intervalech, se líhnou samičky. V buňce dělničího plodu klade až 5 vajíček, v buňce trubčího plodu až 6 vajíček. Z vajíčka se líhne protonymfa, následuje stádium deuteronymfy (Martin, 1995). Vývoj samečka trvá 158 hodin, samičky 132 hodin. Nymfální stádia kleštíka se živí hemolymfou včelí larvy stejně jako imaga. Otvor, ze kterého hemolymfu sají, jim musí připravit jejich matka, jelikož samy nejsou schopny svými měkkými chelicery probodnout kutikulu včelí larvy, navíc samčí chelicery jsou přizpůsobeny k přenosu spermatoforu. Tento sací otvor se nachází většinou na 5. článku larvy (Donzé a Guerin, 1994).



Obr. 3: Reprodukční cyklus *Varroa destructor* na dělničím plodu (upraveno podle Rosenkranz et al., 2010)

Sameček roztoče je pohlavně zralý ihned po přeměně v dospělé. Na samičky čeká v místě, kde se shromažďují výkaly včelí larvy. První samička pohlavně dospívá přibližně 20 hodin po samečkovi. Ihned poté dochází k páření (Donzé et al., 1996). Před pářením si sameček očistí chelicery. Poté nahmatá samičku prvním párem končetin a snaží se najít její gonopory, které se nacházejí na ventrální straně příčně mezi třetím a čtvrtým párem nohou (Alberti a Hanel, 1986). Jakmile je najde, přemístí pomocí chelicer spermatofory do gonoporů samičky. Poté se páří ještě několikrát, dokud se neobjeví mladší dospělá samička. Opakované páření je nezbytné pro naplnění spermatéky samičky spermatofory, kterých může být až 35 (Donzé a Guerin, 1994). Sexuální chování je iniciováno feromonem vylučovaným samičkami. Feromon mladších samiček je pro samečka atraktivnější a zajišťuje, že se sameček páří pouze s nejmladšími samičkami (Rosenkranz et al., 2010).

3.2 Morfologie

V morfologii kleštíka včelího panuje zřetelný pohlavní dimorfismus (Ifantidis, 1983). U obou pohlaví je tělo dorzoventrálně zploštělé a členěné na idiosoma a gnathosoma (Ruijter a Kaas, 1983). Tělo samičky má oválný tvar, přičemž je 1,5 – 1,9 mm široké a 1,1 – 1,5 mm dlouhé. Z dorzální i ventrální strany je kryto silně sklerotizovaným štítem hnědé barvy. Tělo samečka je šedobílé kruhového tvaru velikosti 0,8 mm (Přidal a Čermák, 2005) a je sklerotizováno velice slabě na nohou a dorzálním štítu. Kleštík má 6 párů končetin. První dva páry jsou přeměněny na chelicery a pedipalpy, zbylé čtyři páry pak tvoří kráčivé končetiny. Nohy samiček jsou krátké, silné a jsou přizpůsobeny k uchycení na hostiteli. Oproti tomu nohy samečka jsou dlouhé a tenké. Gnathosoma je orientováno anteroventrálně, obsahuje ústní ústrojí, jehož součástí jsou i chelicery a pedipalpy. Chelicery se skládají ze 3 článků. Poslední článek je pohyblivý a u samiček jsou na něm dva malé zuby, zatímco u samečků je přeměněný ve spermatodactylus (Rosenkranz et al., 2010).



Obr. 4: Pohled na dorzální a ventrální stranu samičky *Varroa destructor* (Zdroj: vlastní foto)

3.3 Historie šíření

Ke kontaktu včely medonosné a kleštíka včelího došlo v první polovině 20. století v Primorském kraji na Dálném východě při převážené včelstev včely medonosné do této oblasti (Oldroyd, 1999), kde se kleštík vyskytoval na svém přirozeném hostiteli, včele východní (*Apis cerana*) (Rath, 1999). Odsud se pak poměrně rychle šířil. V roce 1955 se objevil v Pákistánu, v roce 1958 v Japonsku, v roce 1959 v Číně. Na území Jižní Ameriky se objevil v roce 1971 v Paraguayi. Ve Spojených státech byl poprvé zaznamenán v roce 1987. V Evropě byl poprvé zjištěn na území Bulharska v roce 1967 (Rosenkranz et al., 2010). V Německu se objevil v roce 1977. Na území tehdejší ČSSR byl kleštík poprvé zaznamenán v roce 1978 v oblastech na hranicích s Ukrajinou. V roce 1981 byl roztoč zjištěn v ČR (Čermák, 2011). Kleštík včelí se tak v současnosti vyskytuje téměř na celém světě. Jedinou oblastí, kde prozatím nebyl zaznamenán, je Austrálie (Rosenkranz et al., 2010).

3.4. Virové infekce spojené s varoózou

V současné době je známo 18 virových onemocnění včely medonosné. U 5 z nich bylo prokázáno, že jsou šířeny také kleštíkem včelím. Jsou to: virus akutní paralýzy, izraelský virus akutní paralýzy, virus pytlíčkovitého plodu, kašmírský virus a virus deformovaných křídel. Nejznámějším je virus deformovaných křídel (DWV), který se v silně infikovaných včelstvech projevuje na dospělých včelách deformací křídel a zkrácením zadečku (obr. 5) (Boecking a Genersch, 2008). Virus deformovaných křídel má významný vliv na celkové oslabení včelstva, které může vést k jeho kolapsu. Roztoč přenáší DWV na včelí larvy nebo dospělé při sání hemolymfy. Bylo zjištěno, že 89 % včelího plodu napadeného

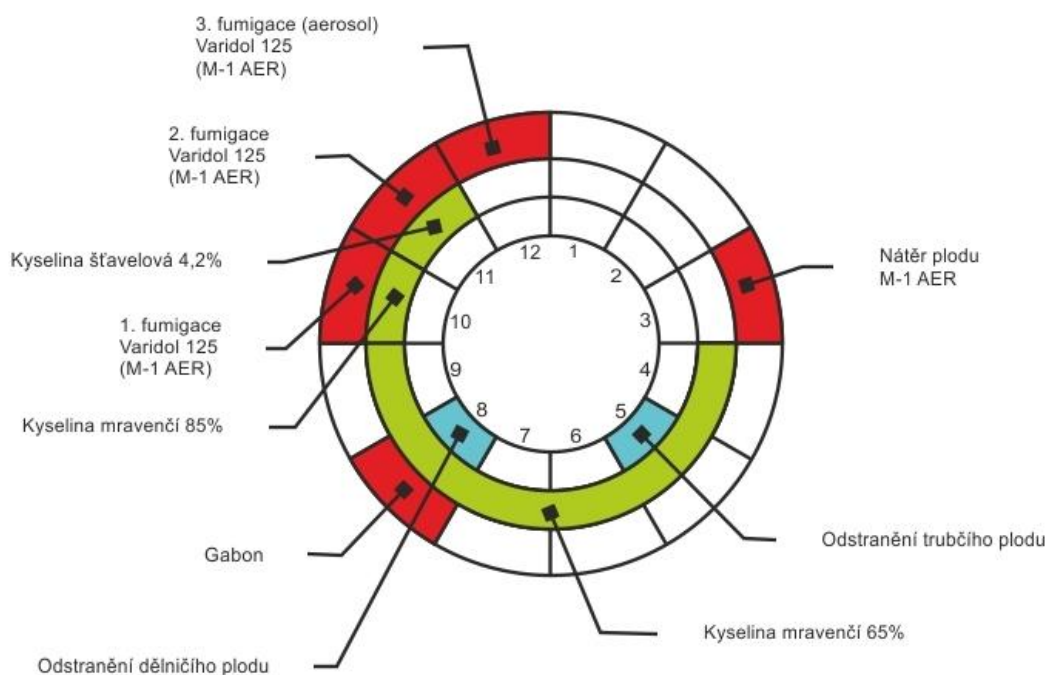
roztočem je pozitivní také na virus deformovaných křídel, u takto napadeného plodu dochází k 21% mortalitě ještě před vylíhnutím, přeživší plod má výrazně zkrácenou délku života dospělé. U plodu, kde se roztoč nevyskytoval, se DWV vyskytoval pouze v 0,6 % případů. V případě, že se virem deformovaných křídel nakazí dospělá včela, neprojevují se u ní negativní vlivy v podobě fyziologických změn nebo zkrácení délky života, stává se pouze přenašečem viru (Martin et al., 2013).



Obr. 5: Klinické projevy viru DWV na dospělé včele (Zdroj: vlastní foto)

4 Zvládání varroózy během roku

Kleštík včelí není pro včelu medonosnou původní parazit, neměla tedy dostatek času vybudovat si proti tomuto parazitu obranné mechanismy (Oldroyd, 1999). Proto je nutné při chovu včely medonosné používat vhodné biotechnologické a léčebné postupy k tlumení varroózy. Bez těchto opatření většina včelstev chovaných v oblastech mírného podnebí kolabuje během dvou až tří let (Rosenkranz et al., 2010).



Obr. 6: Schéma metod ošetřování včelstva v průběhu roku (upraveno podle Beedol, 2015)

4.1 Biotechnologické metody boje s varroózou

4.1.1 Odstranění zavíčkovaného plodu

Principem této metody je odebrání napadeného zavíčkovaného plodu (Maul et al., 1988). Jak uvádí Le Conte et al. (1989) trubčí plod bývá napaden až 10× více než plod dělníčí. Podle Gruny (2014) se na začátku sezóny, kdy je ve včelstvech chováno nejvíce trubců, na dělníčím plodu rozmnožuje pouze 10 % roztočů. Z toho důvodu je trubčí plod využíván jako jakási past na roztoče (Maul et al., 1988). Při odstranění 3 až 4 rámků plných zavíčkovaného trubčího plodu na začátku sezóny je možno snížit celkový počet roztočů na konci sezóny o 50 až 70 % bez jakéhokoliv negativního vlivu na včelstvo (Charrière, 2003). Odstranění dělníčího plodu se provádí u silně napadených včelstev v případech, kdy chovatel nepoužívá chemická léčiva

(Fries a Hansen, 1993). Spočívá v odebrání rádku ze včelstva, selektivním usmrcení roztočů např. za pomoci kyseliny mravenčí a opětovném vložení zpět do včelstva (Calis et al., 1998).

4.2 Léčení včel podle vyhlášky č. 299/2003 Sb.

Včela medonosná je vymezena v § 3 zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči ve znění pozdějších předpisů (dále jen "veterinární zákon") jako hospodářské zvíře. Léčení se provádí podle vyhlášky č. 299/2003 Sb., o opatření pro předcházení a zdolávání nálezů a nemocí přenosných ze zvířat na člověka. Zdolávání varroózy upravuje §131 - §137. Na základě vyšetření smíšeného vzorku zimní měli¹, při nález více jak 3 roztočů v průměru na jedno včelstvo, nařizuje Krajská veterinární správa Státní veterinární správy mimořádná veterinární opatření (dále jen MVO). MVO vymezuje ohnisko nákazy a nařizuje způsoby léčení (druh léčiva, způsob a dobu jeho aplikace) (Ministerstvo zemědělství ČR, 2003).

Na základě veterinárního zákona je možno k léčení včel použít pouze registrované léčivé přípravky. To jsou:

- Apiguard 25 % gel, 12,5 g účinné látky (thymol)
- Gabon PF 90 mg (Tau – fluvalinate)
- Gabon PA 92 mg (Acrinathrin)²
- Formidol 40g (kyselina mravenčí)
- Formidol 81g (kyselina mravenčí)
- MP – 10 FUM 24 mg/ml (Tau – fluvalinate)
- M – 1 AER 240 mg/ml (Tau – fluvalinate)
- Varidol 125 mg/ml (amitraz)
- Thymovar 15 g (thymol)

(Krabec, 2015)

Léčivé přípravky můžeme rozdělit podle použité účinné látky na syntetické akaricidy a organické akaricidy (Rosenkranz et al., 2010). V ČR jsou dle nařízení MVO používány převážně syntetické akaricidy (tau – fluvalinate, amitraz). Jejich výhodou je nízká cena a také

¹ Jako „měl“ se označuje vše, co spadne na úlovou podložku, tvoří ji především voskové zbytky z víček plodových a zásobních buněk, voskové šupinky, pyl, kousky včelích těl a také roztoči (Hrabák, 2011).

² V současnosti (2015) již Gabon PA není zařazen mezi schválené léčivé přípravky. V době odběru vzorků pro tuto práci (2014) byl Gabon PA schváleným léčivým přípravkem a byl použit pro léčení sledovaných včelstev.

poměrně snadná aplikace, ke které nejsou potřebné hlubší znalosti biologie kleštíka včelího. Používání syntetických akaricidů s sebou ale přináší také značné nevýhody v podobě kontaminace včelích produktů (Wallner, 1999) a zejména také možnost vzniku rezistence kleštíka vůči těmto akaricidům působením reziduí obsažených ve vosku, což by mohlo způsobit vážné problémy při tlumení varroózy (Fries et al., 1998).

4.3 Jiné směry v boji s varroózou

V posledních 20 letech se výrazně zvýšila rezistence kleštíků vůči syntetickým akaricidům (Elzen et al., 1998). Z toho důvodu se k léčení včelstev začaly používat také organické akaricidy: kyselina mravenčí, kyselina šťavelová, kyselina mléčná a thymol (Nanetti et al., 2003), jejichž hlavní výhodou malá pravděpodobnost vzniku rezistence i při opakovaném používání (Rosenkranz et al., 2010). Kyselinu mravenčí je možné používat i během produkčního období, jelikož jako jediný akaricid může usmrtit i roztoče v zavíčkovaném plodu (Fries, 1991) a stejně jako u ostatních organických akaricidů nedochází ke kontaminování medu nebo vosku (Bogdanov, 2006). Stejně jako u syntetických akaricidů i používání produktů na bázi přírodních látek (kyselina mravenčí, thymol) má několik nevýhod. Účinnost léčení je závislá na počasí i mikroklimatu uvnitř úlu, v neposlední řadě i na způsobu aplikace (Higes et al., 1999).

Kyselina šťavelová se od poloviny 80. let 20. století používá při tlumení varroózy ve většině zemí Evropy (Popov et al., 1989). Je vhodná především k podzimnímu ošetření, protože v tuto dobu se již obvykle ve včelstvech nevyskytuje plod. Nejpoužívanější metody aplikace jsou: pokapem, sublimací a rozprášením (Redemacher a Harz, 2006). Při pokapu se používá 60% cukerný sirup (w/v) s 4,2% kyseliny šťavelové (w/v). Tento roztok se aplikuje v množství 5 ml na každou mezeru mezi rámkami obsazenou včelami (Nanetti et al., 2003), maximálně však v celkovém množství 30 – 50 ml na úl v závislosti na síle včelstva (Redemacher a Harz, 2006). Průměrná účinnost této metody je 96,8 % (Nanetti et al., 2003). Při aplikaci pomocí sublimace je zapotřebí přístroje k sublimaci dihydrátu kyseliny šťavelové, která může být ve formě krystalů, kapslí nebo tablet (Redemacher a Harz, 2006). K sublimaci dochází v prostoru úlu za použití 1 – 2 g dihydrátu kyseliny šťavelové. Průměrná účinnost této metody je 95 % (Charriere, 2004). Metoda rozprášení je založena na aplikaci roztoku s 3% koncentrací dihydrátu kyseliny šťavelové přímo na včely v množství 2,5 – 4,0 ml na každou stranu rámků. Účinnost této metody je až 98,8 % (Charriere, 2004).

Kyselina mléčná se aplikuje rozprášením podobně jako kyselina šťávelová. Pro aplikaci se používá 15% roztok v množství 8 ml na každou stranu rámu obsazeného včelami. Účinnost se pohybuje mezi 94,2 – 99,8 % (Kraus a Berg, 1994).

4.4 Varroatolerance

Původní hostitel kleštíka včelího, včela východní (*Apis cerana*), si za dlouhou dobu společné koevoluce vybudovala řadu mechanismů, jimiž brání roztoči v přemnožení a následnému kolapsu včelstva. Ve včelstvech včely východní se roztoči množí pouze na trubčím plodu a to pouze v období, kdy je ve včelstvu přítomen. Pokud je však trubčí kukla napadena více samičkami, je natolik oslabena, že není schopna odstranit víčko a dostat se z buňky ven. Následkem toho umírá spolu s roztoči uvnitř buňky. Takto může být usmrcena až čtvrtina množících se roztočů (Rath, 1999). Při napadení dělničího plodu se samičkám roztoče nevytvářejí oocyty, což zamezí jejich rozmnožení. Co způsobuje tuto dysfunkci, není dosud zcela jasné. Tyto obranné strategie jsou specifické pouze pro včelu východní (Boot, 1999). Některé obranné mechanismy, jichž využívá včela východní, však existují v menší míře i u včely medonosné (Boecking a Spivak, 1999).

4.5 Hygienické chování

Hygienické chování včel spočívá v nalezení a odstranění mrtvého nebo nakaženého plodu nebo plodu, který je napaden roztočem (Rosenkranz et al., 2010). Toto chování je silně ovlivněno přírodními faktory, např. výpadek snůšky má za následek omezení reakcí na mrtvý plod a jeho odstraňování. Hygienické chování včelstva se dá zjistit pomocí hygienického testu, kdy je část zavíčkovaného plodu usmrcena přímo v buňce, aniž by došlo k jejímu odvíčkování, např. propíchnutím (pin test) nebo zmražením. Následně se plod vrátí zpět do včelstva a v předem stanovených časových intervalech je kontrolován počet vyklizených buněk (Boecking a Spivak, 1999). Jak uvádí Spivak a Gilliam (1998) existuje souvztažnost mezi mírou odstraňování plodu mrtvého a plodu napadeného kleštíkem. Včelstva, která mají dobré výsledky hygienického testu, odstraňují podstatně více plodu napadeného kleštíkem, než včelstva se špatnými výsledky. Experimenty bylo zjištěno, že odstraňování mrtvého plodu mají na starosti včely staré 15 až 16 dní. K detekci mrtvého plodu včely využívají mechanické a chemické vjemy (Boecking a Spivak, 1999), zatímco k detekci plodu napadeného roztočem využívají čichové vjemy (Masterman et al., 1998). Odstraněním napadeného plodu dochází k přerušení rozmnožovacího cyklu, prodloužení foretické fáze, v některých případech až k smrti roztoče. Experimentálně bylo zjištěno,

že 61,3 % roztočů, kteří se nalézali uvnitř buněk při odstraňování plodu, se přemístili na jiný plod, 14,6 % se uchytilo na dospělých včelách, 24,6 % bylo nalezeno mrtvých na úlových podložkách a 10,9 % bylo zabito včelami při čištění buněk (Boecking a Spivak, 1999).

Dalším příkladem obrany proti kleštíkovci je tzv. grooming, česky by se toto chování dalo nazvat „kartáčování“. Spočívá v mechanickém odstraňování roztoče z vlastního těla (auto-grooming) a nebo z těl ostatních včel (allo-grooming) za pomoci nohou a kusadel. Pokud má na sobě napadená včela roztoče v místech, odkud není schopna ho sama dostat, začne rychle třepat zadečkem, toto chování je nazýváno grooming-dance. Vyvolá reakci okolních včel, které z ní roztoče odstraní (Boecking a Spivak, 1999). Bylo vyzorováno, že na grooming se specializují konkrétní dělnice, které tuto činnost vykonávají po většinu svého života a nikdy se z nich nestanou létavky (Moore et al., 1995). Roztoči bývají při groomingu poraněni. Nejčastějším poraněním je amputace nohou, ale byly také pozorovány včely, které roztoče rozdrtily svými kusadly (Thakur et al., 1997). Určit míru groomingu ve včelstvu je poměrně obtížné. Je to možné podle počtu poškozených roztočů na úlové podložce, takto získaný údaj ale může být zkreslený, jelikož k poškození roztočů dochází také při jejich odstraňování z buněk, nebo přímo na podložkách, pokud k nim mají přístup mrchožrouti (Boecking a Spivak, 1999).

V 80. letech minulého století se proti šíření kleštíka začala používat chemická léčiva. Kromě nevýhod popsanych v kapitolách 4.2 a 4.3, mají za následek odstranění selekčního tlaku na včelu i roztoče, a zabraňují tak vzniku vyváženého vztahu mezi parazitem a hostitelem, tak jako je tomu u včely východní (Fries et al., 2006). Schopnost přežít napadení kleštíkem byla pozorována také u některých divoce žijících včelstev v několika různých oblastech Evropy. Toto zjištění vedlo ke studiu přežití napadených včelstev bez léčení proti varoóze pomocí tzv. bond testů. Při bond testu jsou včelstva izolována a nejsou u nich prováděny žádné chovatelské zásahy. První byl proveden v r. 1993 ve Francii, další pak od r. 1999 ve Švédsku (Büchler, 2010), ten byl zahájen na ostrově Gotland se 150 včelstvy. Tato včelstva byla ponechána bez léčení a jakýchkoliv chovatelských zásahů. V prvních třech letech došlo ke značné redukci populace a v roce 2002 bylo zimováno pouze 17 včelstev. Po šesti letech se populace stabilizovala a tvořilo ji 13 včelstev, z toho 5 bylo původních a zbývajících 8 tvořily roje z původních včelstev (Fries et al., 2006).

4.6 Selektce odolné populace včel

Selektivní chov varroatolerantních včel je pravděpodobně jediným dlouhodobým řešením kleštíkovitosti (Rosenkranz et al., 2010). Za odolnost se považuje schopnost včelstva přežít napadení kleštíkem bez léčení (Büchler, 2010). Výsledky pokusů ve Francii a na Gotlandu jasně prokazují, že schopnosti včel vedoucí k varroatolerantnímu chování jsou dědičné a je možné je předávat dalším generacím (Locke, 2012). Selektce včelstev vykazujících varroatolerantních chování probíhá ve většině evropských států na úrovni jednotlivých chovatelů. V Německu byl v roce 2003 spuštěn program, který má podporovat selekci včelstev odolných vůči kleštíkovitosti a jiným nálezům. Do programu je každý rok zapojeno přibližně 150 včelařů s více než 2000 včelstvy (Büchler, 2010). Významnou osobností v oboru selektce včelstev je John Kefuss, který se svým partnerem chová v Chile 4000 včelstev. V tomto chovu jsou včelstva testována nejdříve na pylovou snůšku a poté na hygienické chování a následně na varroatoleranci. Vyhovujících včelstev je ale jen malá část. Jak uvádí Kefuss na příkladu selektce, do které bylo zařazeno 430 včelstev, z nichž bylo vybráno pouze 20 včelstev (Prýmas, 2009).

4.7 Metody vyšetření intenzity varoózy

Pravděpodobně nejrozšířenější metodou je odečítání přirozeného spadu kleštíků na úlové podložce (Kamler, 2014). Pro klasické úly a nástavkové úly s plným dnem se používá vícevrstvá podložka, která je tvořena samotnou podložkou pro zachycení roztočů a dvěma vrstvami síťoviny. První s velikostí ok 15×15 mm a druhá s velikostí ok 3×3 mm. Jejich úkolem je zamezit včelám v přístupu k roztočům na podložce a jejich následnému vynášení z úlu. U moderních úlových sestav se používají varroa dna. Spodní strana varroa dna je zasíťovaná, pod tímto sítem je prostor pro zasunutí podložky, kterou je možné jednoduše z úlu vytáhnout bez jakéhokoliv kontaktu se včelami (Kamler a Veselý, 2010). Pro snazší počítání většího počtu kleštíků se používají také podložky s rastrem, který rozdělí podložku na několik stejných segmentů. Kleštici se pak spočítají jen v jednom segmentu a celkový počet se odhadne podle počtu zbývajících segmentů (Varroamonitoring, 2015). S počítáním spadu na podložkách se začíná v červnu, jako limitní hodnota pro zahájení léčení se uvádí hodnota 2 – 5 samiček za 24 hodin (Kamler, 2015a). Aby nedocházelo ke zkreslování výsledků, je potřeba zamezit v přístupu mravencům, ti jsou totiž schopni kleštíky z podložek odnášet. Toho se dá dosáhnout natřením vazelíny na nohy podstavce nebo jejich ponořením do misek s olejem (Varroamonitoring, 2015).

Další metodou je SMYV ze vzorku včel za použití smáčedla (blíže v kapitole 5.2) nebo velmi jemně namletého cukru. Při použití cukru je postup velice podobný, jako při použití smáčedla. Velkou výhodou je, že nedochází k usmrcení včel a také to, že k této metodě není zapotřebí voda na proplachování vzorku. Cukr z nádoby, ve které byly včely protřepány, se přeseje přes síto, na kterém se roztoči zachytí. Vyšetření je tak možné provést přímo na včelnici (Titěra a Kamler, 2015).

Titěra (2011) popisuje metodu oklepání narkotizovaného vzorku včel. Včely se narkotizují oxidem uhličitým nebo oxidem dusným. Vzorek přibližně 500 včel je uspán ve sklenici a následně přesypán do plastového koše, ten je pak vložen do igelitového pytle. Jelikož narkóza působí také na kleštíky, je možné je pomocí třepání koše odstranit ze včel. Po otevření pytle jsou včely během několika minut schopné letu. Výhodou této metody je, že není potřeba vzorek včel usmrtit, nevýhodou je ale poměrně nízká účinnost, ve srovnání se SMYVem je to pouze 60 %.

Tab1: Srovnání metod vyšetření (Zdroj: Titěra, 2011)

Denní spad [ks]	Nález ve SMYVu 300 včel [ks]	Nález oklepáním 500 narkotizovaných včel [ks]	Odhad množství roztočů <i>Varroa destructor</i> ve včelstvu	
			Min [tisíce ks]	Max [tisíce ks]
0,5	2,5	2,5	0,5	1
1	3	3	1	1
2	3,7	3,7	1	1
5	5,3	5,3	1	2
10	7,5	7,5	2	3
20	11	11	3	4

5 Metodika

5.1 Včelnice

Pro tuto práci bylo sledováno 27 včelstev, která byla umístěna na dvou včelnicích. Včelnice v Krhové se nachází v CHKO Beskydy na jižním svahu Veřovických vrchů pod vrcholem Trojačka v nadmořské výšce 405 m n. m. Včelnice je umístěna na okraji lesa a je orientována na jih. Na této včelnici bylo sledováno 15 včelstev.

Druhá včelnice se nachází v katastru obce Poličná. Je umístěna na okraji lesa v nadmořské výšce 355 m n. m. a je orientována na jih. Na této včelnici bylo sledováno 12 včelstev.



Obr. 7: Poloha včelnic (upraveno podle mapy.cz)

5.2 SMYV

Metoda založená na kvantifikaci roztočů na dospělých včelách slouží ke stanovení míry napadení celého včelstva.

5.2.1 Odběr vzorků

Včely z plástu s plodem byly vybrány jako reprezentativní vzorek z pokusných včelstev. Prudkým trhnutím rádku byly včely setřepány na fólii. Po setřepání včel byla provedena kontrola přítomnosti matky. Jednotlivé vzorky byly uchovány v polypropylenových uzavíratelných sáčkách. Včely byly okamžitě usmrceny 3 ml technického benzínu. Tentýž den

byly vzorky zpracovány, aby bylo zabráněno degradaci biologického materiálu. Vzorky byly odebrány 18. 5. 2014, 14. 6. 2014, 9. 7. 2014, 24. 8. 2014, 18. 10. 2014

5.2.2 Zpracování vzorků

Zvážený vzorek byl přesypán do prázdné sklenice o objemu 0,7 l, následně bylo přidáno několik kapek detergentu. Sklenice byla dolita vodou, uzavřena víčkem a důkladně protřepána, aby došlo k oddělení kleštíků od včel. Jednotliví kleštíci byli kvantifikováni s pomocí sít původně určených k cezení medu, protože velikost ok vyhovuje i pro zachycení kleštíků. Přepočet na procentuální napadení se provede podle následujícího vzorce: $p = \frac{r}{v} \cdot 10$ [%]

- p populace roztočů ve včelstvu
- r počet roztočů v odebraném vzorku
- v hmotnost včel

Průměrná hmotnost včely je 100 mg (Veselý et al., 2009)



Obr. 8: Samičky *Varroa destructor* zachycené na sítu (Zdroj: vlastní foto)

5.3 Vyšetření plodu

Vzorky pro vyšetření plodu byly odebrány 18. 5. 2014 a 9. 7. 2014 na včelnici v Krhové. V prvním termínu byl odebrán trubčí plod, ve druhém pak plod dělničí. Pro vyšetření byl vybírán plod ve stádiu fialových očí. Část plástu s dostatečnou plochou plodu byla z rámků

odřezána nožem a vložena do označeného polypropylenového uzavíratelného sáčku a ještě týž den zamražená (-20 °C) pro pozdější zpracování.

Buňky byly odvíčkovány pomocí jehly a po vyjmutí kukly byla tato spolu s víčkem a prostorem buňky prohlédnuta na přítomnost roztoče pod binokulární lupou. Byly rozlišovány 3 stavy: buňka bez roztoče, buňka s jedním roztočem, buňka s více roztoči. Na přítomnost roztoče často odkazovaly jeho výkaly na stěnách buňky.



Obr. 9: Samička *Varroa destructor* uvnitř trubčí buňky (Zdroj: vlastní foto)



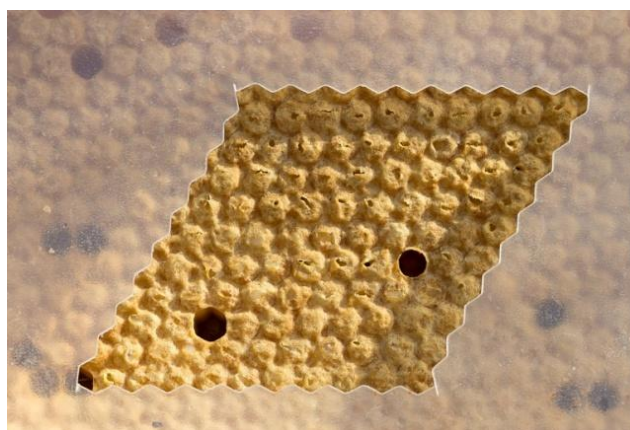
Obr. 10: Samička *Varroa destructor* na kukle trubce (Zdroj: vlastní foto)

5.4 Hygienický test

Hygienický test byl proveden 4. 7. 2014 na pokusných včelstvech na včelnici v Krhové. Ze včelstva byl vybrán rámeček s dostatečnou plochou zavíčkovaného plodu. Pomocí šablony o velikosti 10×10 buněk byla vybrána co nejkompaktnější plocha plodu. Za použití jehly byl plod usmrcen. U každého rámečku byl zaznamenán počet volných buněk ve vybrané ploše, aby nedošlo ke zkreslení při výpočtu. Rámeček s usmrceným plodem byl označen pro lepší orientaci při následné kontrole a vložen zpět do včelstva.



Obr. 11: Plodový rámeček s pomůckami pro hyg. test (Zdroj: vlastní foto)



Obr. 12: Hygienický test – detail (Zdroj: vlastní foto)

Kontrola vzorků byla provedena po 12, 24 a 36 hodinách. Při každé kontrole byl zaznamenán počet buněk vyčištěných od usmrceného plodu. Pro výpočet hygienického testu byl použit následující vzorec:

$$\text{HYG} = \frac{(N1-N0) \cdot \left(\frac{T1}{2}\right) + (N2-N1) \cdot (T1+T2)/2 + (N3-N2) \cdot (T2+T3)/2 + (P-N3-NL) \cdot (T3+12)}{P-N0-NL} + \frac{NL \cdot T3}{N3-N0} \text{ (HG)}$$

- P počet buněk testované plochy plástu
- N0 počet buněk bez kukel v testované ploše na začátku testu
- T1 časový interval od zahájení testu do první kontroly
- N1 počet buněk bez kukel i jejich zbytků v testované ploše při první kontrole
- T2 časový interval od zahájení testu do druhé kontroly

- N2 počet buněk bez kukel i jejich zbytků v testované ploše při druhé kontrole
- T3 časový interval od zahájení testu do třetí kontroly
- N3 počet buněk bez kukel i jejich zbytků v testované ploše při třetí kontrole
- NL počet úplně zavíčkovaných buněk při třetí kontrole

Hodnota HG vyjadřuje, kolik času v hodinách potřebuje včelstvo k vyklizení každé usmrčené kukly. Jako dobrá jsou hodnocena včelstva, u nichž je hodnota HG nižší než 20 (Čermák, 2001)

5.5 Spad

U všech sledovaných včelstev bylo použito zasíťované varroa dno vybavené úlovou podložkou používanou pro odečítání spadu. Množství roztočů na podložkách bylo kontrolováno pravidelně v 7 až 14 denních intervalech, při léčení častěji.



Obr. 13: Úlová podložka (Zdroj: vlastní foto)



Obr. 14: Spad roztočů na podložce – detail (Zdroj: vlastní foto)

5.6 Aplikace léčiv

Léčba byla prováděna léčivým přípravkem Gabon. Na včelnici v Krhové byl použit Gabon PF s účinnou látkou tau-fluvalinate. Do včelstev byl vložen 18. 7. 2014. Na včelnici v Poličné byl použit Gabon PA s účinnou látkou acrinathrin tau-fluvalinate. Do včelstev byl vložen 12. 7. 2014. Gabony byly aplikovány v podobě dýchových destiček napuštěných účinnou látkou. Na každé včelstvo byly použity 2 ks. Destičky byly zavěšeny na háčcích v rámkových mezerách na okraji plodového tělesa tak, aby včely měly přístup k oběma stranám destičky. Doba aplikace Gabonů byla na včelnici v Krhové 36 dní, na včelnici v Poličné 31 dní.

Na včelnici v Krhové byla provedena dodatečná léčba kyselinou mravenčí u včelstev 141, 144, 166 z důvodu trvajících vysokých hodnot spadu. Pro aplikaci kyseliny mravenčí byly zvoleny odpařovače Yannick. Odpařovače byly naplněny 150 ml 65% kyseliny mravenčí a umístěny na horní loučky vrchních nástavků. Odparné plochy byly orientovány dolů. Odpařovače byly do včelstev vloženy 7. 9. 2014 na dobu 1 týdne.

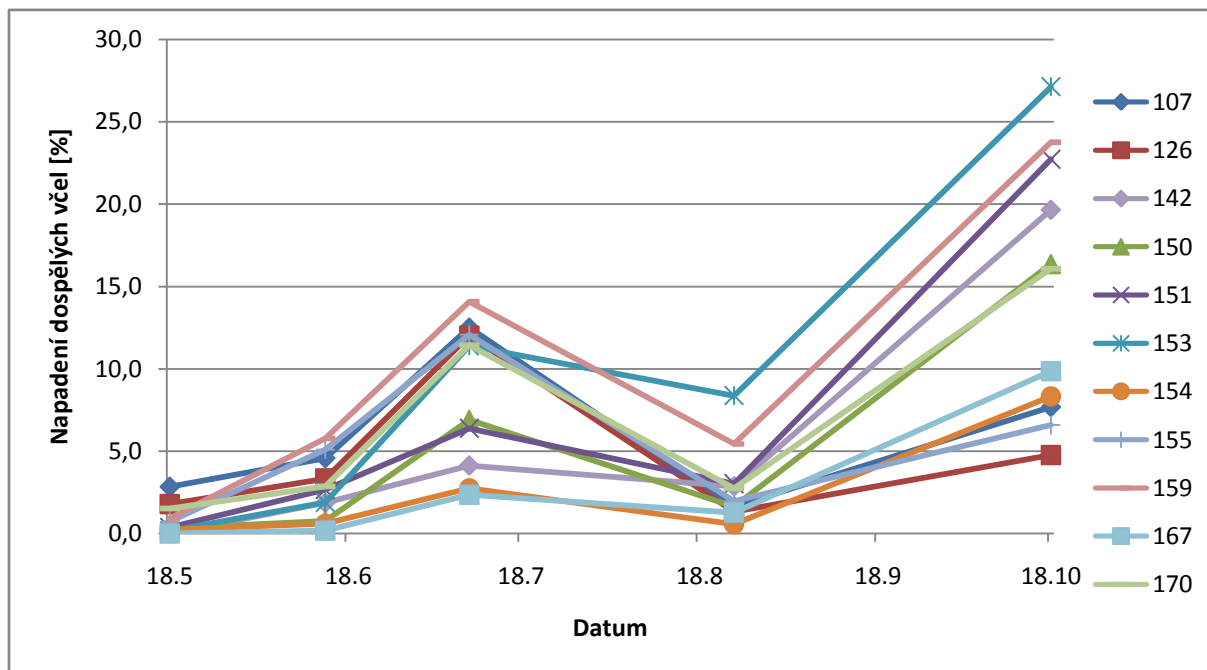
5.7 Vyhodnocení a statistické zpracování dat

Statistické vyhodnocení bylo provedeno v programu QC Expert 2.9 (test normality dat, studentův t-test, Pearsonův korelační koeficient a základní popisná statistika), krabicové grafy byly vytvořeny v softwaru OriginPro 8.0. Rozdíly ve zjištěných hodnotách byly považovány za statisticky významné, jestliže dosažená hladina pravděpodobnosti (p) byla nižší, než 5%.

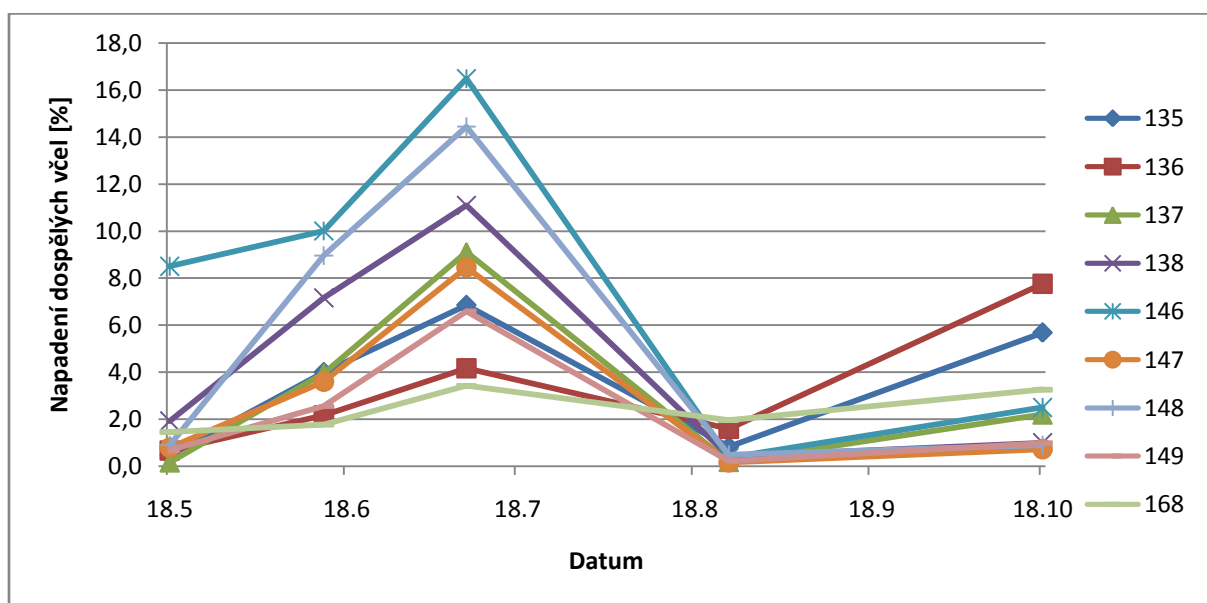
6 Výsledky

6.1 SMYV

Výsledky napadení včelstev vyšetřených metodou SMYV uvádí následující grafy.



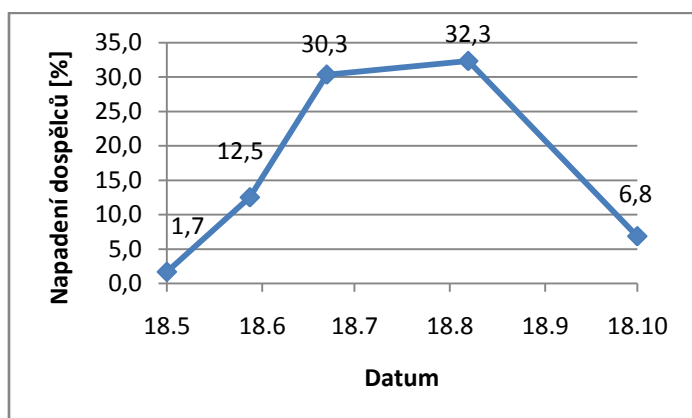
Graf 1. Průběh napadení dospělých včel jednotlivých včelstev na včelnici v Krhové, čísla v legendě udávají čísla sledovaných včelstev, Gabon PF (účinná látka tau-fluvalinát) byl aplikován v období od 18. 7. do 23. 8. 2014



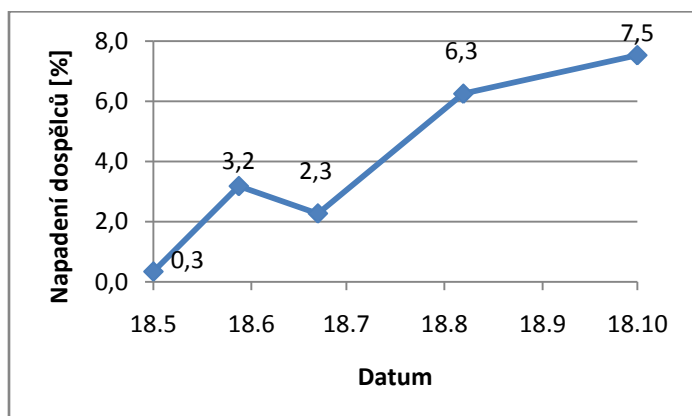
Graf 2. Průběh napadení dospělých včel jednotlivých včelstev na včelnici v Poličné, čísla v legendě udávají čísla sledovaných včelstev, Gabon PA92 (účinná látka acrinathrin) byl aplikován v období od 12. 7. do 12. 8. 2014

U většiny sledovaných včelstev průběh napadení v prvních 3 měsících pozorování rostl. Po aplikaci Gabonu napadení kleslo. Po ukončení léčení je patrné opětovné zvýšení napadení dospělých včel.

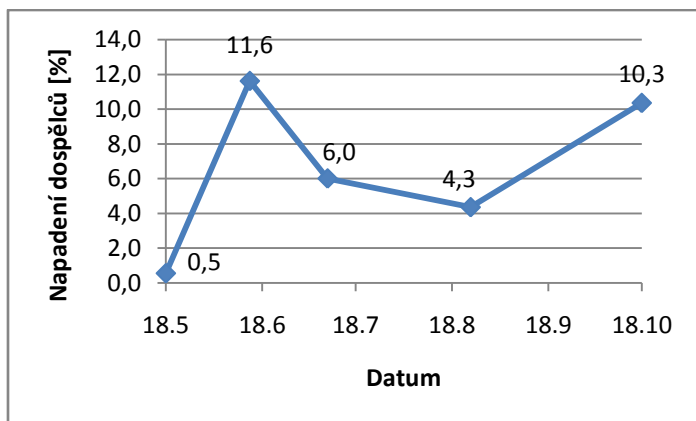
Průběh napadení dospělých včel u včelstev 134, 141, 144, 166, 160, 161 (grafy 3 - 8) se lišil od ostatních včelstev. U včelstva 144 a 160 dochází v prvním měsíci sledování k výraznému nárůstu napadených včel. Zatímco třetí vyšetření u včelstva 160 ukázalo snížení míry napadení téměř na polovinu předchozího, ve včelstvu 144 pokračuje trend výrazného růstu foretických roztočů. U včelstev 144, 166, 161 dochází k růstu napadení i v období léčení. U včelstva 144 dochází k výraznému poklesu napadení až v posledním období sledování. Mírný pokles je patrný také u včelstva 161. U včelstev 166 a 160 naopak napadení roste podobně jako u většiny sledovaných včelstev. U včelstev 134 a 141 je patrný nárůst míry napadení ve všech sledovaných obdobích.



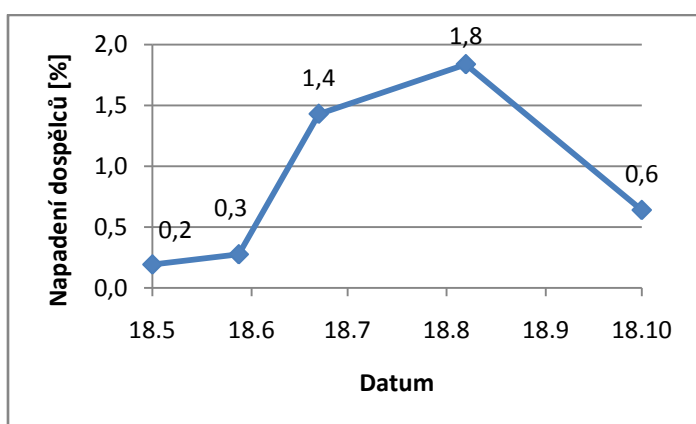
Graf 3. Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 144



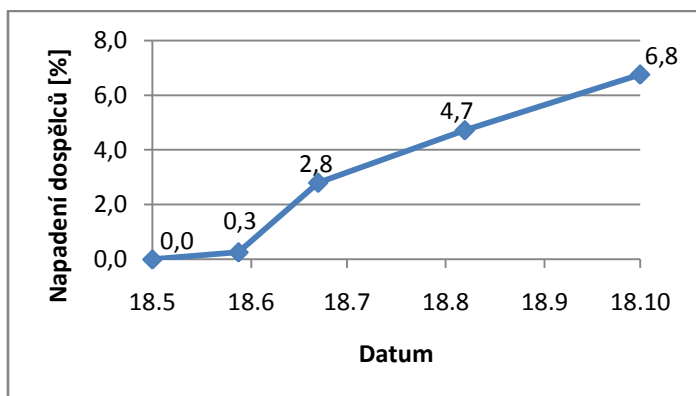
Graf 4. Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 166



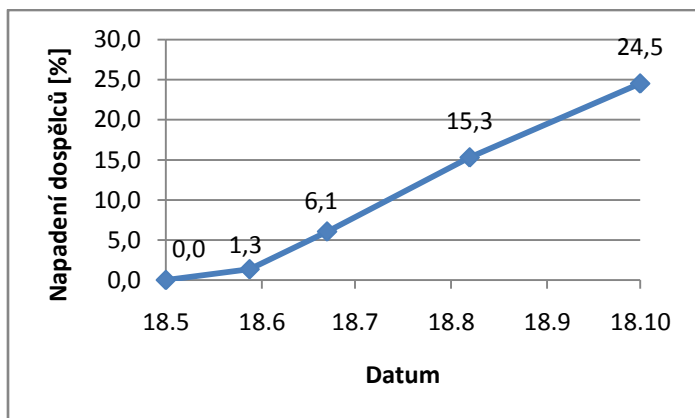
Graf 5. Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 160



Graf 6. Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 161

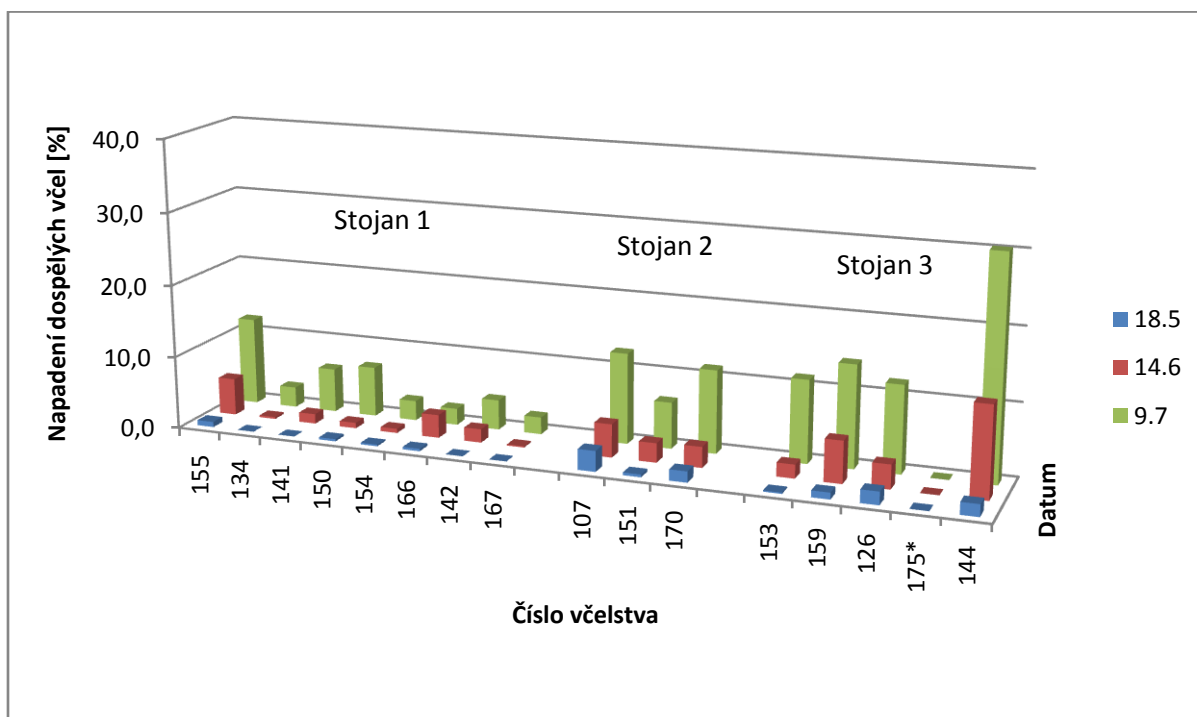


Graf 7. Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 134

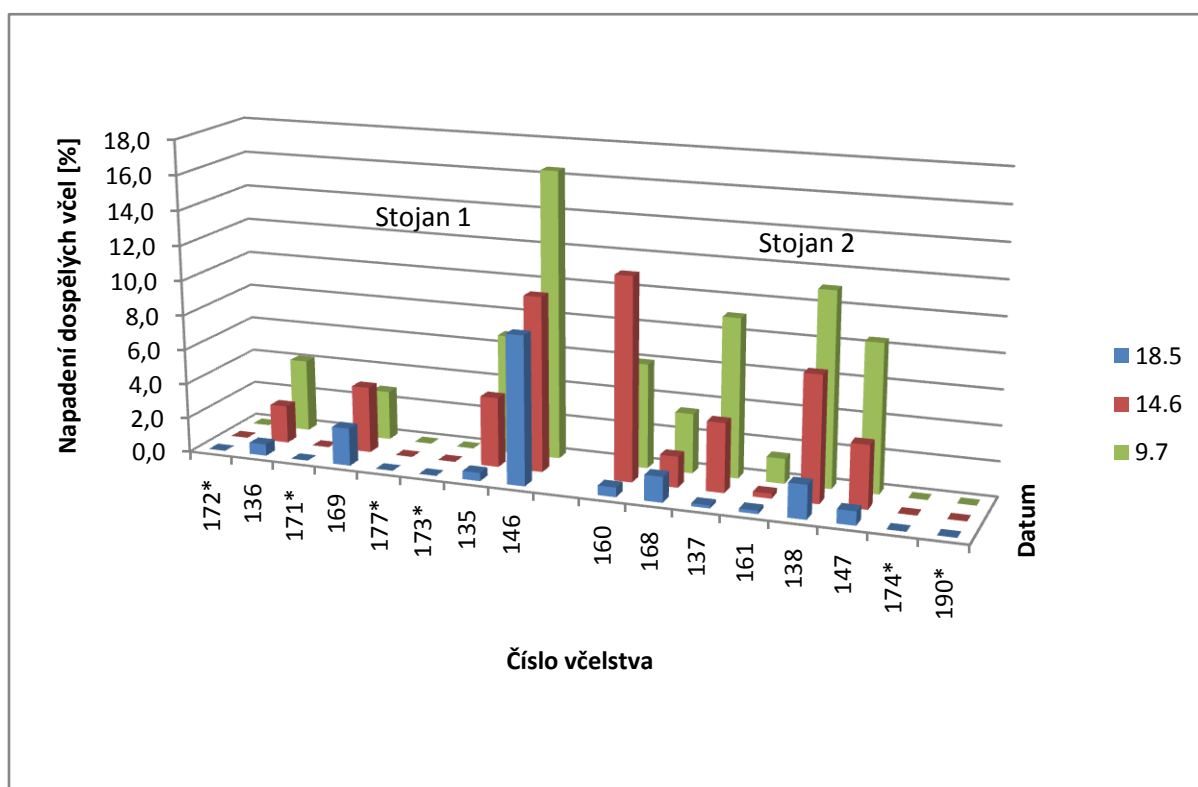


Graf 8. Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 141

Včelstva jsou na včelnici umístěna vedle sebe na jednotlivých stojanech. Včelstva na včelnicích se vzájemně ovlivňují například zalétáváním včel, proto bylo sledováno napadení jednotlivých včelstev s ohledem na jejich umístění na stojanu na včelnici.

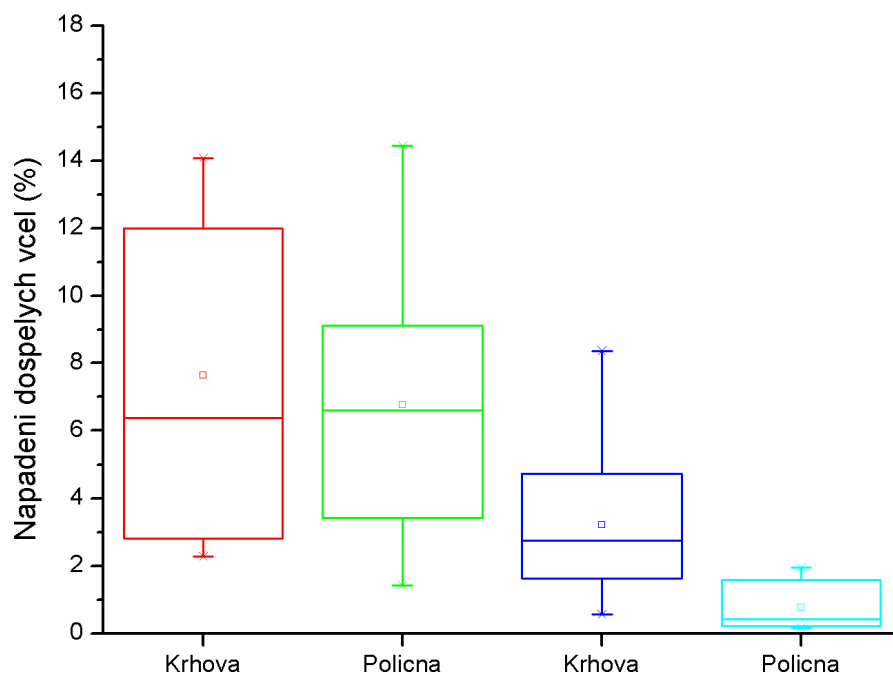


Graf 9. Časový průběh napadení dospělých včel na včelnici Krhová – situace na jednotlivých stojanech



Graf 10. Časový průběh napadení dospělých včel na včelnici Poličná – situace na jednotlivých stojanech

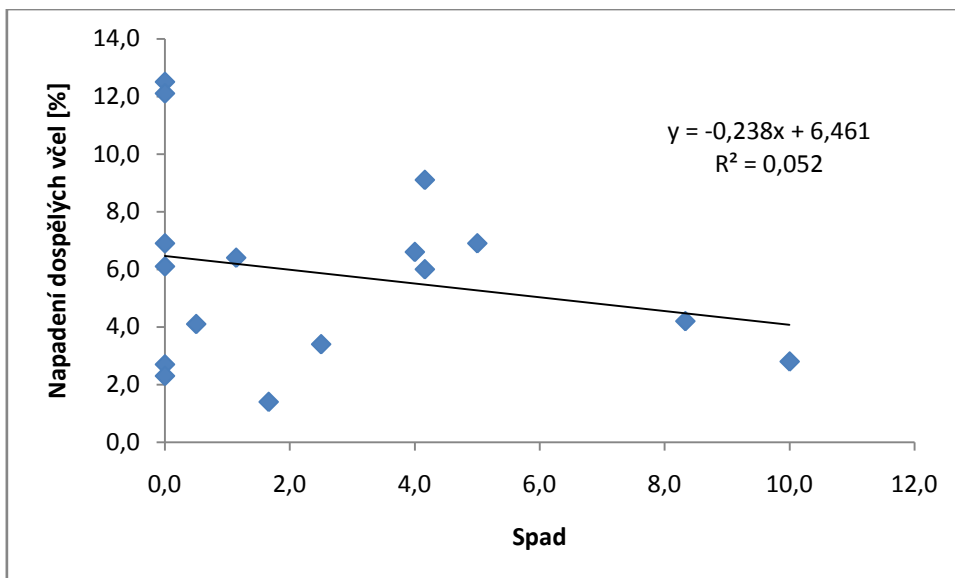
Pro časový průběh napadení dospělých včel byly použity výsledky SMYVů provedených v květnu, červnu a červenci. Po červencových odběrech vzorků byly do včelstev vloženy Gabony, proto výsledky následných SMYVů nemohly být použity, jelikož by nereflektovaly přirozený vývoj populace kleštíků ve včelstvech. Včelstva označená hvězdičkou jsou oddělky. U oddělků napadení dospělých včel nebylo sledováno, protože vyšetření pomocí SMYVů by pro tato malá včelstva představovalo příliš velkou zátěž. U většiny sledovaných včelstev napadení v průběhu času roste. Pouze u včelstva 160 napadení mezi 18. 5. 2014 a 14. 6. 2014 výrazně klesá z 11,6 % na 6,0 %.



Graf 11. Napadení dospělých včel na jednotlivých včelnicích před léčením (červená a zelená) a po léčení Gabony (modrá a tyrkysová)

Napadení dospělých včel bylo na obou včelnicích stejné (Studentův t-test, $p > 0,05$). Způsob aplikace léčiv, stejně jako čas jejich vložení do včelstev a délka léčení byly stejné, tudíž je možné porovnat účinnost těchto léčiv. Na včelnici v Krhové byl použit Gabon PF, v Poličné Gabon PA. Po ukončení léčení byly provedeny SMYVY, které prokázaly rozdílnou míru napadení dospělých včel (t-test, $p < 0,001$). Lze tedy předpokládat rozdílnou účinnost použitých léčiv.

6.2 Korelace přirozených denních spadů a napadení dospělých včel (SMYV)



Graf 12. Korelace napadení dospělých včel a spadu na podložky 9. 7. 2014

Hodnota korelačního koeficientu r je nízká ($r = 0,22$) tudíž mezi napadením dospělých včel a spadem není vzájemná závislost. Z výpočtu korelace byla vyloučena včelstva 144, 153, 159, 167 jelikož na podložkách byli pozorováni mravenci, díky nimž mohou být výsledky zkreslené.

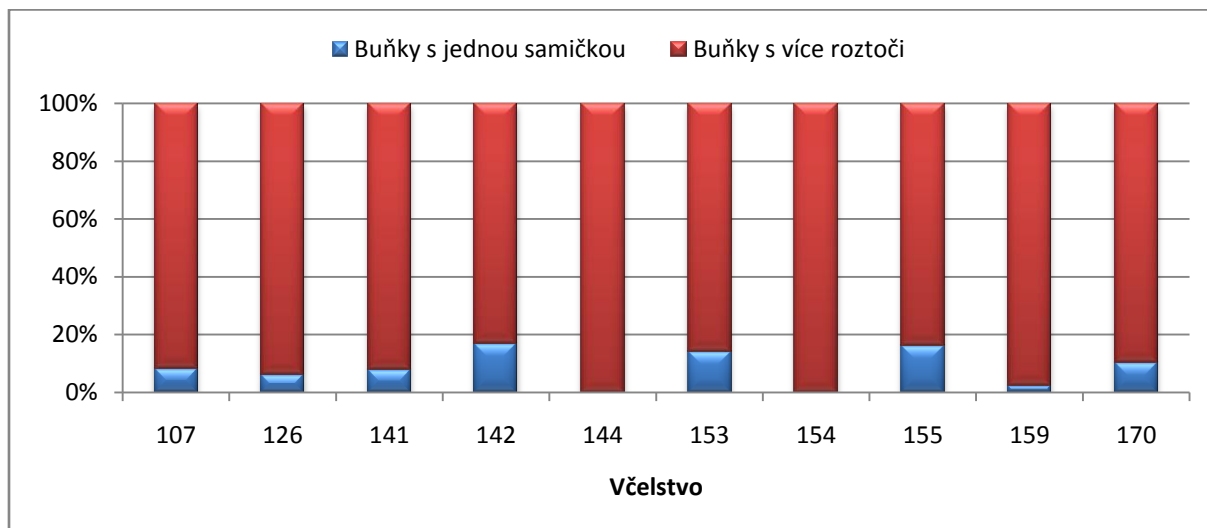
6.3. Vyšetření včelího plodu

Tab. 2 Napadení trubčího plodu (18. 5. 2014)

Včelstvo	Napadení plodu [%]
107	4,0
126	9,8
134	2,2
141	2,2
142	1,0
144	20,4
153	20,4
154	0,0
155	9,8
159	4,4
167	0,0
170	3,8

Při vyšetření trubčího plodu v květnu byla zjištěna nízká míra napadení. Pouze u včelstev 144 a 153 bylo napadení relativně vysoké a to 20,4 %

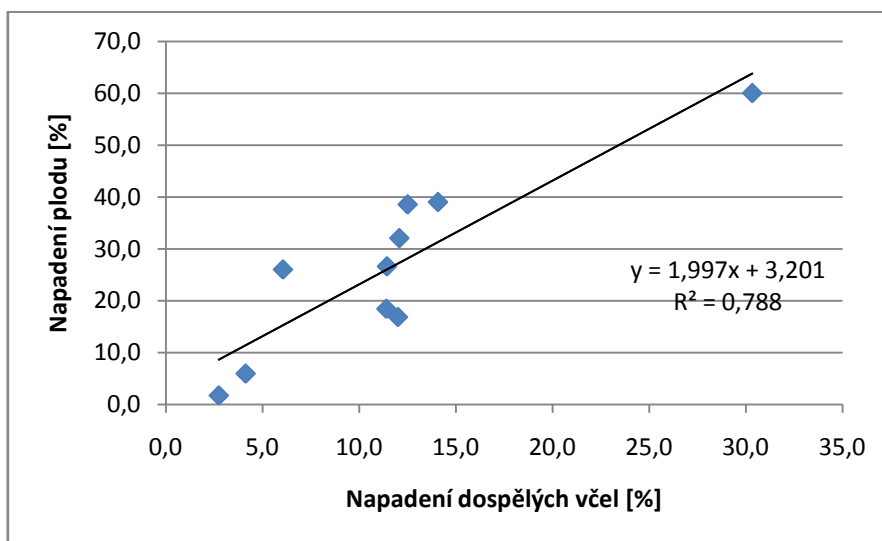
Poměr mezi buňkami dělničího plodu, v nichž se nacházelo více roztočů a buňkami, které obsahovaly pouze jednu samičku, ukazuje množství prokazatelně infertilních samiček kleštíka včelího na dělničím plodu.



Graf 13. Porovnání napadení zavíčkovaného dělničího plodu odebraného 9. 7. 2014

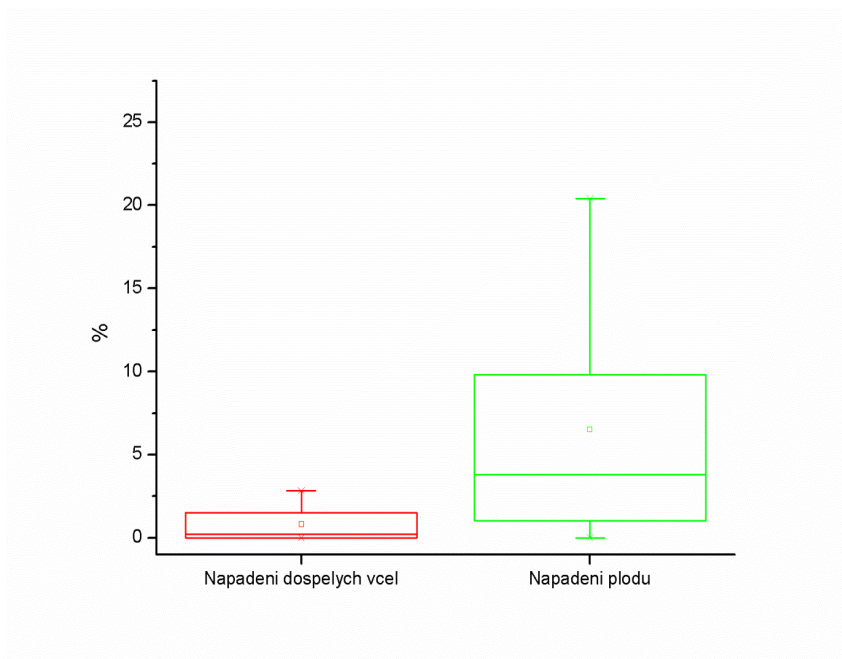
Buňky, které obsahovaly pouze jednu nemnožící se samičku roztoče, tvořily 0,0 % (včelstva 144, 154 až 16,7 % (včelstvo 142) z celkového množství napadených buněk.

Pro zjištění korelace napadení dělničího plodu a napadení dospělých včel byl spočítán korelační koeficient a závislost byla vynesena do grafu 14.

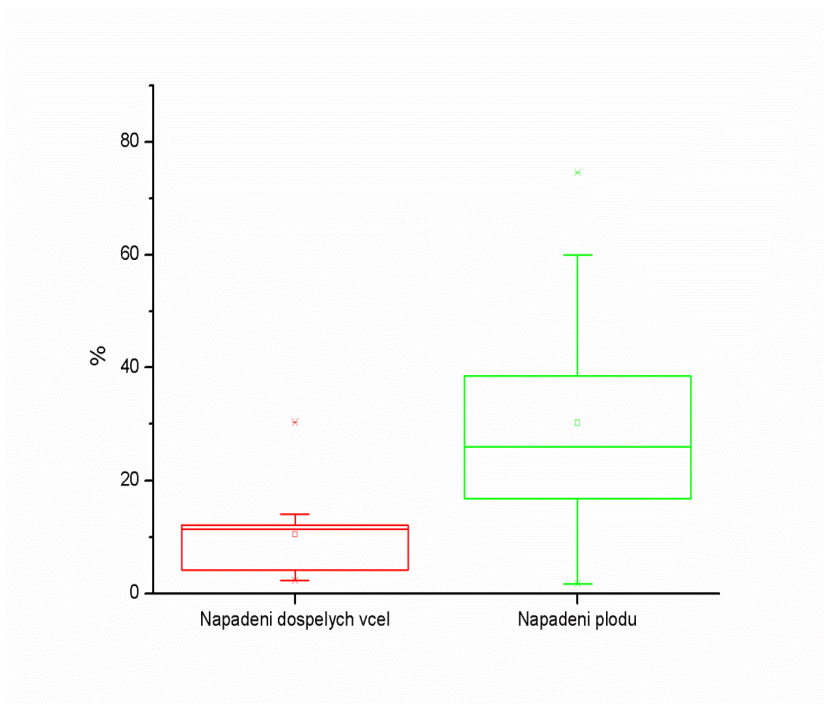


Graf 14. Korelace napadení zavíčkovaného dělničího plodu a napadení dospělých včel.

Vzorky byly odebrány ve stejný den. Korelační koeficient je $r = 0,89$ lze tedy pozorovat lineární závislost mezi mírou napadení zavíčkovaného plodu a dospělých včel. Závislost ovlivňuje hodnota vysokého napadení dospělých včel (30 %), takto silně napadené včelstvo je již však velmi ohroženo. Při napadení dospělých včel 10 - 15 % se pohybuje napadení zavíčkovaného plodu mezi 17 - 39 %.



Graf 15. Srovnání napadení dospělých včel s napadením trubčího plodu v květnu



Graf 16. Srovnání napadení dospělých včel s napadením dělničího plodu v červenci

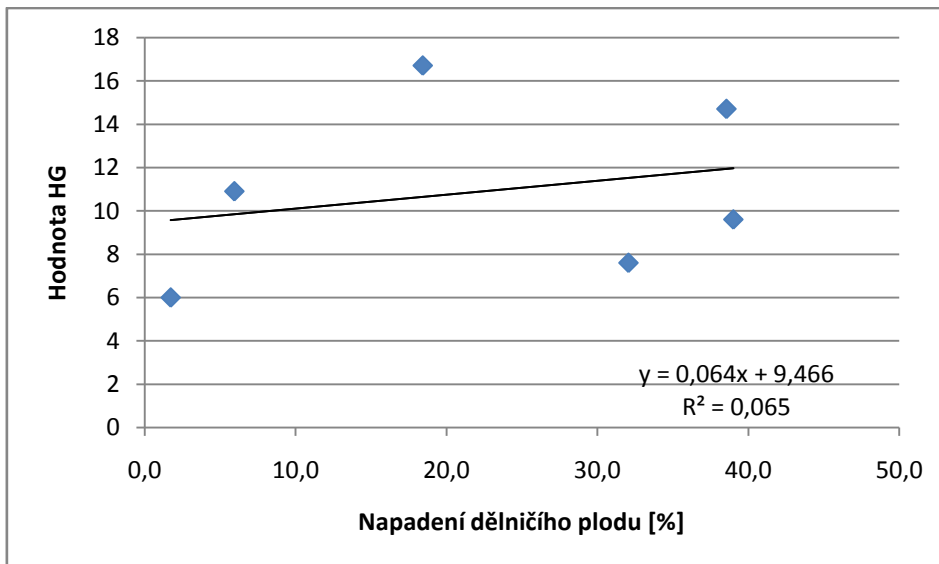
V květnu byly odebrány vzorky trubčího plodu, jelikož se u něj očekávalo větší napadení, než u plodu dělničího ve stejnou dobu (Le Conte et al., 1989). I když byl trubčí plod napaden relativně málo, byla míra napadení větší než u dospělých včel. V červenci byl plod napaden opět více než dospělé včely. Napadení dělničího plodu v červenci dosahuje průměrné hodnoty přibližně 30 %. Trubčí plod v červenci nemohl být testován, jelikož se již ve sledovaných včelstvech nevyskytoval v dostatečné míře.

6.4. Hygienický test

Tab. 3. Výsledky hygienického testu (HG)

Včelstvo	Počet volných buněk	Kontrola po 12 h.	Kontrola po 24h	Kontrola po 36h	Hodnota HG
155	39	92	100	100	7,6
150	2	64	100	100	10,4
154	4	100	100	100	6
166	18	97	100	100	6,4
142	6	62	100	100	10,9
107	9	37	97	100	14,7
153	5	17	98	100	16,7
159	21	79	97	100	9,6
169	10	63	82	100	13,3
146	5	85	100	100	7,9
161	7	87	100	100	7,7

Hodnota HG vyjadřuje, kolik času v hodinách potřebuje včelstvo k vyklizení každé usmrčené kukly. Jako dobrá jsou hodnocena včelstva, u nichž je hodnota HG nižší než 20. Zjištěné hodnoty hygienického chování se pohybovaly od 6,0 do 16,7, to znamená, že včelstva, u nichž byl proveden hygienický test, vykazují velmi dobrý hygienický pud (Čermák, 2001).



Graf 17. Korelace hodnot HG a napadení dělničího plodu

Koeficient korelace $R = 0,25$. Vztah mezi hygienickým chováním a mírou napadení dělničího nebyl prokázán, výpočet byl však proveden jen u 6 včelstev, pro ověření tohoto výsledku by bylo vhodné provést pokus u více včelstev.

7 Diskuse

Výsledky SMYVu prokazují rychlý nárůst napadení dospělých včel ve sledovaných včelstvech. U včelstev, u nichž je míra napadení dospělých včel vyšší než 10 % se předpokládá, že nebudou schopna zdárně přezimovat a je u nich potřeba zahájit léčbu (Büchler et al., 2010). Takovéto napadení bylo zjištěno již v červencových SMYVech u 11 včelstev z celkového počtu 27 sledovaných, přičemž u včelstva 144 bylo napadení dospělých včel dokonce více než 30 %. Velice zajímavý průběh napadení lze sledovat u včelstva 160. Toto včelstvo bylo schopno redukovat populaci foretických roztočů z 11,61 % v červnu na 6,0 % v červenci. Při červencových odběrech vzorků pro SMYV bylo ve včelstvu pozorováno minimum zavíčkovaného plodu a na úlovém dně a před úlem se nacházel odstraněný plod. Zdá se, že toto včelstvo vykazuje znaky varroatolerantního chování a je tak vhodné k dalšímu sledování. Situaci napadení dospělých včel podle rozmístění na stojanech ukazují grafy 9 a 10. Sledování jednoznačně neprokázalo, že by krajní včelstva byla napadena více než ostatní jak tvrdí Kamler a Veselý (2010).

Porovnání léčiv prokázalo nižší účinnost léčiva Gabon PF. Používáním syntetických akaricidů se jejich rezidua ukládají do vosku. Tato rezidua v malé míře působí na roztoče již od jejich vývoje, mohou vést ke vzniku rezistence vůči těmto látkám. Rezistence vůči tau-fluvalinátu byla popsána již v roce 1994 (Rosenkranz et al., 2010). Gabon PA, který vykazoval vyšší účinnost, již od roku 2015 nepatří mezi schválené léčivé přípravky. Lze předpokládat, že se rezistence kleštíků vůči syntetickým akaricidům bude zvyšovat, proto je potřeba hledat jiné směry v boji s kleštíkovitostí.

Při porovnání hodnot napadení dospělých včel a spadu nebyla prokázána jejich vzájemná závislost. Proto pro sledování napadení včelstev kleštíkem není možné doporučit jako jedinou metodu sledování spadu na podložky. Sledování spadu je časově nenáročné (přibližně 1 minuta na včelstvo) a lze takto zkontrolovat i velké množství včelstev za poměrně krátkou dobu. Ze získaných hodnot ale dostáváme pouze nepřesnou představu o napadení včelstev. Tyto hodnoty mohou být navíc zkresleny mravenci, kteří jsou schopni z podložky odstranit značné množství roztočů (Kamler a Veselý, 2010). Pro získání přesnější představy o míře napadení včelstva doporučuji kombinovat obě tyto metody. SMYV, ač je časově mnohem náročnější, dává přesnější představu o míře napadení včelstva. Výsledky SMYVu ovšem mohou být ovlivněny výběrem včel pro vzorek a také velikostí vzorku. Do vzorku pro SMYV se vybírají zpravidla včely nacházející se na rámcích s plodem, který je těsně před

zavíčkovaním. Na rámcích v medníku se nachází méně napadené včely (Texl a Kamler, 2015). Pokud chceme ve včelstvu zjistit více než 1% napadení dospělých včel s přesností 99 % je potřeba odebrat vzorek o velikosti nejméně 459 včel (Pirk et al., 2013).

Pro vyšetření plodu v květnu byl vybrán trubčí plod, protože se u něj předpokládala vyšší míra napadení (Le Conte et al., 1989). Míra napadení ovšem byla relativně nízká. Pouze u včelstev 144 a 153 dosahovala shodně 20,4 %. To mohlo být způsobeno rozdílnou velikostí plochy trubčího plodu ve včelstvech, kdy u včelstev s menší plochou plodu jsou roztoči koncentrováni na této malé ploše. Porovnáním celkového počtu napadených buněk dělničího plodu s počtem buněk, ve kterých se nacházelo více roztočů, bylo zjištěno, že buňky s více roztoči tvoří 83,3 - 100,0 % celkového počtu napadených buněk. Infertilita samiček kleštíka se pohybuje mezi 5 - 20 % (Martin, 1995). Toto nemohlo být jednoznačně potvrzeno, jelikož nebylo rozlišováno, zda buňky, jež obsahovaly více roztočů, obsahovaly pouze jednu dospělou samičku se svým potomstvem nebo více dospělých samiček. Prokazatelně infertilní byly samičky, jež se v buňce nacházely samy. Porovnání výsledků napadení dospělých včel a napadení dělničího plodu prokázalo závislost mezi množstvím roztočů ve fázi rozmnožování a foretických roztočů. V letních měsících se více než 90 % roztočů vyskytuje na plodu (Rosenkranz a Renz, 2003). Průměrná hodnota napadení dělničího plodu v červenci byla přibližně 28 % ovšem plod u včelstva 144 byl napaden ze 60 %. Takto vysoká míra napadení spolu s doprovodným i virovými infekcemi jako např. virus deformovaných křídel, výrazně oslabuje zimní generaci včel a šance na zdárné přezimování se u takto napadeného včelstva výrazně snižuje (Klíma, 2012). Pro stanovení míry napadení včelstva je snazší použít metodu SMYVu, která není tak časově náročná. Alternativou může být postup vyšetření plodu, který popisuje Gruna (2014). Ten nepočítá roztoče v buňce, nebo na kukle, ale podélně rozřízne plást, odstraní kukly a podle přítomnosti/nepřítomnosti výkalů kleštíka v jednotlivých buňkách určuje míru napadení plodu.

Hygienický test prokázal u sledovaných včelstev velice dobré výsledky (6,0 -16,7). Tato hodnota vyjadřuje, kolik času v hodinách potřebuje včelstvo k vyklizení každé usmrcené kukly. Jak uvádí Čermák (2001) včelstva, jejichž hodnota HG byla větší než 30 často trpí zvápenatěním plodu. Naopak u včelstev s výsledky HG pod 20 se zvápenatění plodu vyskytuje pouze výjimečně na trubčím plodu. U sledovaných včelstev zvápenatění plodu nebylo pozorováno. Nejnižší hodnotu HG (HG = 6,0) mělo včelstvo 154, které mělo vůbec nejmenší míru napadení plodu (0,0 % u trubčího plodu a 1,7 % u dělničího plodu), také během sezóny vykazovalo velice nízké hodnoty napadení dospělých včel, výraznější nárůst

prokázal až říjnový SMYV (8,3 %). To ale mohlo být způsobeno reinvazí z okolních včelstev. Porovnání hodnot hygienického pudu a míry napadení dělničího plodu neprokázalo vzájemnou závislost. To odporuje tvrzení Spivak a Reuter (2001). Hygienické chování bylo ovšem testováno pouze jednou a to jen u šesti včelstev. Pro potvrzení, nebo vyvrácení tohoto tvrzení, je nutné provést testy vícekrát během sezóny na větším vzorku včelstev.

8 Závěr

- 1) Literární rešerše je zaměřena na kleštíka včelího (*Varroa destructor*). Práce se zabývá biologií tohoto roztoče a jeho nebezpečností pro včelu medonosnou (*Apis mellifera*).
- 2) Metodou SMYV byl sledován přirozený vývoj populace foretických roztočů. V červenci již ale tato populace byla na takové úrovni, že bylo nutné zahájit léčbu, aby nedošlo ke kolapsu sledovaných včelstev. Metodou SMYV nebyla prokázána závislost velikosti populace roztočů na umístění včelstva na včelnici respektive pozici na stojanu.
- 3) Preparací trubčího plodu odebraného ze včelstva v květnu bylo zjištěno jeho relativně nízké napadení. Dále byla prokázána korelace napadení dělničího plodu s velikostí populace foretických roztočů na vzorcích odebraných v červenci.
- 4) Porovnáním hodnot denního spadu a SMYVu bylo zjištěno, že metoda odečítání denního spadu není spolehlivá a nelze ji doporučit jako jedinou metodu pro stanovení velikosti populace roztočů ve včelstvu.
- 5) SMYVy, které byly provedeny po ukončení léčení, ukázaly rozdílné snížení populace roztočů v závislosti na použitém léčivém přípravku. Po ukončení léčby začala populace roztočů opět růst.
- 6) Pomocí hygienického testu byl u sledovaných včelstev prokázán velice dobrý hygienický pud.
- 7) Z výše popsaných závěrů plyne, že k zamezení přemnožení kleštíka včelího je potřeba sledovat velikost populace roztočů již od června, kritické období nastává v červenci. Pro sledování populace se jeví jako nejvýhodnější metoda SMYV.

Seznam použité literatury

- ALBERTI, H.; HANEL, G.: *Fine structure of the genital system in the bee parasite, Varroa jacobsoni (Gamasida: Dermanyssina) with remarks on spermiogenesis, spermatozoa and capacitation*. Experimental & Applied Acarology, 1986, roč. 2, č. 1, s. 63-104
- ANDERSON, D. L.; TRUEMAN, J. W. H.: *Varroa Jacobsoni (Acari: Varroidae) is more than one species*. Experimental & Applied Acarology, 2000, roč. 24, č. 3 s. 65-189
- Beedol. *Jak na to celý rok?* [online]. 4. 12. 2014 [cit. 2015-12-4]. Dostupné z WWW: <<http://www.beedol.cz/varroaza/>>
- BOECKING, Otto; SPIVAK, Marla.: *Behavioral defenses of honey bees against Varroa jacobsoni Oud*. Apidologie 1999, roč. 30, č. 2-3, s. 141-158.
- BOECKING, Otto; GENERSCH, E.: *Varroosis—the ongoing crisis in bee keeping*. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2008, roč. 3, č. 2, s. 221-228
- BOGDANOV, Stefan.: *Contaminants of bee products I*. Apidologie 2006, roč. 37, č. 1, s. 1-18.
- BOHÁČEK, František: *ABC odchovu včelích matek*. 1. vydání. Praha : Státní zemědělské nakladatelství, 1990. 56 s. ISBN 80-209-0156-6
- BOOT, Willem J.; CALIS, Johan N. M.; BEETSMA, Joop: *Differential periods of Varroa mite invasion into worker and drone cells of honey bees*. Experimental & Applied Acarology 1992, roč. 16, č. 4, s. 295-301
- BOOT, Willem J., et al.: *Natural selection of Varroa jacobsoni explains the different reproductive strategies in colonies of Apis cerana and Apis mellifera*. Experimental & applied acarology 1999, roč. 23, č. 2, s. 133-144.
- BÜCHLER, Ralph; BERG, Stefan; LE CONTE, Yves; *Breeding for resistance to Varroa destructor in Europe*. Apidologie, 2010, roč. 41, č. 3, s. 393-408.
- CALIS, J. N. M., et al.: *Control of varroa by combining trapping in honey bee worker brood with formic acid treatment of the capped brood outside the colony: putting knowledge on brood cell invasion into practice*. Journal of apicultural research 1998, roč. 37, č. 3, s. 205-215.

ČERMÁK, Květoslav: *Testování čistícího pudu včel na odolnost proti chorobám plodu.*

Včelařství. 2001, roč. 54, č. 5, s. 105-107 ISSN 0042-2924

ČERMÁK, Květoslav: *Varroóza u včely východní.* Moderní včelař. 2011, roč. 8, č. 6 s. 176

ISSN 1214-5793

DONZÉ, Gérard; GUERIN, Patrick M.: *behavioral attributes and parentel care of Varroa mites parasitizing honeybee brood.* Behavioral Ecology and Sociobiology. 1994, roč. 34, č. 5, s. 305-319

DONZÉ, Gérard; HERMANN, Miriam; et al.: *Effect of mating frequency and brood cell infestation rate on the reproductive sukses of the honeybee parasite Varroa jacobsoni.*

Ecological Entomology 1996, roč. 21, č. 1, s. 17-26

ELZEN, P. J., et al.: *Fluvalinate resistance in Varroa jacobsoni from several geographic locations.* American bee journal 1998, roč. 138, č. 9, s. 674-676

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

FRIES, I.; HANSEN, H.: *Biotechnical control of Varroa mites in cold climates.* American bee journal 1993, roč. 133, č. 6, s. 435-438

FRIES, Ingemar; WALLNER, Klaus; ROSENKRANZ, Peter.: *Effects on Varroa jacobsoni from acaricides in beeswax.* Journal of apicultural research 1998, roč. 37, č. 2, s. 85-90.

FRIES, Ingemar; IMDORF, Anton; ROSENKRANZ, Peter.: *Survival of mite infested (Varroa destructor) honey bee (Apis mellifera) colonies in a Nordic climate.* Apidologie 2006, roč. 37, č. 5, s. 564-570.

GRITSCH, Heinrich: *Imkerm im Gebirge.* Přeložil D. Titěra. 1. vydání. Praha : Brázda 2010. 176s ISBN 978-80-209-0381-5

GRUNA, Bronislav: *Jde to i bez vidličky. Diagnostika trubčích plástů pomocí sledování výkalů kleštika.* Moderní včelař. 2014, roč. 11, č. 3, s. 14-15, ISSN 1214-5793

HIGES, M., et al.: *Negative long-term effects on bee colonies treated with oxalic acid against Varroa jacobsoni Oud.* Apidologie 1999, roč. 30, č. 4, s. 289-292

HRABÁK, Jaroslav: *Co můžeme vyčist z podložek*. Včelařství 2011, roč. 67, č. 2, s. 58-61, ISSN 0042-2924

CHARRIÈRE, Jean-Daniel, et al.: *The removal of capped drone brood: an effective means of reducing the infestation of varroa in honey bee colonies*. Bee World 2003, roč. 84, č. 3, s. 117-124.

CHARRIERE, J.-D.: *Aus Forschung und Praxis Bienenvertraglichkeit von Varroabehandlungen im Winter*. Schweizerische 2004, roč. 127, č. 4, s. 19-23.

IFANTIDIS, Michael D.: *Ontogenesis of the Mite Varroa Jacobsoni in Worker and Drone Honeybee Brood Cells*. Journal of Apicultural Research 1983, roč. 22, č. 3, s. 200-206

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

KAMLER, František; VESELÝ, Vladimír: *Pozor! Roztoč Varroa nespí! Věnujme včelstvům potřebnou péči!* Včelařství 2010, roč. 63, č. 7, s. 241, IISN 0042-2924

KAMLER, František: *Nepodceňujme letní monitoring výskytu Varroa destructor*. Včelařství 2014, roč. 67, č. 7, s. 191, IISN 0042-2924

KAMLER, František: *Celý rok proti varroáze*. Včelařství 2015, roč. 68, č. 7, s. 232-233 IISN 0042-2924

KLÍMA, Zdeněk: *Kontrola varoózy v létě roku 2012*. Moderní včelař, 2012, roč. 9, č. 3, s. 79-80, ISSN 1214-5793

KRAUS, Bernhard: *Preferences of Varroa jacobsoni for honey bees (Apis mellifera L.) of different ages*. Journal of Apicultural Research 1993, roč. 32, č. 2, s. 57-64

KRAUS, Bernhard; BERG, Stefan.: *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 1994, roč. 18, č. 8, s. 459-468.

KRABEC, Jan. *O registrovaných přípravcích k léčení varroázy* [online]. 11. 11. 2015 [cit. 2015-11-11]. Dostupné z WWW:< http://www.vcelarstvi.cz/files/pdf_2015/pripravky-varroaza.pdf>

- KUENEN, L. P. S; CALDERONE, N. W: *Transfers of Varroa Mites from Newly Emerged Bees: Preferences for Age- and Function-Specific Adult Bees (Hymenoptera: Apidae)*. 1997, roč. 10, č. 2, s. 213-228
- KUENEN, L.P.S; CALDERONE, N.W: *Varroa Mite Infestations in Elevated Honey Bee Brood Cells: Effects of Context and Caste*. Journal of Insect Behaviour 2000, roč. 13, č. 2, s. 201-205
- LE CONTE; et al.: *Attraction of the parasitic mite Varroa to the drone larvae of honeybees by simple aliphatic esters*. Science 1989, roč. 245 s. 638-639
- LOCKE, Barbara: *Host-Parasite Adaptations and Interactions Between Honey Bees, Varroa Mites and Viruses*. Doctoral Thesis, Uppsala, 2012
- MARTIN, S. J.: *Ontogenesis of the mite Varroa jacobsoni oud. In worker brood of the honeybee Apis mellifera L. under natural conditions*. Experimental & Applied Acarology 1995, roč. 19 č. 4, s. 199-210
- MARTIN, Stephen J.; BALL, Brenda V.; CARRECK, Norman L.: *The role of deformed wing virus in the initial collapse of varroa infested honey bee colonies in the UK*. Journal of Apicultural Research, 2013, roč. 52, č. 5, s. 251-258.
- MASTERMAN, R., et al.: *Odor discrimination by hygienic honey bees using proboscis-extension conditioning*. Am. Bee J 1998, roč. 138, s. 297-298.
- MAUL, V.; KLEPSCH, A.; ASSMANNWERTHMULLER, U.: *The tramping comb technique as part of bee management under strong infestation by Varroa jacobsoni oud*. Apidologie 1988, roč. 19, č. 2, s. 139-154.
- Ministerstvo zemědělství ČR. *Vyhláška 299/2003 Sb., o opatřeních pro předcházení a zdolávání nákaz a nemocí přenosných ze zvířat na člověka* [online]. [cit. 2015-11-2]. Dostupná z WWW:<http://eagri.cz/public/web/ws_content?contentKind=regulation§ion=1&id=55874&name=299/2003>.
- MOORE, Darrell, et al.: *A highly specialized social grooming honey bee (Hymenoptera: Apidae)*. Journal of insect behavior 1995, roč. 8, č. 6, s. 855-861.

NANETTI, Antonia, et al.: *Oxalic acid treatments for varroa control (review)*. *Apiacta*, 2003, roč. 38, č. 1, s. 81-87.

OLDROYD, Benjamin P.: *Coevolution while you wait: Varroa jacobsoni, a new parasite of western honeybees*. *Trends in Ecology & Evolution* 1999, roč. 14, č. 8, s. 312-315

PICCIRILLO, G. A.; DE JONG, D.: *Old honey bee brood combs are more infested by the mite Varroa destructor than a new brood combs*. *Apidologie* 2004, roč. 35, č. 4, s. 359-364

PIRK, Christian WW, et al.: *Statistical guidelines for Apis mellifera research*. *Journal of Apicultural Research*, 2013, roč. 52, č. 4, s. 1-24.

POPOV, E. T.; MELNIK, V. N.; MATCHINEV, A. N.: *Application of oxalic acid in varroatosis*. *Proc. XXXII Int. Congr. Apimondia, Rio de Janeiro, Apimondia Publ. House, Bucharest, 1989, 149.*

PRÝMAS, Jaroslav: *Lečit či neléčit, toť otázka. Z přednášky Dr. Keffuse na Apimondii 2009*. *Moderní včelař* 2009, roč. 6, č. 6, s. 172-173, ISSN: 1214-5793

PŘIDAL, Antonín; ČERMÁK, Květoslav: *Včelařství*. 1. Vydání. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2005. 92 s. ISBN 80-715-7850-9

RATH, Werner: *Co-adaption of Apis cerana Fabr. And Varroa jacobsoni Oud*. *Apidologie* 1999, roč. 30, č. 2, s. 97-110

RADEMACHER, Eva; HARZ, Marika.: *Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies-a review*. *Apidologie*, 2006, roč. 37, č. 1, s. 98-120

RICHARD, D.; COLIN, M. E.; LHOME, M.: *Anatomical organization of the tracheal systém of Varroa jacobsoni (Acari: Varroidae)*. *Experimental & Applied Acarology* 1990, roč. 9, č. 1-2, s. 63-72

ROSENKRANZ, Peter: *Temperaturpräferenz der Varroa-Milbe und Stocktemperaturen in Bienenvolkern an Tropenstandorten (Acarina: Varroidae/Hymenoptera: Apidae)*. *Entomol. Generalis* 1988, roč. 14, č. 2, s. 123-132

ROSENKRANZ, P.; RENZ, M.: *Varroa destructor infestation of adult bees, worker brood and drone brood during the season and consequences for treatment concepts*. *Apidologie (France)*, 2003, roč. 34, s. 509-510

ROSENKRANZ, Peter; AUMEIER, Pia; ZIEGELMANN, Bettina: *Biology and control of Varroa destructor*. Journal of Invertebrate Pathology 2010, roč. 103, č. 1, s. 96-119

RUIJTER, A. De; KAAS, J. P.: *The anatomy of the Varroa-mite. In: Varroa jacobsoni Oud. affecting honey bees: present status and needs: proceedings of a meeting of the EC Experts' Group, Wageningen, 7-9 February 1983/edited by R. Cavalloro. Rotterdam: Published for the Commission of the European Communities by AA Balkema, 1983.*

SEELAY, Thomas D.: *The Honey Bee Colony as a Superorganism*. American Scientist 1989, roč. 77, č. 6, s. 546-553

SNODGRASS, Robert E.: *Anatomy of the Honey Bee*. 1. vydání. Ithaca : Comstock Publishing Associates 1985. 352s ISBN 978-0-8014-9302-7

SPIVAK, Marla; GILLIAM, Martha.: *Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and Varroa: Part II. Studies on hygienic behaviour since the Rothenbuhler era*. Bee world 1998, roč. 79, č. 4, s. 169-186.

SPIVAK, Marla; REUTER, Gary S.: *Varroa destructor infestation in untreated honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies selected for hygienic behavior*. Journal of Economic Entomology 2001, roč. 94, č. 2, s. 326-331.

TEXL, Petr; KAMLER, František: Společný projekt Pracovní společnosti nástavkových včelařů CZ a Výzkumného ústavu včelařského v Dole k rozšíření poznatků o metodách a možnostech využití monitoringu varoózy. *PSNV*. [online]. 2. 12. 2015 [cit. 2015-12-2]. Dostupné z WWW: < http://www.psnv.cz/smyv/metodika_projektu_SMYV.pdf>

STEINER, J.: *Verteilung von Varroa jacobsoni im drohnenfreien Bienenvolk (Apis mellifera carnica)*. Apidologie 1993, roč. 24, č. 1, s. 45-50

TAUTZ, Jürgen: *Phänomen Honigbiene*. Přeložila O. Matyásková. 1. vydání. Praha : Brázda 2009. 288s ISBN 978-80-209-0376-1

THAKUR, Raj K. BIENEFELD, Kaspar; KELLER, Roland.: *Varroa defense behavior in A. mellifera carnica*. American Bee Journal 1997, roč. 137, č. 2, s. 143-148.

TITĚRA, Dalibor: *Jak monitorovat varroózu v létě?* Včelařství 2011, roč. 64, č. 7, s. 219-220
ISSN 0042-2924

TITĚRA, D.; KAMLER, F.: *Kolik roztočů trápí naše včelstvo právě teď?* Včelařství 2015, roč. 68, č. 5, s. 200-201, ISSN 0042-2924

Varroamonitoring. *Jak provádět monitoring*. [online]. 21. 11. 2015 [cit. 2015-11-21].

Dostupné z WWW:

<http://www.varroamonitoring.cz/showArticle.do?id=Projekt_Varroamonitoring_MonitoringHowTo&key=monitoringHowTo>.

VESELÝ, Vladimír; TITĚRA, Dalibor; et al.: *Včelařství*. 2. vydání, v nakladatelství Brázda první. Praha : Brázda, 2009. 272 s. ISBN 80-209-0320-8

Včelařství.cz. *Výkaz o včelařství v roce 2014*. [online]. 5. 12. 2015 [cit. 2015-12-5]. Dostupné z WWW: <http://www.vcelarstvi.cz/files/pdf_2015/statistika-2014-cr.pdf>

WALLNER, Klaus.: *Varroacides and their residues in bee products*. Apidologie 1999, roč. 30, č. 2-3, s. 235-248.

WEISS, Karel: *Der wochenende-Imker*. Přeložila A. Štorková. 2. vydání. Líbeznice : Víkend, 2010. 247s ISBN 978-80-7222-682-5

Žurnál online. *V Česku zimu nepřežila pětina včelstev, hlavně kvůli varroózy*. [online].

5. 12. 2015 [cit. 2015-12-5]. Dostupné z WWW: <<http://m.zurnal.upol.cz/prf/zprava/clanek/v-cesku-zimu-neprezila-petina-vcelstev-hlavne-kvuli-varrooze/>>

Seznam obrázků

Obr. 1 Včelí kasty

Zdroj: Přidal 2001. [online] dostupné z WWW:

<<http://user.mendelu.cz/apridal/skripta/images/kasty.gif>>

Obr. 2 Trubčí kukla napadena samičkami *Varroa destructor*

Zdroj: vlastní foto

Obr. 3 Reprodukční cyklus *Varroa destructor* na dělničím plodu

Zdroj: ROSENKRANZ, Peter; AUMEIER, Pia; ZIEGELMANN, Bettina; *Biology and control of Varroa destructor*. Journal of Invertebrate Pathology 2010, roč. 103, č. 1, s. 96-119

Obr. 4 Pohled na dorzální a ventrální stranu samičky *Varroa destructor*

Zdroj: vlastní foto

Obr. 5 Klinické projevy viru DWV na dospělé včele

Zdroj: vlastní foto

Obr. 6 Schéma metod ošetřování včelstva v průběhu roku

Zdroj: vlastní foto

Obr. 7 Poloha včelnic

Zdroj: Mapy.cz. [online] dostupné z WWW: <www.mapy.cz>

Obr. 8 Samičky *Varroa destructor* zachycené na sítu

Zdroj: vlastní foto

Obr. 9 Samička *Varroa destructor* uvnitř buňky

Zdroj: vlastní foto

Obr. 10 Samička *Varroa destructor* na kukle trubce

Zdroj: vlastní foto

Obr. 11 Plodový rámeček s pomůckami pro hyg. test

Zdroj: vlastní foto

Obr. 12 Hygienický test – detail

Zdroj: vlastní foto

Obr. 13. Úlová podložka

Zdroj: vlastní foto

Obr. 14 Spad roztočů na podložce – detail

Zdroj: vlastní foto

Seznam grafů

Graf 1 Průběh napadení dospělých včel jednotlivých včelstev na včelnici v Krhové

Graf 2 Průběh napadení dospělých včel jednotlivých včelstev na včelnici v Poličné

Graf 3 Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 144

Graf 4 Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 166

Graf 5 Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 160

Graf 6 Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 161

Graf 7 Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 134

Graf 8 Průběh napadení dospělých včel ve včelstvu 141

Graf 9 Časový průběh napadení dospělých včelstev na včelnici Krhová – situace na jednotlivých stojanech

Graf 10 Časový průběh napadení dospělých včelstev na včelnici Poličná – situace na jednotlivých stojanech

Graf 11 Napadení dospělých včel na jednotlivých včelnicích před léčením a po léčení

Graf 12 Korelace napadení dospělých včel a spadu na podložky 9. 7. 2014

Graf 13 Porovnání napadení zavíčkovaného dělničího plodu odebraného 9. 7. 2014

Graf 14 Korelace napadení zavíčkovaného dělničího plodu a napadení dospělých včel

Graf 15 Srovnání napadení dospělých včel s napadením trubčího plodu v květnu

Graf 16 Srovnání napadení dospělých včel s napadením dělničího plodu v červenci

Graf 14 Korelace hodnot HG a napadení dělničího plodu

Seznam tabulek

Tab. 1 Srovnání metod vyšetření

Zdroj: TITĚRA, Dalibor; *Jak monitorovat varroázu v létě?* Včelařství 2011, roč. 64, č. 7, s. 219-220 ISSN 0042-2924

Tab. 2 Napadení trubčího plodu (18. 5. 2014)

Tab. 3 Výsledky hygienického testu

Jméno a příjmení:	David Kovář
Katedra:	Biologie
Vedoucí práce:	RNDr. Martin Jáč, Ph.D.
Rok obhajoby:	2016

Název práce:	Vývoj populace parazitického roztoče kleštíka včelího (<i>Varroa destructor</i>) ve včelstvech včely medonosné (<i>Apis mellifera</i>)
Název v angličtině:	Development of population of the parasitic mites (<i>Varroa destructor</i>) in honey bee colonies (<i>Apis mellifera</i>)
Anotace práce:	<p>Kleštík včelí (<i>Varroa destructor</i>) je parazitický roztoč, který se z původního hostitele včely východní (<i>Apis cerana</i>) rozšířil i na včelu medonosnou (<i>Apis mellifera</i>). Tento roztoč se stal nejčastější příčinou úhynů včelstev, především v Evropě a USA působí značné ekonomické a ekologické škody. Včelaři však mají možnost populaci roztoče ve svých včelstvech kontrolovat vhodnými metodami, následně pak mají k dispozici přípravky či postupy ke snižování populace roztočů v jednotlivých včelstvech.</p> <p>Teoretická část se zaměřuje na seznámení s biologií včely medonosné a vývoje včelařské sezóny během roku. V této části je popsána i biologie a nebezpečnost kleštíka včelího. Dále jsou popsány metody sledování populace roztočů a následné tlumení varroózy chemickými nebo biotechnologickými postupy. Obecnou snahou je selekce včelstev odolných k varroóze, tato včelstva jsou vyhledávána na základě sledování růstu populace kleštíků v jednotlivých včelstvech. V praktické části byl tedy monitorován vývoj populace kleštíka v pokusných včelstvech pomocí metody SMYV, která určuje velikost populace foretických roztočů. Pro zjištění míry napadení včelího plodu byla použita metoda preparace usmrceného plodu. Množství přirozeně uhynulých a včelami usmrcených roztočů bylo sledováno pomocí spadu na úlové podložky. Hygienickým testem byl také měřen čistící pud včelstev.</p> <p>Sledováním včelstev bylo zjištěno, že jako kritické období z hlediska vývoje populace kleštíka včelího pro včelstvo je červenec. V tomto období již bylo u včelstev zjištěno napadení dospělých včel vyšší než 10 %. V tomto období musela být zahájena léčba, při níž se přípravek obsahující účinnou látku tau-fluvalinát projevil jako méně účinný než přípravek na bázi</p>

	<p>acrinathrinu. Po ukončení léčby však začala populace roztočů opět růst. Porovnáním hodnot denního spadu a SMYVU bylo zjištěno, že metoda odečítání denního spadu není spolehlivá, a proto ji nelze doporučit jako jedinou metodu pro stanovení velikosti populace roztočů ve včelstvu. Ačkoliv nebyla nalezena včelstva s náznaky varroatolerance, pomocí hygienického testu byl u sledovaných včelstev zjištěn velice dobrý hygienický pud, a proto mohou být odolná k jiným nemocem, např. moru včelího plodu.</p>
Klíčová slova:	Kleštík včelí, včela medonosná, varroóza,
Anotace v angličtině:	<p>Varroa mite (<i>Varroa destructor</i>) is a parasitic mite originally from Asian bees (<i>Apis cerana</i>). Nowadays, it is spread onto western honey bee (<i>Apis mellifera</i>). The Varroa mites cause honey bee colony losses, which generate economic and ecological problems mainly in Europe and in the USA. Beekeepers have several methods for controlling Varroa population in their hives. There are also several products and treatment strategies for protection of highly infested colonies.</p> <p>The theoretical part of this thesis is focused onto honey bee biology, description of beekeeping season and bee pathology regarding the varroa mite. This part also includes methods for varroa control and integrated pest management. Indeed, varroa-tolerant or -resistant honey bee colonies are required, these colonies are being searched based on the monitoring of varroa population within seasons. The WASH method was applied for monitoring of varroa population in experimental colonies. Bee brood was dissected and the varroa infestation level was observed. Natural mite fall was recorded through the season. Hygienic tests were performed for ascertaining the hygienic behaviour of experimental colonies.</p> <p>The critical part of the beekeeping season is the July when varroa infestation level of adult bees was higher than 10 %. Treatment was applied for protection of so highly infested colonies. It was found that tau-fluvalinate could be less effective compared to treatment based on acrinathrine. The mite population was increasing again after the treatment was finished. Counting of natural mite fall is not trustworthy enough and thus it should be not recommended as a single method for monitoring of varroa population. However, varroatolerant colonies were not found, hygienic tests showed good quality of hygienic behaviour and thus these colonies could be highly resistant to other bee diseases, e.g. American foulbrood.</p>
Klíčová slova v angličtině:	Varroa mite, honey bee, varroosis

Přílohy vázané v práci:	Bez příloh.
Rozsah práce:	58 stran
Jazyk práce:	čeština